

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-520991

(P2018-520991A)

(43) 公表日 平成30年8月2日 (2018. 8. 2)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C 0 7 K 16/28 (2006.01)</b>	C 0 7 K 16/28	4 B 0 6 4
<b>C 1 2 N 15/13 (2006.01)</b>	C 1 2 N 15/13	4 C 0 7 6
<b>C 0 7 K 19/00 (2006.01)</b>	C 0 7 K 19/00	4 C 0 8 4
<b>C 1 2 P 21/08 (2006.01)</b>	C 1 2 P 21/08	4 C 0 8 5
<b>A 6 1 P 35/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 241 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2017-557374 (P2017-557374)  
 (86) (22) 出願日 平成28年5月4日 (2016. 5. 4)  
 (85) 翻訳文提出日 平成29年12月28日 (2017. 12. 28)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/030738  
 (87) 国際公開番号 W02016/179257  
 (87) 国際公開日 平成28年11月10日 (2016. 11. 10)  
 (31) 優先権主張番号 62/156, 838  
 (32) 優先日 平成27年5月4日 (2015. 5. 4)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 62/257, 321  
 (32) 優先日 平成27年11月19日 (2015. 11. 19)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 62/257, 484  
 (32) 優先日 平成27年11月19日 (2015. 11. 19)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 517319787  
 サイトメックス セラピューティクス インコーポレイテッド  
 アメリカ合衆国 94080-1913  
 カリフォルニア州 サウス サンフランシスコ  
 オイスター ポイント ブールバード 151 スイート 400  
 (74) 代理人 100102978  
 弁理士 清水 初志  
 (74) 代理人 100102118  
 弁理士 春名 雅夫  
 (74) 代理人 100160923  
 弁理士 山口 裕孝  
 (74) 代理人 100119507  
 弁理士 刑部 俊

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、およびその使用方法

## (57) 【要約】

本発明は、概して、CD71に結合する抗体、CD71に特異的に結合する活性化可能抗体、ならびにこれらの抗CD71抗体および抗CD71活性化可能抗体を、様々な治療上、診断上、および予防上の適用において作製および使用方法に関する。

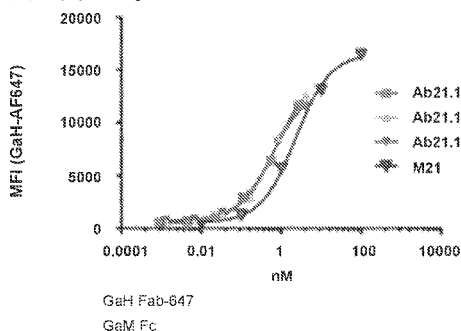
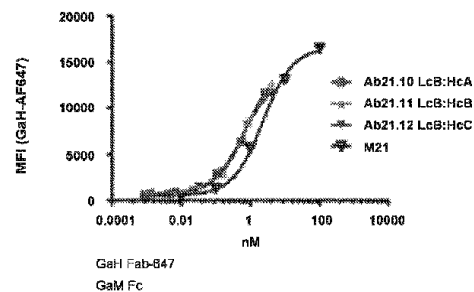


FIGURE 1



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

哺乳動物CD71に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片(AB)であって、該ABがヒトCD71およびカニクイザルCD71に特異的に結合する、前記抗体またはその抗原結合断片(AB)。

## 【請求項 2】

前記抗体またはその抗原結合断片が、

VH CDR1配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

; VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

; VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

; VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

; VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

; および

VL CDR3配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む、請求項1記載の単離された抗体。

## 【請求項 3】

前記抗体またはその抗原結合断片が、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 6~8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む、請求項1または請求項2記載の単離された抗体。

## 【請求項 4】

ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71上の、請求項1~3のいずれか一項記載の単離された抗体と同じエピトープに結合する、単離された抗体またはその抗原結合断片。

## 【請求項 5】

ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71に対する結合について、請求項1~4のいずれか一項記載の単離された抗体と交差競合する、単離された抗体またはその抗原結合断片。

## 【請求項 6】

哺乳動物CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)であって、該ABがヒトCD71およびカニクイザルCD71に特異的に結合する、前記抗体またはその抗原結合断片(AB);

活性化可能抗体が非切断状態にある場合にCD71に対するABの結合を阻害するマスキング部分(MM); ならびに

ABにカップリングされた切断可能部分(CM)であって、プロテアーゼの基質として機能するポリペプチドである、前記CM

を含む、活性化状態ではCD71に結合する活性化可能抗体。

## 【請求項 7】

MMが、ABに対する結合について、CD71に対するABの解離定数よりも大きい解離定数を有する、請求項6記載の活性化可能抗体。

## 【請求項 8】

活性化可能抗体が切断状態にある場合、MMがCD71に対する結合についてABに干渉も競合もしない、請求項6または請求項7記載の活性化可能抗体。

## 【請求項 9】

MMが、長さが40アミノ酸以下のポリペプチドである、請求項6~8のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

## 【請求項 10】

10

20

30

40

50

MMのポリペプチド配列がヒトCD71のポリペプチド配列とは異なる、請求項6～9のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項 1 1】

MMのポリペプチド配列の、ABのあらゆる天然の結合パートナーに対する同一性が、50%以下である、請求項6～10のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項 1 2】

MMが、SEQ ID NO: 16～295および297～314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項6～11のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項 1 3】

MMが、SEQ ID NO: 16、17、および297～314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項6～12のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

10

【請求項 1 4】

CMが、罹患組織において活性のあるプロテアーゼの基質である、請求項6～13のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項 1 5】

CMが、SEQ ID NO: 356～423、680～698、713、714、および789～808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項6～14のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項 1 6】

CMが、SEQ ID NO: 406～423、680～698、713、714、および807～808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項6～15のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

20

【請求項 1 7】

その抗原結合断片が、Fab断片、F(ab')<sub>2</sub>断片、scFv、scAb、dAb、単ドメイン重鎖抗体、および単ドメイン軽鎖抗体からなる群より選択される、請求項1～5のいずれか一項記載の抗体または請求項6～16のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項 1 8】

ABがヒトCD71に特異的に結合する、請求項1～5のいずれか一項記載の抗体または請求項6～17のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項 1 9】

ABが、

VH CDR1配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

; VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

; VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

; VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)または CRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

; VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

; および

VL CDR3配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む、請求項6～18のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

30

40

【請求項 2 0】

ABが、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 6～8および809～908からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む、請求項6～19のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項 2 1】

ABがCMに連結されている、請求項6～20のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項 2 2】

50

ABがCMに直接連結されている、請求項6～21のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項 2 3】

ABが連結ペプチドを介してCMに連結されている、請求項6～21のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項 2 4】

活性化可能抗体が、非切断状態では、N末端からC末端に向かってMM-CM-ABまたはAB-CM-MMのような構造的配置を含むように、MMがCMに連結されている、請求項6～23のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項 2 5】

MMとCMとの間に連結ペプチドを含む、請求項6～24のいずれか一項記載の活性化可能抗体。 10

【請求項 2 6】

CMとABとの間に連結ペプチドを含む、請求項6～24のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項 2 7】

第1の連結ペプチド(LP1)および第2の連結ペプチド(LP2)を含み、かつ非切断状態では、N末端からC末端に向かって、MM-LP1-CM-LP2-ABまたはAB-LP2-CM-LP1-MMのような構造的配置を有する、請求項6～26のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項 2 8】

2つの連結ペプチドが互いに同一である必要はない、請求項27記載の活性化可能抗体。 20

【請求項 2 9】

LP1およびLP2の各々が、約1～20アミノ酸長のペプチドである、請求項27または請求項28記載の活性化可能抗体。

【請求項 3 0】

SEQ ID NO: 325または699の重鎖配列と、SEQ ID NO: 327、329、331、333、335、337、650、652、654、656、658、660、670～673、701～712、721～788、809～836、および841～908からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む、請求項6～29のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項 3 1】

前記活性化可能抗体がアミノ酸配列の組み合わせを含み、該アミノ酸配列の組み合わせが表Dの単一系列から選択され、 30

ここで所与の組み合わせについて

(a) ABの重鎖が、表Dに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応するVH CDR配列のアミノ酸配列を含み、

(b) ABの軽鎖が、表Dに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応するVL CDR配列のアミノ酸配列を含み、

(c) MMが、表Dに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応するマスク配列(MM)のアミノ酸配列を含み、かつ

(d) CMが、表Dに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応する基質配列(CM)のアミノ酸配列を含む、 40

請求項6～30のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項 3 2】

前記活性化可能抗体がアミノ酸配列の組み合わせを含み、ここでアミノ酸配列の所与の組み合わせについて

(a) ABの重鎖が、表Eの対応する縦列に列挙されたVH配列またはVH CDR配列からなる群より選択されるVH配列またはVH CDR配列のアミノ酸配列を含み、

(b) ABの軽鎖が、表Eの対応する縦列に列挙されたVL配列またはVL CDR配列からなる群より選択されるVL配列またはVL CDR配列のアミノ酸配列を含み、

(c) MMが、表Eの対応する縦列に列挙されたMM配列からなる群より選択されるマスク配列(MM)のアミノ酸配列を含み、かつ 50

(d) CMが、表Eの対応する縦列に列挙されたCM配列からなる群より選択される基質配列(CM)のアミノ酸配列を含む、

請求項6～30のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項33】

哺乳動物CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)と、MMと、CMとを含む活性化可能抗体であって、

SEQ ID NO: 325または699の重鎖配列と；

SEQ ID NO: 327、329、331、333、335、337、650、652、654、656、658、660、670～673、701～712、721～788、809～836、および841～908からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖と

を含む、前記活性化可能抗体。

【請求項34】

哺乳動物CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)；

SEQ ID NO: 16～295および297～314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むMM；  
ならびに

SEQ ID NO: 356～423、680～698、713、714、および789～808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCM

を含む活性化可能抗体。

【請求項35】

MMが、SEQ ID NO: 16、17、および297～314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、かつCMが、SEQ ID NO: 406～423、680～698、713、714、および807～808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項34記載の活性化可能抗体。

【請求項36】

ABが、

VH CDR1配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

； VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

； VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

； VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

； VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

； および

VL CDR3配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む、請求項34または35記載の活性化可能抗体。

【請求項37】

ABが、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 6～8および809～908からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む、請求項34～36のいずれか一項記載の活性化可能抗体。

【請求項38】

哺乳動物CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)であって、該ABが、ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71上の、請求項1～5のいずれか一項記載の単離された抗体と同じエピトープに特異的に結合する、前記抗体またはその抗原結合断片(AB)；

活性化可能抗体が非切断状態にある場合にCD71に対するABの結合を阻害するマスキング部分(MM)；ならびに

ABにカップリングされた切断可能部分(CM)であって、プロテアーゼの基質として機能するポリペプチドである、前記CM

10

20

30

40

50

を含む、活性化可能抗CD71抗体。

【請求項 39】

哺乳動物CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)であって、該ABが、ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71に対する結合について、請求項1~5のいずれか一項記載の単離された抗体と特異的に交差競合する、前記抗体またはその抗原結合断片(AB)；

活性化可能抗体が非切断状態にある場合にCD71に対するABの結合を阻害するマスキング部分(MM)；ならびに

ABにカップリングされた切断可能部分(CM)であって、プロテアーゼの基質として機能するポリペプチドである、前記CM

を含む、活性化可能抗CD71抗体。

【請求項 40】

作用物質にコンジュゲートされた請求項1~5のいずれか一項記載の抗体または作用物質にコンジュゲートされた請求項6~39のいずれか一項記載の活性化可能抗体を含む、コンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項 41】

作用物質が毒素またはその断片である、請求項40記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項 42】

作用物質が微小管阻害物質である、請求項40または請求項41記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項 43】

作用物質が核酸損傷性作用物質である、請求項40または請求項41記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項 44】

作用物質が、ドラスタチンまたはその誘導体、アウリスタチンまたはその誘導体、メイタンシノイドまたはその誘導体、デュオカルマイシンまたはその誘導体、カリケアマイシンまたはその誘導体、およびピロロベンゾジアゼピンまたはその誘導体からなる群より選択される、請求項40または請求項41記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項 45】

作用物質がアウリスタチンEまたはその誘導体である、請求項40~42および44のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項 46】

作用物質がモノメチルアウリスタチンE (MMAE)である、請求項40~42および44のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項 47】

作用物質がモノメチルアウリスタチンD (MMAD)である、請求項40~42および44のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項 48】

作用物質が、DM1およびDM4からなる群より選択されるメイタンシノイドである、請求項40~42および44のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項 49】

作用物質がメイタンシノイドDM4である、請求項40~42および44のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項 50】

作用物質がデュオカルマイシンである、請求項40、41、43および44のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項 51】

作用物質がリンカーを介してABにコンジュゲートされている、請求項40～50のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項52】

作用物質をABにコンジュゲートするリンカーが、SPDB部分、vc部分またはPEG2-vc部分を含む、請求項40～51のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項53】

リンカーおよびABコンジュゲート毒素が、SPDB-DM4部分、vc-MMAD部分、vc-MMAE部分、vc-デュオカルマイシン部分、またはPEG2-vc-MMAD部分を含む、請求項40～52のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

10

【請求項54】

リンカーが切断可能リンカーである、請求項51記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項55】

リンカーが非切断可能リンカーである、請求項51記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項56】

作用物質が検出可能部分である、請求項40～55のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項57】

20

検出可能部分が診断用作用物質である、請求項56記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項58】

哺乳動物CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)であって、該ABがヒトCD71およびカニクイザルCD71に特異的に結合する、前記抗体またはその抗原結合断片(AB)；

活性化可能抗体が非切断状態にある場合にCD71に対するABの結合を阻害するマスキング部分(MM)；

ABにカップリングされた切断可能部分(CM)であって、プロテアーゼの基質として機能するポリペプチドである、前記CM；ならびに

30

ABにコンジュゲートされた作用物質を含む、活性化状態ではCD71に結合するコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項59】

作用物質が、ドラスタチンまたはその誘導体、アウリスタチンまたはその誘導体、メイタンシノイドまたはその誘導体、デュオカルマイシンまたはその誘導体、カリケアマイシンまたはその誘導体、およびピロロベンゾジアゼピンまたはその誘導体からなる群より選択される、請求項58記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項60】

作用物質が、アウリスタチンE、モノメチルアウリスタチンF(MMAF)、モノメチルアウリスタチンE(MMAE)、モノメチルアウリスタチンD(MMAD)、メイタンシノイドDM4、メイタンシノイドDM1、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、およびピロロベンゾジアゼピン二量体からなる群より選択される、請求項58または59記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

40

【請求項61】

作用物質がリンカーを介してABにコンジュゲートされている、請求項58～60のいずれか一項記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項62】

作用物質をABにコンジュゲートするリンカーが、SPDB部分、vc部分またはPEG2-vc部分を含む、請求項58～61のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

50

## 【請求項 6 3】

リンカーおよびABコンジュゲート毒素が、SPDB-DM4部分、vc-MMAD部分、vc-MMAE部分、vc-デュオカルマイシン部分、またはPEG2-vc-MMAD部分を含む、請求項58～62のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

## 【請求項 6 4】

前記抗体またはその抗原結合断片が、

VH CDR1配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

; VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

; VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

; VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

; VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

; および

VL CDR3配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む、請求項58～63のいずれか一項記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

## 【請求項 6 5】

前記抗体またはその抗原結合断片が、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 6～8および809～908からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む、請求項58～64のいずれか一項記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

## 【請求項 6 6】

MMが、SEQ ID NO: 16～295および297～314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項58～65のいずれか一項記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

## 【請求項 6 7】

MMが、SEQ ID NO: 16、17、および297～314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項58～66のいずれか一項記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

## 【請求項 6 8】

CMが、SEQ ID NO: 356～423、680～698、713、714、および789～808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項58～67のいずれか一項記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

## 【請求項 6 9】

CMが、SEQ ID NO: 406～423、680～698、713、714、および807～808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項58～68のいずれか一項記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

## 【請求項 7 0】

前記活性化可能抗体がアミノ酸配列の組み合わせを含み、該アミノ酸配列の組み合わせが表Dの単一系列から選択され、

ここで所与の組み合わせについて

(a) ABの重鎖が、表Dに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応するVH CDR配列のアミノ酸配列を含み、

(b) ABの軽鎖が、表Dに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応するVL CDR配列のアミノ酸配列を含み、

(c) MMが、表Dに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応するマスク配列(MM)のアミノ酸配列を含み、かつ

(d) CMが、表Dに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応する基質配列(CM)のア

10

20

30

40

50

ミノ酸配列を含む、

請求項58～69のいずれか一項記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項 7 1】

前記活性化可能抗体がアミノ酸配列の組み合わせを含み、ここでアミノ酸配列の所与の組み合わせについて

(a) ABの重鎖が、表Eの対応する縦列に列挙されたVH配列またはVH CDR配列からなる群より選択されるVH配列またはVH CDR配列のアミノ酸配列を含み、

(b) ABの軽鎖が、表Eの対応する縦列に列挙されたVL配列またはVL CDR配列からなる群より選択されるVL配列またはVL CDR配列のアミノ酸配列を含み、

(c) MMが、表Eの対応する縦列に列挙されたMM配列からなる群より選択されるマスク配列(MM)のアミノ酸配列を含み、かつ

10

(d) CMが、表Eの対応する縦列に列挙されたCM配列からなる群より選択される基質配列(CM)のアミノ酸配列を含む、

請求項58～70のいずれか一項記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項 7 2】

SEQ ID NO: 325または699のアミノ酸配列を含む重鎖；ならびに

SEQ ID NO: 327、329、331、333、335、337、650、652、654、656、658、660、670～673、701～712、721～788、809～836、および841～908からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖

を含む、請求項58～71のいずれか一項記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

20

【請求項 7 3】

以下を含む、コンジュゲートされた抗体：

(a) 哺乳動物CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)であって、該ABが、

(i) VH CDR1配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

； VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

； VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

30

； VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

； VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

； および

VL CDR3配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

または

(ii) SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、ならびにSEQ ID NO: 6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、前記抗体またはその抗原結合断片(AB)；

40

(b) アウリスタチンE、モノメチルアウリスタチンF (MMAF)、モノメチルアウリスタチンE (MMAE)、モノメチルアウリスタチンD (MMAD)、メイタンシノイドDM4、メイタンシノイドDM1、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体およびデュオカルマイシンからなる群より選択される、ABにコンジュゲートされた作用物質。

【請求項 7 4】

哺乳動物CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)であって、該ABがヒトCD71およびカニクイザルCD71に特異的に結合する、前記抗体またはその抗原結合断片(AB)；

活性化可能抗体が非切断状態にある場合にCD71に対するABの結合を阻害するマスキング

50

部分 (MM) ;

ABにカップリングされた切断可能部分 (CM) であって、プロテアーゼの基質として機能するポリペプチドである、前記CM; ならびに

ABにコンジュゲートされた作用物質

を含む、活性化状態ではCD71に結合するコンジュゲートされた活性化可能抗体であって、ABが以下:

(i) VH CDR1配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

; VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

; VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

; VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

; VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

; および

VL CDR3配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

または

(ii) SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、ならびにSEQ ID NO: 6~8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、または

(iii) SEQ ID NO: 325または699のアミノ酸配列を含む重鎖、ならびにSEQ ID NO: 327、329、331、333、335、337、650、652、654、656、658、660、670~673、701~712、721~788、809~836、および841~908からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含み; かつ

作用物質が、アウリスタチンE、モノメチルアウリスタチンF (MMAF)、モノメチルアウリスタチンE (MMAE)、モノメチルアウリスタチンD (MMAD)、メイタンシノイドDM4、メイタンシノイドDM1、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体およびデュオカルマイシンからなる群より選択される、

前記活性化可能抗体。

【請求項75】

MMが、SEQ ID NO: 16~295および297~314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項74記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項76】

MMが、SEQ ID NO: 16、17、および297~314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項74または請求項75記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項77】

CMが、SEQ ID NO: 356~423、680~698、713、714、および789~808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項74~76のいずれか一項記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項78】

CMが、SEQ ID NO: 406~423、680~698、713、714、および807~808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項74~77のいずれか一項記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

【請求項79】

作用物質がリンカーを介してABにコンジュゲートされており、かつ作用物質をABにコンジュゲートするリンカーが、SPDB部分、vc部分またはPEG2-vc部分を含む、請求項74~78のいずれか一項記載のコンジュゲートされた活性化可能抗体。

10

20

30

40

50

## 【請求項 8 0】

リンカーおよびABコンジュゲート毒素が、SPDB-DM4部分、vc-MMAD部分、vc-MMAE部分、vc-デュオカルマイシン部分、またはPEG2-vc-MMAD部分を含む、請求項74～79のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体またはコンジュゲートされた活性化可能抗体。

## 【請求項 8 1】

活性化状態ではCD71に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)；およびリンカーを介してABにコンジュゲートされた毒素を含むコンジュゲートされた活性化可能抗体またはコンジュゲートされた抗体であって、該コンジュゲートされた活性化可能抗体またはコンジュゲートされた抗体が、表Fの単一列から選択されるアミノ酸配列、リンカーおよび毒素を含み、ここで所与の組み合わせについて、

(a) ABが、表Fに列挙された単一列内の所与の組み合わせに対応する重鎖配列または重鎖可変ドメイン配列のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、

(b) ABが、表Fに列挙された単一列内の所与の組み合わせに対応する軽鎖配列または軽鎖可変ドメイン配列のアミノ酸配列を含む軽鎖を含み、かつ

(c) リンカーおよび毒素が、表Fに列挙された単一列内の所与の組み合わせに対応するリンカーおよび毒素を含む、

前記コンジュゲートされた活性化可能抗体またはコンジュゲートされた抗体。

## 【請求項 8 2】

請求項1～5のいずれか一項記載の抗体、請求項6～39のいずれか一項記載の活性化可能抗体、または請求項40～81のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体もしくはコンジュゲートされた活性化可能抗体、および担体を含む、薬学的組成物。

## 【請求項 8 3】

さらなる作用物質を含む、請求項82記載の薬学的組成物。

## 【請求項 8 4】

さらなる作用物質が治療用作用物質である、請求項83記載の薬学的組成物。

## 【請求項 8 5】

請求項1～5のいずれか一項記載の単離された抗体または請求項6～81のいずれか一項記載の活性化可能抗体をコードする、単離された核酸分子。

## 【請求項 8 6】

請求項85記載の単離された核酸分子を含む、ベクター。

## 【請求項 8 7】

請求項85記載の核酸分子または請求項86記載のベクターを含む細胞を、抗体または活性化可能抗体の発現をもたらす条件下で培養することによって、抗体または活性化可能抗体を産生する方法。

## 【請求項 8 8】

活性化状態ではCD71に結合する活性化可能抗体を製造する方法であって、

(a) 請求項6～39のいずれか一項記載の活性化可能抗体を含む活性化可能抗体の発現をもたらす条件下で、活性化可能抗体をコードする核酸構築体を含む細胞を培養する段階；および

(b) 活性化可能抗体を回収する段階を含む、前記方法。

## 【請求項 8 9】

治療的有效量の請求項1～5のいずれか一項記載の抗体、請求項6～39のいずれか一項記載の活性化可能抗体、請求項40～81のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体もしくはコンジュゲートされた活性化可能抗体、または請求項82～84のいずれか一項記載の薬学的組成物を、その必要のある対象に投与する段階を含む、罹患細胞がCD71を発現する障害または疾患を処置するか、その症状を緩和するか、またはその進行を遅らせる方法。

## 【請求項 9 0】

障害または疾患が、がんである、請求項89記載の方法。

## 【請求項 9 1】

治療的有効量の請求項1～5のいずれか一項記載の抗体、請求項6～39のいずれか一項記載の活性化可能抗体、請求項40～81のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体もしくはコンジュゲートされた活性化可能抗体、または請求項82～84のいずれか一項記載の薬学的組成物を、その必要のある対象に投与する段階を含む、CD71を発現する細胞に関連した障害または疾患を処置するか、その症状を緩和するか、またはその進行を遅らせる方法。

## 【請求項 9 2】

CD71を発現する細胞に関連した障害または疾患が、がんである、請求項91記載の方法。

## 【請求項 9 3】

がんが、腺癌、胆管(胆道)癌、膀胱癌、骨がん、乳癌、トリプルネガティブ乳癌、Her2陰性乳癌、カルチノイド癌、子宮頸癌、胆管癌、大腸癌、結腸癌、子宮内膜癌、神経膠腫、頭頸部癌、頭頸部扁平上皮癌、白血病、肝臓癌、肺癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、リンパ腫、黒色腫、口腔咽頭癌、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、転移性去勢抵抗性前立腺癌、腎臓癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮細胞癌、胃癌、精巣癌、甲状腺癌、泌尿生殖器癌、または尿路上皮癌である、請求項90または請求項92記載の方法。

## 【請求項 9 4】

治療的有効量の請求項1～5のいずれか一項記載の抗体、請求項6～39のいずれか一項記載の活性化可能抗体、請求項40～81のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体もしくはコンジュゲートされた活性化可能抗体、または請求項82～84のいずれか一項記載の薬学的組成物を、その必要のある対象に投与する段階を含む、哺乳動物CD71を発現する細胞の成長、増殖または転移を阻害または低減する方法。

## 【請求項 9 5】

治療的有効量の請求項1～5のいずれか一項記載の抗体、請求項6～39のいずれか一項記載の活性化可能抗体、請求項40～81のいずれか一項記載のコンジュゲートされた抗体もしくはコンジュゲートされた活性化可能抗体、または請求項82～84のいずれか一項記載の薬学的組成物を、その必要のある対象に投与する段階を含む、哺乳動物CD71に対する天然リガンドの結合を阻害する、ブロックするまたは阻止する方法。

## 【請求項 9 6】

天然リガンドがトランスフェリンである、請求項95記載の方法。

## 【請求項 9 7】

哺乳動物CD71の発現および/または活性が異常である、請求項94～96のいずれか一項記載の方法。

## 【請求項 9 8】

さらなる作用物質を投与する段階を含む、請求項89～97のいずれか一項記載の方法。

## 【請求項 9 9】

さらなる作用物質が治療用作用物質である、請求項98記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

関連出願

本願は、2015年5月4日に出願された米国特許仮出願第62/156,838号、2015年11月19日に出願された米国特許仮出願第62/257,321号、2015年11月19日に出願された米国特許仮出願第62/257,484号、2016年1月12日に出願された米国特許仮出願第62/277,775号、2016年3月18日に出願された米国特許仮出願第62/310,553号、および2016年3月30日に出願された米国特許仮出願第62/315,276号の下での恩典を主張する。これらのそれぞれの内容は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

## 【0002】

発明の分野

本発明は、概して、CD71に結合する抗体、CD71に特異的に結合する活性化可能抗体、な

10

20

30

40

50

らびに様々な治療上、診断上、および予防上の適用において、これらの抗CD71抗体および抗CD71活性化可能抗体を作製および使用方法に関する。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

抗体に基づく療法は、いくつかの疾患については有効な処置だと判明しているが、場合によっては、広範な標的発現による毒性があるために、その治療有効性が制約されている。さらに、抗体に基づく治療法は、投与後、循環から急速に排出されるなど他の制約を示してきた。

【0004】

低分子治療法の分野では、活性のある化学実体のプロドラッグを提供するための戦略が立案されている。このようなプロドラッグは比較的不活性な形態(または活性がかなり低い形態)で投与される。ひとたび投与されると、プロドラッグはインビボで活性化化合物に代謝される。このようなプロドラッグ戦略は、意図された標的に対する薬物の選択性を高め、副作用を低減することができる。

【0005】

従って、抗体に基づく治療法の分野では、低分子プロドラッグの望ましい特徴を模倣する抗体が引き続き必要とされている。

【発明の概要】

【0006】

本開示は、トランスフェリン受容体タンパク質1(TfR1)としても知られるCD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片を提供する。

【0007】

いくつかの態様において、前記抗体は、CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片を含む。いくつかの態様において、CD71に結合する抗体またはその抗原結合断片は、モノクローナル抗体、ドメイン抗体、単鎖、Fab断片、F(ab')<sub>2</sub>断片、scFv、scAb、dAb、シングルドメイン重鎖抗体、またはシングルドメイン軽鎖抗体である。いくつかの態様において、このような、CD71に結合する抗体またはその抗原結合断片は、マウス抗体、他のげっ歯類抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、または完全ヒトモノクローナル抗体である。

【0008】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 1および3~5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列を含む。

【0009】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 2および6~8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 6~8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。

【0010】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 1および3~5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と、SEQ ID NO: 2および6~8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列またはその抗原結合断片とを含む。

【0011】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と、SEQ ID NO: 6~8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。

【0012】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 1および3~5からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%

10

20

30

40

50

、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列を含む。

【0013】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 2および6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。

10

【0014】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 1および3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列と、SEQ ID NO: 2および6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。

【0015】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列と、SEQ ID NO: 6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。

20

【0016】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、可変重鎖相補性決定領域1 (VH CDR1、本明細書においてCDRH1ともいわれる) 配列、可変重鎖相補性決定領域2 (VH CDR2、本明細書においてCDRH2ともいわれる) 配列、可変重鎖相補性決定領域3 (VH CDR3、本明細書においてCDRH3ともいわれる) 配列、可変軽鎖相補性決定領域1 (VL CDR1、本明細書においてCDRL1ともいわれる) 配列、可変軽鎖相補性決定領域2 (VL CDR2、本明細書においてCDRL2ともいわれる) 配列および可変軽鎖相補性決定領域3 (VL CDR3、本明細書においてCDRL3ともいわれる) 配列の組み合わせを含み、ここで少なくとも1つの相補性決定領域(CDR) 配列が、アミノ酸配列

30

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

を含むVH CDR1配列；アミノ酸配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

を含むVH CDR2配列；アミノ酸配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

を含むVH CDR3配列；アミノ酸配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12) または CRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

を含むVL CDR1配列；アミノ酸配列

40

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

を含むVL CDR2配列；およびアミノ酸配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含むVL CDR3配列

からなる群より選択される。

【0017】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含み、ここで少なくとも1つのCDR配列が、アミノ酸配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

50

を含むVH CDR1配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR1配列；アミノ酸配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

を含むVH CDR2配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR2配列；アミノ酸配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

を含むVH CDR3配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR3配列；アミノ酸配列

ASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

を含むVL CDR1配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR1配列；アミノ酸配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

を含むVL CDR2配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR2配列；およびアミノ酸配列

QRRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含むVL CDR3配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR3配列

からなる群より選択される。

【0018】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含み、ここでVH CDR1配列がアミノ酸配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

を含み；VH CDR2配列がアミノ酸配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

を含み；VH CDR3配列がアミノ酸配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

を含み；VL CDR1配列がアミノ酸配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

を含み；VL CDR2配列がアミノ酸配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

を含み；およびVL CDR3配列がアミノ酸配列

QRRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む。

【0019】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含み、ここでVH CDR1配列がアミノ酸配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含み；VH CDR2配列がアミノ酸配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含み；VH CDR3配列がアミノ酸配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含み；VL CDR1配列がアミノ酸配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含み；VL CDR2配列がアミノ酸配列

10

20

30

40

50

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含み；およびVL CDR3配列がアミノ酸配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含む。

【0020】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 1および3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

10

【0021】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 2および6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

【0022】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 1および3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖アミノ酸配列をコードする核酸配列、ならびにSEQ ID NO: 2および6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

20

【0023】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖アミノ酸配列をコードする核酸配列、ならびにSEQ ID NO: 6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

【0024】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 1および3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖アミノ酸配列をコードする核酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖アミノ酸配列をコードする核酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

30

【0025】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 2および6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖アミノ酸配列をコードする核酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖アミノ酸配列をコードする核酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

40

【0026】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 1および3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖アミノ酸配列をコードする核酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である核酸配列、ならびにSEQ ID NO: 2および6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖アミノ酸配列をコードする核酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、

50

98%または99%同一である核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

【0027】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖アミノ酸配列をコードする核酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である核酸配列、およびSEQ ID NO: 6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖アミノ酸配列をコードする核酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

【0028】

本開示はまた、本開示の核酸分子または本開示のベクターを含む細胞を、該抗体の発現をもたらす条件下で培養することによって、本開示の抗体を産生する方法も提供する。

【0029】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、多重特異性抗体またはその抗原結合断片に組み入れられ、ここで多重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部がCD71に特異的に結合する。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、二重特異性抗体またはその抗原結合断片に組み入れられ、ここで二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部がCD71に特異的に結合する。

【0030】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、SEQ ID NO: 1および3～5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列を含む。

【0031】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、SEQ ID NO: 2および6～8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、SEQ ID NO: 6～8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。

【0032】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、SEQ ID NO: 1および3～5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と、SEQ ID NO: 2および6～8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。

【0033】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と、SEQ ID NO: 6～8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。

【0034】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、SEQ ID NO: 1および3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 3 5 】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、SEQ ID NO: 2および6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、SEQ ID NO: 6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。

## 【 0 0 3 6 】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、SEQ ID NO: 1および3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列と、SEQ ID NO: 2および6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。

## 【 0 0 3 7 】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列と、SEQ ID NO: 6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。

## 【 0 0 3 8 】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、可変重鎖相補性決定領域1 (VH CDR1、本明細書においてCDRH1ともいわれる)配列、可変重鎖相補性決定領域2 (VH CDR2、本明細書においてCDRH2ともいわれる)配列、可変重鎖相補性決定領域3 (VH CDR3、本明細書においてCDRH3ともいわれる)配列、可変軽鎖相補性決定領域1 (VL CDR1、本明細書においてCDRL1ともいわれる)配列、可変軽鎖相補性決定領域2 (VL CDR2、本明細書においてCDRL2ともいわれる)配列および可変軽鎖相補性決定領域3 (VL CDR3、本明細書においてCDRL3ともいわれる)配列の組み合わせを含み、ここで少なくとも1つの相補性決定領域 (CDR) 配列が、アミノ酸配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

を含むVH CDR1配列；アミノ酸配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

を含むVH CDR2配列；アミノ酸配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

を含むVH CDR3配列；アミノ酸配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

を含むVL CDR1配列；アミノ酸配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

を含むVL CDR2配列；およびアミノ酸配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含むVL CDR3配列

からなる群より選択される。

## 【 0 0 3 9 】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含み、ここで少

10

20

30

40

50

なくとも1つのCDR配列が、アミノ酸配列  
GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

を含むVH CDR1配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR1配列；アミノ酸配列  
AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

を含むVH CDR2配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR2配列；アミノ酸配列  
ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

を含むVH CDR3配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR3配列；アミノ酸配列  
ASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

を含むVL CDR1配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR1配列；アミノ酸配列  
STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

を含むVL CDR2配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR2配列；およびアミノ酸配列

QRRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含むVL CDR3配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR3配列  
からなる群より選択される。

【0040】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含み、ここでVH CDR1配列がアミノ酸配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

を含み；VH CDR2配列がアミノ酸配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

を含み；VH CDR3配列がアミノ酸配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

を含み；VL CDR1配列がアミノ酸配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

を含み；VL CDR2配列がアミノ酸配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

を含み；およびVL CDR3配列がアミノ酸配列

QRRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む。

【0041】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含み、ここでVH CDR1配列がアミノ酸配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含み；VH CDR2配列がアミノ酸配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含み；VH CDR3配列がアミノ酸配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一で

10

20

30

40

50

ある配列を含み；VL CDR1配列がアミノ酸配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12) または CRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含み；VL CDR2配列がアミノ酸配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含み；およびVL CDR3配列がアミノ酸配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含む。

【0042】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、表12に示される重鎖アミノ酸配列または重鎖可変領域アミノ酸配列を含むかまたはそれに由来する重鎖または重鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、表12に示される軽鎖アミノ酸配列または軽鎖可変領域アミノ酸配列を含むかまたはそれに由来する軽鎖または軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、表12に示される重鎖アミノ酸配列または重鎖可変領域アミノ酸配列を含むかまたはそれに由来する重鎖または重鎖可変領域アミノ酸配列、および、表12に示される軽鎖アミノ酸配列または軽鎖可変領域アミノ酸配列を含むかまたはそれに由来する軽鎖または軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。

【0043】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、表12に示される重鎖可変領域配列からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、表12に示される軽鎖可変領域配列からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、表12に示される重鎖可変領域配列からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列と、表12に示される軽鎖可変領域配列からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。

【0044】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、可変重鎖相補性決定領域1 (VH CDR1、本明細書においてCDRH1ともいわれる) 配列、可変重鎖相補性決定領域2 (VH CDR2、本明細書においてCDRH2ともいわれる) 配列、可変重鎖相補性決定領域3 (VH CDR3、本明細書においてCDRH3ともいわれる) 配列、可変軽鎖相補性決定領域1 (VL CDR1、本明細書においてCDRL1ともいわれる) 配列、可変軽鎖相補性決定領域2 (VL CDR2、本明細書においてCDRL2ともいわれる) 配列および可変軽鎖相補性決定領域3 (VL CDR3、本明細書においてCDRL3ともいわれる) 配列の組み合わせを含み、ここで少なくとも1つのCDR配列が、表13に示されるVH CDR1配列；表13に示されるVH CDR2配列；表13に示されるVH CDR3配列；表13に示されるVL CDR1配列；表13に示されるVL CDR2配列；および表13に示されるVL CDR3配列からなる群より選択される。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 4 5 】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含み、ここで少なくとも1つのCDR配列が、表13に示されるVH CDR1配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR1配列；表13に示されるVH CDR2配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR2配列；表13に示されるVH CDR3配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR3配列；表13に示されるVL CDR1配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR1配列；表13に示されるVL CDR2配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR2配列；および表13に示されるVL CDR3配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR3配列からなる群より選択される。

## 【 0 0 4 6 】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含み、ここで該組み合わせは、表13の単一系列内に示される6つのCDR配列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2およびVL CDR3)の組み合わせである。

## 【 0 0 4 7 】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含む軽鎖可変領域を含み、ここで該組み合わせは、表13の単一系列内に示される3つの軽鎖CDR配列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3)の組み合わせである。

## 【 0 0 4 8 】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、VH CDR1配列、VH CDR2配列およびVH CDR3配列の組み合わせを含む重鎖可変領域を含み、ここで該組み合わせは、表13の単一系列内に示される3つの重鎖CDR配列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)の組み合わせである。

## 【 0 0 4 9 】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含み、ここで該組み合わせにおける各CDR配列は、表13の単一系列内に示される6つのCDR配列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2およびVL CDR3)の組み合わせにおける対応するCDR配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含む。

## 【 0 0 5 0 】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、VH CDR1配列、VH CDR2配列およびVH CDR3配列の組み合わせを含む重鎖可変領域を含み、ここで該組み合わせにおける各CDR配列は、表13の単一系列内に示される3つの重鎖CDR配列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)の組み合わせにおける対応するCDR配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含む。

## 【 0 0 5 1 】

いくつかの態様において、多重特異性抗体またはその抗原結合断片、例えば二重特異性

抗体またはその抗原結合断片の少なくとも1つの腕部は、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含む軽鎖可変領域を含み、ここで該組み合わせにおける各CDR配列は、表13の単一系列内に示される3つの軽鎖CDR配列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3)の組み合わせにおける対応するCDR配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含む。

【 0 0 5 2 】

本開示の好適な抗CD71抗体はまた、ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71上の、SEQ ID NO: 1および3~5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列とSEQ ID NO: 2および6~8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む抗CD71抗体と同じエピトープに結合する、抗体またはその抗原結合断片を含む。

10

【 0 0 5 3 】

本開示の好適な抗CD71抗体はまた、ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71上の、アミノ酸配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

を含むVH CDR1配列; アミノ酸配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

を含むVH CDR2配列; アミノ酸配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

を含むVH CDR3配列; アミノ酸配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)または CRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

20

を含むVL CDR1配列; アミノ酸配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

を含むVL CDR2配列; およびアミノ酸配列

QRRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含むVL CDR3配列

を含む抗CD71抗体と同じエピトープに結合する、抗体またはその抗原結合断片を含む。

【 0 0 5 4 】

本開示の好適な抗CD71抗体はまた、ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71に対する結合について、SEQ ID NO: 1および3~5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と、SEQ ID NO: 2および6~8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む抗CD71抗体と交差競合する抗体またはその抗原結合断片を含む。

30

【 0 0 5 5 】

本開示の好適な抗CD71抗体はまた、ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71に対する結合について、アミノ酸配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

を含むVH CDR1配列; アミノ酸配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

を含むVH CDR2配列; アミノ酸配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

を含むVH CDR3配列; アミノ酸配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)または CRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

40

を含むVL CDR1配列; アミノ酸配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

を含むVL CDR2配列; およびアミノ酸配列

QRRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含むVL CDR3配列

を含む抗CD71抗体と交差競合する抗体またはその抗原結合断片を含む。

【 0 0 5 6 】

いくつかの態様において、本開示の抗CD71抗体は、哺乳動物CD71に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片(AB)であって、該ABがヒトCD71およびカニクイザル

50

CD71に特異的に結合する、前記抗体またはその抗原結合断片(AB)を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、VH CDR1配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

; VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

; VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

; VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

; VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

; およびVL CDR3配列

QRRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 6~8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む。

【0057】

いくつかの態様において、単離された抗体またはその抗原結合断片は、ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71上の、VH CDR1配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

; VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

; VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

; VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

; VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

; およびVL CDR3配列

QRRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む単離された抗体と同じエピトープに結合する。いくつかの態様において、単離された抗体またはその抗原結合断片は、ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71上の、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域とSEQ ID NO: 6~8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む単離された抗体と同じエピトープに結合する。いくつかの態様において、その抗原結合断片は、Fab断片、F(ab')<sub>2</sub>断片、scFv、scAb、dAb、単ドメイン重鎖抗体、および単ドメイン軽鎖抗体からなる群より選択される。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、ヒトCD71に特異的に結合する。

【0058】

いくつかの態様において、単離された抗体またはその抗原結合断片は、VH CDR1配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

; VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

; VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

; VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

; VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

; およびVL CDR3配列

10

20

30

40

50

QRRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む単離された抗体と交差競合する。いくつかの態様において、単離された抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域とSEQ ID NO: 6~8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む単離された抗体と交差競合する。

【0059】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、作用物質にコンジュゲートされる。いくつかの態様において、単離された抗体またはその抗原結合断片は、VH CDR1配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

; VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

; VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

; VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

; VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

; およびVL CDR3配列

QRRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む単離された抗体と交差競合する。いくつかの態様において、単離された抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域とSEQ ID NO: 6~8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む単離された抗体と交差競合する。いくつかの態様において、作用物質は毒素またはその断片である。いくつかの態様において、作用物質は微小管障害物質である。いくつかの態様において、作用物質は核酸損傷性作用物質である。いくつかの態様において、作用物質は、ドラスタチンまたはその誘導体、アウリスタチンまたはその誘導体、メイタンシノイドまたはその誘導体、デュオカルマイシンまたはその誘導体、カリケアマイシンまたはその誘導体、およびピロロベンゾジアゼピンまたはその誘導体からなる群より選択される。いくつかの態様において、作用物質はアウリスタチンEまたはその誘導体である。いくつかの態様において、作用物質はモノメチルアウリスタチンE (MMAE)である。いくつかの態様において、作用物質はモノメチルアウリスタチンD (MMAD)である。いくつかの態様において、作用物質は、DM1およびDM4からなる群より選択されるメイタンシノイドである。いくつかの態様において、作用物質はメイタンシノイドDM4である。いくつかの態様において、作用物質はデュオカルマイシンである。いくつかの態様において、作用物質はリンカーを介してABにコンジュゲートされる。いくつかの態様において、作用物質をABにコンジュゲートするリンカーは、SPDB部分、vc部分またはPEG2-vc部分を含む。いくつかの態様において、リンカーおよびABにコンジュゲートされる毒素は、SPDB-DM4部分、vc-MMAD部分、vc-MMAE部分、vc-デュオカルマイシン、またはPEG2-vc-MMAD部分を含む。いくつかの態様において、リンカーは切断可能リンカーである。いくつかの態様において、リンカーは非切断可能リンカーである。いくつかの態様において、作用物質は検出可能部分である。いくつかの態様において、検出可能部分は診断用作用物質である。

【0060】

いくつかの態様において、コンジュゲートされた抗体は、(a) 哺乳動物CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)であって、該ABが、(i) VH CDR1配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

; VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

; VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

; VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

; VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

; およびVL CDR3配列

QQRRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

、または(iii) SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、およびSEQ ID NO: 6~8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、前記抗体またはその抗原結合断片(AB); (b) 作用物質が、アウリスタチンE、モノメチルアウリスタチンF (MMAF)、モノメチルアウリスタチンE (MMAE)、モノメチルアウリスタチンD (MMAD)、メイタンシノイドDM4、メイタンシノイドDM1、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体およびデュオカルマイシンからなる群より選択される、ABにコンジュゲートされた作用物質、を含むコンジュゲートされた抗体を含む。

#### 【0061】

本開示はまた、CD71に結合する抗体またはその抗原結合断片の能力をMMのカップリングが低減させるような、マスキング部分(MM)にカップリングされた、CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片を含む活性化可能抗体を提供する。いくつかの態様において、MMはプロテアーゼ、例えば、罹患組織において活性であるプロテアーゼおよび/または対象の処置部位でCD71と共同在するプロテアーゼの基質を含む配列を介してカップリングされる。本明細書において互換的に抗CD71活性化可能抗体またはCD71活性化可能抗体ともいわれる、本明細書において提供される活性化可能抗CD71抗体は、循環血中で安定であり、治療および/または診断の対象部位で活性化されるが、正常な、例えば健常な組織または処置および/もしくは診断の標的とされない他の組織では活性化されず、そして、活性化されると、本明細書において親抗体ともいわれる、対応する未改変抗体に少なくとも匹敵するCD71への結合を示す。

#### 【0062】

本発明はまた、CD71に結合する活性化可能抗体、特に、CD71に結合するおよびそれを中和する、またはそうでなければCD71の生物学的活性および/もしくはCD71媒介シグナル伝達の少なくとも1つを阻害する活性化可能抗体を用いて対象におけるCD71の異常な発現および/もしくは活性に関連する症状を処置する、予防する、および/またはその症状の発症もしくは進行を遅らせる、あるいはその症状を緩和する方法を提供する。

#### 【0063】

本発明はまた、CD71に結合する活性化可能抗体、特に、CD71を発現しているもしくはそれを異常に発現している細胞に結合する、それを標的とする、中和する、死滅化する、またはそうでなければCD71を発現しているもしくはそれを異常に発現している細胞の少なくとも1つの生物学的活性を阻害する活性化可能抗体を用いて、対象における、CD71を発現しているまたはCD71を異常に発現している細胞の存在、成長、増殖、転移および/または活性に関連する症状を処置する、予防する、および/またはその症状の発症もしくは進行を遅らせる、あるいはその症状を緩和する方法を提供する。

#### 【0064】

本発明はまた、CD71に結合する活性化可能抗体、特に、CD71を発現している細胞に結合する、それを標的とする、中和する、死滅化する、またはそうでなければCD71を発現している細胞の少なくとも1つの生物学的活性を阻害する活性化可能抗体を用いて、対象における、CD71を発現している細胞の存在、成長、増殖、転移および/もしくは活性に関連する症状を処置する、予防する、および/またはその症状の発症もしくは進行を遅らせる、あるいはその症状を緩和する方法を提供する。

#### 【0065】

本発明はまた、CD71に結合する活性化可能抗体、特に、CD71を異常に発現している細胞に結合する、それを標的とする、中和する、死滅化する、またはそうでなければCD71を異常に発現している細胞の少なくとも1つの生物学的活性を阻害する活性化可能抗体を用い

10

20

30

40

50

て、対象における、CD71を異常に発現している細胞の存在、成長、増殖、転移および/もしくは活性に関連する症状を処置する、予防する、および/またはその症状の発症もしくは進行を遅らせる、あるいはその症状を緩和する方法を提供する。

【0066】

活性化可能抗体は活性化状態ではCD71に結合し、(i) CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)と、(ii)活性化可能抗体が非切断状態にある場合にABとCD71との結合を阻害するマスキング部分(MM)と、(c)ABにカップリングされた切断可能部分(CM)とを含み、該CMは、プロテアーゼの基質として機能するポリペプチドである。

【0067】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、非切断状態では、N末端からC末端に向かって、MM-CM-ABまたはAB-CM-MMのような構造的配置を有する。

10

【0068】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、MMとCMとの間に連結ペプチドを含む。

【0069】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、CMとABとの間に連結ペプチドを含む。

【0070】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は第1の連結ペプチド(LP1)および第2の連結ペプチド(LP2)を含み、非切断状態では、N末端からC末端に向かって、MM-LP1-CM-LP2-ABまたはAB-LP2-CM-LP1-MMのような構造的配置を有する。いくつかの態様において、2つの連結ペプチドは互いに同一である必要はない。

20

【0071】

いくつかの態様において、LP1またはLP2の少なくとも1つは、 $(GS)_n$ 、 $(GGS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$  (SEQ ID NO: 339)および $(GGGS)_n$  (SEQ ID NO: 340)からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、nは、少なくとも1の整数である。

【0072】

いくつかの態様において、LP1またはLP2の少なくとも1つは、GGSG (SEQ ID NO: 341), GGS GG (SEQ ID NO: 342), GSGSG (SEQ ID NO: 343), GSGGG (SEQ ID NO: 344), GGGSG (SEQ ID NO: 345), および GSSSG (SEQ ID NO: 346)

30

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

【0073】

いくつかの態様において、LP1は、アミノ酸配列 GSSGSGSGSGSG (SEQ ID NO: 347), GSSGSGSGSGG (SEQ ID NO: 348), GSSGSGSGSGGS (SEQ ID NO: 349), GSSGSGSGSGSGSGGS (SEQ ID NO: 350), GSSGSGSGSG (SEQ ID NO: 351), または GSSGSGSGSGS (SEQ ID NO: 352)を含む。

【0074】

いくつかの態様において、LP2は、アミノ酸配列 GSS, GGS, GGGS (SEQ ID NO: 353), GSSGT (SEQ ID NO: 354)または GSSG (SEQ ID NO: 355)を含む。

40

【0075】

いくつかの態様において、ABは、哺乳動物CD71に対する結合について約100 nMまたはそれ未満の解離定数を有する。いくつかの態様において、ABは、哺乳動物CD71に対する結合について約10 nMまたはそれ未満の解離定数を有する。いくつかの態様において、ABは、CD71に対する結合について約5 nMまたはそれ未満の解離定数を有する。いくつかの態様において、ABは、CD71に対する結合について約1 nMまたはそれ未満の解離定数を有する。いくつかの態様において、ABは、CD71に対する結合について約0.5 nMまたはそれ未満の解離

50

定数を有する。いくつかの態様において、ABは、CD71に対する結合について約0.1 nMまたはそれ未満の解離定数を有する。いくつかの態様において、ABは、哺乳動物CD71に対する結合について、0.01 nM~100 nM、0.01 nM~10 nM、0.01 nM~5 nM、0.01 nM~1 nM、0.01~0.5 nM、0.01 nM~0.1 nM、0.01 nM~0.05 nM、0.05 nM~100 nM、0.05 nM~10 nM、0.05 nM~5 nM、0.05 nM~1 nM、0.05~0.5 nM、0.05 nM~0.1 nM、0.1 nM~100 nM、0.1 nM~10 nM、0.1 nM~5 nM、0.1 nM~1 nM、0.1~0.5 nM、0.5 nM~100 nM、0.5 nM~10 nM、0.5 nM~5 nM、0.5 nM~1 nM、1 nM~100 nM、1 nM~10 nM、1 nM~5 nM、5 nM~100 nM、5 nM~10 nMまたは10 nM~100 nMの解離定数を有する。

#### 【0076】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)を含む。いくつかの態様において、CD71に結合する抗体またはその抗原結合断片は、モノクローナル抗体、ドメイン抗体、単鎖、Fab断片、F(ab')<sub>2</sub>断片、scFv、scAb、dAb、シングルドメイン重鎖抗体、またはシングルドメイン軽鎖抗体である。いくつかの態様において、このような、CD71に結合する抗体またはその抗原結合断片は、マウス抗体、他のげっ歯類抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、または完全ヒトモノクローナル抗体である。

#### 【0077】

いくつかの態様において、非切断状態の活性化可能抗体は、1 nM以下、5 nM以下、10 nM以下、15 nM以下、20 nM以下、25 nM以下、50 nM以下、100 nM以下、150 nM以下、250 nM以下、500 nM以下、750 nM以下、1000 nM以下および122/または2000 nM以下の解離定数で哺乳動物CD71に特異的に結合する。

#### 【0078】

いくつかの態様において、非切断状態の活性化可能抗体は、1 nM~2000 nM、1 nM~1000 nM、1 nM~750 nM、1 nM~500 nM、1 nM~250 nM、1 nM~150 nM、1 nM~100 nM、1 nM~50 nM、1 nM~25 nM、1 nM~15 nM、1 nM~10 nM、1 nM~5 nM、5 nM~2000 nM、5 nM~1000 nM、5 nM~750 nM、5 nM~500 nM、5 nM~250 nM、5 nM~150 nM、5 nM~100 nM、5 nM~50 nM、5 nM~25 nM、5 nM~15 nM、5 nM~10 nM、10 nM~2000 nM、10 nM~1000 nM、10 nM~750 nM、10 nM~500 nM、10 nM~250 nM、10 nM~150 nM、10 nM~100 nM、10 nM~50 nM、10 nM~25 nM、10 nM~15 nM、15 nM~2000 nM、15 nM~1000 nM、15 nM~750 nM、15 nM~500 nM、15 nM~250 nM、15 nM~150 nM、15 nM~100 nM、15 nM~50 nM、15 nM~25 nM、25 nM~2000 nM、25 nM~1000 nM、25 nM~750 nM、25 nM~500 nM、25 nM~250 nM、25 nM~150 nM、25 nM~100 nM、25 nM~50 nM、50 nM~2000 nM、50 nM~1000 nM、50 nM~750 nM、50 nM~500 nM、50 nM~250 nM、50 nM~150 nM、50 nM~100 nM、100 nM~2000 nM、100 nM~1000 nM、100 nM~750 nM、100 nM~500 nM、100 nM~250 nM、100 nM~150 nM、150 nM~2000 nM、150 nM~1000 nM、150 nM~750 nM、150 nM~500 nM、150 nM~250 nM、250 nM~2000 nM、250 nM~1000 nM、250 nM~750 nM、250 nM~500 nM、500 nM~2000 nM、500 nM~1000 nM、500 nM~750 nM、500 nM~500 nM、500 nM~250 nM、500 nM~150 nM、500 nM~100 nM、500 nM~50 nM、750 nM~2000 nM、750 nM~1000 nMまたは1000 nM~2000 nMの範囲内の解離定数で哺乳動物CD71に特異的に結合する。

#### 【0079】

いくつかの態様において、活性化状態の活性化可能抗体は、0.01 nM、0.05 nM、0.1 nM、0.5 nM、1 nM、5 nMまたは10 nM以下である解離定数で哺乳動物CD71に特異的に結合する。

#### 【0080】

いくつかの態様において、活性化状態の活性化可能抗体は、0.01 nM~100 nM、0.01 nM~10 nM、0.01 nM~5 nM、0.01 nM~1 nM、0.01~0.5 nM、0.01 nM~0.1 nM、0.01 nM~0.05 nM、0.05 nM~100 nM、0.05 nM~10 nM、0.05 nM~5 nM、0.05 nM~1 nM、0.05~0.5 nM、0.05 nM~0.1 nM、0.1 nM~100 nM、0.1 nM~10 nM、0.1 nM~5 nM、0.1 nM~1 nM、0.1~0.5 nM、0.5 nM~100 nM、0.5 nM~10 nM、0.5 nM~5 nM、0.5 nM~1 nM、1 nM~

100 nM、1 nM～10 nM、1 nM～5 nM、5 nM～100 nM、5 nM～10 nMまたは10 nM～100 nMの範囲内の解離定数で哺乳動物CD71に特異的に結合する。

【0081】

いくつかの態様において、哺乳動物CD71は、ヒトCD71、マウスCD71、ラットCD71、およびカニクイザルCD71からなる群より選択される。いくつかの態様において、ABは、1 nM未満の解離定数でヒトCD71、マウスCD71、またはカニクイザルCD71に特異的に結合する。いくつかの態様において、哺乳動物CD71は、ヒトCD71である。

【0082】

いくつかの態様において、ABは、以下の特徴の1つまたは複数を有する：(a) ABはヒトCD71に特異的に結合する；および(b) ABはヒトCD71およびカニクイザルCD71に特異的に結合する。 10

【0083】

いくつかの態様において、ABは、以下の特徴の1つまたは複数を有する：(a) ABはヒトCD71およびカニクイザルCD71に特異的に結合する；(b) ABは哺乳動物CD71に対するトランスフェリンの結合を阻害する；(c) ABはヒトCD71に対するヒトトランスフェリンの結合を阻害する；ならびに(d) ABはカニクイザルCD71に対するカニクイザルトランスフェリンの結合を阻害する。

【0084】

いくつかの態様において、ABは、5 nM以下、10 nM以下、50 nM以下、100 nM以下、500 nM以下および/または1000 nM以下のEC50で哺乳動物CD71に結合する天然リガンドの能力をブロックする。いくつかの態様において、ABは、5 nM以下、10 nM以下、50 nM以下、100 nM以下、500 nM以下および/または1000 nM以下のEC50で哺乳動物CD71に結合するトランスフェリンの能力をブロックする。いくつかの態様において、CD71の天然リガンドはトランスフェリンである。 20

【0085】

いくつかの態様において、ABは、5 nM～1000 nM、5 nM～500 nM、5 nM～100 nM 5 nM～50 nM、5 nM～10 nM、10 nM～1000 nM、10 nM～500 nM、10 nM～100 nM 10 nM～50 nM、50 nM～1000 nM、50 nM～500 nM、50 nM～100 nM、100 nM～1000 nM、100 nM～500 nM、500 nM～1000 nMのEC50で哺乳動物CD71に結合する天然リガンドの能力をブロックする。いくつかの態様において、ABは、5 nM～1000 nM、5 nM～500 nM、5 nM～100 nM 5 nM～50 nM、5 nM～10 nM、10 nM～1000 nM、10 nM～500 nM、10 nM～100 nM 10 nM～50 nM、50 nM～1000 nM、50 nM～500 nM、50 nM～100 nM、100 nM～1000 nM、100 nM～500 nM、500 nM～1000 nMのEC50で哺乳動物CD71に結合するトランスフェリンの能力をブロックする。いくつかの態様において、CD71の天然リガンドはトランスフェリンである。 30

【0086】

いくつかの態様において、本開示のABは、哺乳動物CD71を発現する細胞の成長、増殖および/または転移を阻害または低減する。いかなる理論にも束縛されるつもりはないが、CD71に特異的に結合して、哺乳動物CD71に対する天然リガンドの結合を阻害する、ブロックするおよび/または阻止することによって、本開示のABは、哺乳動物CD71を発現する細胞の成長、増殖および/または転移を阻害または低減しうる。いくつかの態様において、哺乳動物CD71の天然リガンドはトランスフェリンである。 40

【0087】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 1および3～5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列を含む。

【0088】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 2および6～8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 6～8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。

【0089】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 1および3～5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と、SEQ ID NO: 2および6～8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。

【0090】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と、SEQ ID NO: 6～8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。

【0091】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 1および3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列を含む。

10

【0092】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 2および6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。

20

【0093】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 1および3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列と、SEQ ID NO: 2および6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。

【0094】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列と、SEQ ID NO: 6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。

30

【0095】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、可変重鎖相補性決定領域1 (VH CDR1、本明細書においてCDRH1ともいわれる) 配列、可変重鎖相補性決定領域2 (VH CDR2、本明細書においてCDRH2ともいわれる) 配列、可変重鎖相補性決定領域3 (VH CDR3、本明細書においてCDRH3ともいわれる) 配列、可変軽鎖相補性決定領域1 (VL CDR1、本明細書においてCDRL1ともいわれる) 配列、可変軽鎖相補性決定領域2 (VL CDR2、本明細書においてCDRL2ともいわれる) 配列および可変軽鎖相補性決定領域3 (VL CDR3、本明細書においてCDRL3ともいわれる) 配列の組み合わせを含み、ここで少なくとも1つのCDR配列が、アミノ酸配列 GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

40

を含むVH CDR1配列；アミノ酸配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

を含むVH CDR2配列；アミノ酸配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

を含むVH CDR3配列；アミノ酸配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

を含むVL CDR1配列；アミノ酸配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

50

を含むVL CDR2配列；およびアミノ酸配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含むVL CDR3配列

からなる群より選択される。

【0096】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含み、ここで少なくとも1つのCDR配列が、アミノ酸配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

を含むVH CDR1配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR1配列；アミノ酸配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

を含むVH CDR2配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR2配列；アミノ酸配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

を含むVH CDR3配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR3配列；アミノ酸配列

ASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

を含むVL CDR1配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR1配列；アミノ酸配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

を含むVL CDR2配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR2配列；およびアミノ酸配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含むVL CDR3配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR3配列

からなる群より選択される。

【0097】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含み、ここでVH CDR1配列がアミノ酸配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

を含み；VH CDR2配列がアミノ酸配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

を含み；VH CDR3配列がアミノ酸配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

を含み；VL CDR1配列がアミノ酸配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

を含み；VL CDR2配列がアミノ酸配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

を含み；およびVL CDR3配列がアミノ酸配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む。

【0098】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含み、ここでVH CDR1配列がアミノ酸配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含み；VH CDR2配列がアミノ酸配列

10

20

30

40

50

## AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含み； VH CDR3配列がアミノ酸配列

## ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含み； VL CDR1配列がアミノ酸配列

## SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含み； VL CDR2配列がアミノ酸配列

## STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含み； およびVL CDR3配列がアミノ酸配列

## QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含む。

## 【 0 0 9 9 】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体のABは、表12に示される重鎖可変領域配列からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体のABは、表12に示される軽鎖可変領域配列からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体のABは、表12に示される重鎖可変領域配列からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と、表12に示される軽鎖可変領域配列からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。

## 【 0 1 0 0 】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体のABは、表12に示される重鎖可変領域配列からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体のABは、表12に示される軽鎖可変領域配列からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体のABは、表12に示される重鎖可変領域配列からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列と、表12に示される軽鎖可変領域配列からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。

## 【 0 1 0 1 】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、可変重鎖相補性決定領域1 (VH CDR1、本明細書においてCDRH1ともいわれる)配列、可変重鎖相補性決定領域2 (VH CDR2、本明細書においてCDRH2ともいわれる)配列、可変重鎖相補性決定領域3 (VH CDR3、本明細書においてCDRH3ともいわれる)配列、可変軽鎖相補性決定領域1 (VL CDR1、本明細書においてCDRL1ともいわれる)配列、可変軽鎖相補性決定領域2 (VL CDR2、本明細書においてCDRL2ともいわれる)配列および可変軽鎖相補性決定領域3 (VL CDR3、本明細書においてCDRL3ともいわれる)配列の組み合わせを含み、ここで少なくとも1つのCDR配列が、表13に示されるVH CDR1配列；表13に示されるVH CDR2配列；表13に示されるVH CDR3配列；表13に示されるVL CDR1配列；表13に示されるVL CDR2配列；および表13に示されるVL CDR3配列からなる群より選択される。

## 【 0 1 0 2 】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含み、ここで少なくとも1つのCDR配列が、表13に示されるVH CDR1配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、

10

20

30

40

50

95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR1配列；表13に示されるVH CDR2配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR2配列；表13に示されるVH CDR3配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR3配列；表13に示されるVL CDR1配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR1配列；表13に示されるVL CDR2配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR2配列；および表13に示されるVL CDR3配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR3配列からなる群より選択される。

10

**【0103】**

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含み、ここで該組み合わせは、表13の単一系列内に示される6つのCDR配列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2およびVL CDR3)の組み合わせである。

**【0104】**

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VH CDR1配列、VH CDR2配列およびVH CDR3配列の組み合わせを含む重鎖を含み、ここで該組み合わせは、表13の単一系列内に示される3つの重鎖CDR配列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)の組み合わせである。

20

**【0105】**

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含む軽鎖を含み、ここで該組み合わせは、表13の単一系列内に示される3つの軽鎖CDR配列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3)の組み合わせである。

**【0106】**

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含み、ここで該組み合わせにおける各CDR配列は、表13の単一系列内に示される6つのCDR配列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2およびVL CDR3)の組み合わせにおける対応するCDR配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含む。

30

**【0107】**

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VH CDR1配列、VH CDR2配列およびVH CDR3配列の組み合わせを含む重鎖可変領域を含み、ここで該組み合わせにおける各CDR配列は、表13の単一系列内に示される3つの重鎖CDR配列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)の組み合わせにおける対応するCDR配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含む。

**【0108】**

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含む軽鎖可変領域を含み、ここで該組み合わせにおける各CDR配列は、表13の単一系列内に示される3つの軽鎖CDR配列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3)の組み合わせにおける対応するCDR配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含む。

40

**【0109】**

いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、CD71に対するABの解離定数よりも大きい解離定数を有する。

**【0110】**

いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、CD71に対するABの解離定数以下の解離定数を有する。

**【0111】**

いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、CD71に対するABの解離定数

50

よりも小さい解離定数を有する。

【0112】

いくつかの態様において、ABに対するMMの解離定数( $K_d$ )は、標的に対するABの解離定数よりも2、3、4、5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000倍以下もしくはそれ以上であるか、または1~5、5~10、10~100、10~1,000、10~10,000、10~100,000、10~1,000,000、10~10,000,000、100~1,000、100~10,000、100~100,000、100~1,000,000、100~10,000,000、1,000~10,000、1,000~100,000、1,000~1,000,000、1000~10,000,000、10,000~100,000、10,000~1,000,000、10,000~10,000,000、100,000~1,000,000もしくは100,000~10,000,000倍もしくはそれ以上である。

10

【0113】

いくつかの態様において、活性化可能抗体が切断状態にある場合、MMはCD71に対する結合についてABに干渉も競合もしない。

【0114】

いくつかの態様において、MMは、長さが約2~40アミノ酸のポリペプチドである。いくつかの態様において、MMは、長さが約40アミノ酸までのポリペプチドである。

【0115】

いくつかの態様において、MMのポリペプチド配列はCD71のポリペプチド配列とは異なる。いくつかの態様において、MMのポリペプチド配列の、ABのあらゆる天然結合パートナーに対する同一性は、50%以下である。いくつかの態様において、MMのポリペプチド配列はCD71のポリペプチド配列と異なり、ABのあらゆる天然結合パートナーに対する同一性が、40%以下、30%以下、25%以下、20%以下、15%以下、または10%以下である。

20

【0116】

いくつかの態様では、CD71に対する、MMにカップリングしている時のABの解離定数( $K_d$ )が、CD71に対する、MMにカップリングしていない時のABの $K_d$ の少なくとも2倍になるように、MMがABにカップリングすることによって、ABのCD71に結合する能力が低下する。

【0117】

いくつかの態様では、CD71に対する、MMにカップリングしている時のABの解離定数( $K_d$ )が、CD71に対する、MMにカップリングしていない時のABの $K_d$ の少なくとも5倍になるように、MMがABにカップリングすることによって、ABのCD71に結合する能力が低下する。

30

【0118】

いくつかの態様では、CD71に対する、MMにカップリングしている時のABの解離定数( $K_d$ )が、CD71に対する、MMにカップリングしていない時のABの $K_d$ の少なくとも10倍になるように、MMがABにカップリングすることによって、ABのCD71に結合する能力が低下する。

【0119】

いくつかの態様では、CD71に対する、MMにカップリングしている時のABの解離定数( $K_d$ )が、CD71に対する、MMにカップリングしていない時のABの $K_d$ の少なくとも20倍になるように、MMがABにカップリングすることによって、ABのCD71に結合する能力が低下する。

【0120】

いくつかの態様では、CD71に対する、MMにカップリングしている時のABの解離定数( $K_d$ )が、CD71に対する、MMにカップリングしていない時のABの $K_d$ の少なくとも40倍になるように、MMがABにカップリングすることによって、ABのCD71に結合する能力が低下する。

40

【0121】

いくつかの態様では、CD71に対する、MMにカップリングしている時のABの解離定数( $K_d$ )が、CD71に対する、MMにカップリングしていない時のABの $K_d$ の少なくとも100倍になるように、MMがABにカップリングすることによって、ABのCD71に結合する能力が低下する。

【0122】

いくつかの態様では、CD71に対する、MMにカップリングしている時のABの解離定数( $K_d$ )が、CD71に対する、MMにカップリングしていない時のABの $K_d$ の少なくとも1000倍になるように、MMがABにカップリングすることによって、ABのCD71に結合する能力が低下する。

50

## 【0123】

いくつかの態様では、CD71に対する、MMにカップリングしている時のABの解離定数( $K_d$ )が、CD71に対する、MMにカップリングしていない時のABの $K_d$ の少なくとも10,000倍になるように、MMがABにカップリングすることによって、ABのCD71に結合する能力が低下する。

## 【0124】

いくつかの態様において、標的置換(target displacement)アッセイ、例えば、PCT公開番号WO2010/081173に記載のアッセイを用いてインビトロでアッセイした時、CMが切断されている場合と比較して、CMが切断されていない場合、CD71の存在下で、MMによって、ABのCD71に結合する能力は少なくとも90%低下する。WO2010/081173の内容は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

10

## 【0125】

いくつかの態様において、MMは、SEQ ID NO:16~295および297~314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

## 【0126】

いくつかの態様において、CMを切断するプロテアーゼは、罹患組織において活性があり、例えばアップレギュレートされているかまたはさもなくばレギュレートされておらず、活性化可能抗体がプロテアーゼに曝露された時に、活性化可能抗体にあるCMを切断する。

## 【0127】

いくつかの態様において、プロテアーゼは、組織においてCD71と共存しており、活性化可能抗体がプロテアーゼに曝露された時に、活性化可能抗体にあるCMを切断する。

20

## 【0128】

いくつかの態様において、活性化可能抗体が非切断状態にある場合は、活性化可能抗体とCD71との結合が、改変されていないABとCD71との結合の解離定数の少なくとも2倍の解離定数で起こるように低下するが、切断状態にある場合(すなわち、活性化可能抗体が切断状態にある場合)は、ABがCD71に結合するように、CMは活性化可能抗体に配置される。

## 【0129】

いくつかの態様において、活性化可能抗体が非切断状態にある場合は、活性化可能抗体とCD71との結合が、改変されていないABとCD71との結合の解離定数の少なくとも5倍の解離定数で起こるように低下するが、切断状態にある場合(すなわち、活性化可能抗体が切断状態にある場合)は、ABがCD71に結合するように、CMは活性化可能抗体に配置される。

30

## 【0130】

いくつかの態様において、活性化可能抗体が非切断状態にある場合は、活性化可能抗体とCD71との結合が、改変されていないABとCD71との結合の解離定数の少なくとも10倍の解離定数で起こるように低下するが、切断状態にある場合(すなわち、活性化可能抗体が切断状態にある場合)は、ABがCD71に結合するように、CMは活性化可能抗体に配置される。

## 【0131】

いくつかの態様において、活性化可能抗体が非切断状態にある場合は、活性化可能抗体とCD71との結合が、改変されていないABとCD71との結合の解離定数の少なくとも20倍の解離定数で起こるように低下するが、切断状態にある場合(すなわち、活性化可能抗体が切断状態にある場合)は、ABがCD71に結合するように、CMは活性化可能抗体に配置される。

40

## 【0132】

いくつかの態様において、活性化可能抗体が非切断状態にある場合は、活性化可能抗体とCD71との結合が、改変されていないABとCD71との結合の解離定数の少なくとも40倍の解離定数で起こるように低下するが、切断状態にある場合は、ABがCD71に結合するように、CMは活性化可能抗体に配置される。

## 【0133】

いくつかの態様において、活性化可能抗体が非切断状態にある場合は、活性化可能抗体とCD71との結合が、改変されていないABとCD71との結合の解離定数の少なくとも50倍の解離定数で起こるように低下するが、切断状態にある場合は、ABがCD71に結合するように、CMは活性化可能抗体に配置される。

50

## 【0134】

いくつかの態様において、活性化可能抗体が非切断状態にある場合は、活性化可能抗体とCD71との結合が、改変されていないABとCD71との結合の解離定数の少なくとも100倍の解離定数で起こるように低下するが、切断状態にある場合は、ABがCD71に結合するように、CMは活性化可能抗体に配置される。

## 【0135】

いくつかの態様において、活性化可能抗体が非切断状態にある場合は、活性化可能抗体とCD71との結合が、改変されていないABとCD71との結合の解離定数の少なくとも200倍の解離定数で起こるように低下するが、切断状態にある場合は、ABがCD71に結合するように、CMは活性化可能抗体に配置される。

10

## 【0136】

いくつかの態様において、CMは、長さが15アミノ酸までのポリペプチドである。

## 【0137】

いくつかの態様において、CMは、少なくとも1つのマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)の基質である第1の切断可能部分(CM1)と、少なくとも1種類のセリンプロテアーゼ(SP)の基質である第2の切断可能部分(CM2)を含むポリペプチドである。いくつかの態様において、CM1-CM2基質のCM1基質配列およびCM2基質配列はそれぞれ、独立して、長さが15アミノ酸までのポリペプチドである。

## 【0138】

いくつかの態様において、CMは、がんにおいてアップレギュレートされているもしくはさもなくばレギュレートされていない、またはがんにおいてアップレギュレートされているもしくはさもなくばレギュレートされていないと考えられている、少なくとも1種類のプロテアーゼの基質である。

20

## 【0139】

いくつかの態様において、CMは、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)、トロンビン、好中球エラスターゼ、システインプロテアーゼ、レグマイン(legumain)、およびセリンプロテアーゼ、例えば、マトリプターゼ(MT-SP1)、ならびにウロキナーゼ(uPA)からなる群より選択される少なくとも1種類のプロテアーゼの基質である。理論に拘束されるものではないが、これらのプロテアーゼは、がんの少なくとも1つにおいてアップレギュレートされているまたはさもなくばレギュレートされていないと考えられている。

30

## 【0140】

例示的な基質には、表4に列挙した以下の酵素またはプロテアーゼの1つまたは複数によって切断可能な基質が含まれるが、これに限定されない。

## 【0141】

いくつかの態様において、CMは、特定のプロテアーゼ、例えば、活性化可能抗体の標的と共存することが知られているプロテアーゼと共に使用するために選択される。

## 【0142】

いくつかの態様において、CMは、少なくとも1種類のMMPの基質である。MMPの例には、表4に列挙したMMPが含まれる。いくつかの態様において、CMは、MMP9、MMP14、MMP1、MMP3、MMP13、MMP17、MMP11、およびMMP19からなる群より選択されるプロテアーゼの基質である。いくつかの態様において、CMはMMP9の基質である。いくつかの態様において、CMはMMP14の基質である。

40

## 【0143】

いくつかの態様において、CMは、配列

TGRGPSWV (SEQ ID NO: 356); SARGPSRW (SEQ ID NO: 357); TARGPSFK (SEQ ID NO: 358); LSGRSDNH (SEQ ID NO: 359); GGWHTGRN (SEQ ID NO: 360); HTGRSGAL (SEQ ID NO: 361); PLTGRSGG (SEQ ID NO: 362); AARGPAIH (SEQ ID NO: 363); RGPAFNPM (SEQ ID NO: 364); SSRGPAYL (SEQ ID NO: 365); RGPATPIM (SEQ ID NO: 366); RGPA (SEQ ID NO: 367); GGQPSGMWGW (SEQ ID NO: 368); FPRPLGITGL (SEQ ID NO: 369); VHMPGLGFLGP (SEQ ID NO: 370); SPLTGRSG (SEQ ID NO: 371); SAGFSLPA (SEQ ID NO: 372); LAPLGLQRR (SEQ ID NO: 373); SGGPLGVR (SEQ ID NO: 374); PLGL (SEQ ID NO: 375); LSGRSGNH (SEQ ID NO: 789); SGRSANPRG (SEQ ID NO: 790); LSGRSDDH (SEQ ID NO: 791); LSGRSDIH (SEQ ID NO: 792); LSGRSDQH (SEQ ID NO: 793); LSGRSDTH (SEQ ID NO: 794); LSGRSDYH (SEQ ID NO: 795); LSGRSDNP (SEQ ID NO: 796); LSGRSANP (SEQ ID NO: 797); LSGRSANI (SEQ ID NO: 798); LSGRSDNI (SEQ ID NO: 799); MIAPVAYR (SEQ ID NO: 800); RPSPMWAY (SEQ ID NO: 801); WATPRPMR (SEQ ID NO: 802); FRLLDWQW (SEQ ID NO: 803); ISSGL (SEQ ID NO: 804); ISSGLLS (SEQ ID NO: 805); および/または ISSGLL (SEQ ID NO: 806)

10

20

を含む基質である。

#### 【 0 1 4 4 】

いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列 LSGRSDNH (SEQ ID NO: 359) を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列 TGRGPSWV (SEQ ID NO: 356) を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列 PLTGRSGG (SEQ ID NO: 362) を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列 GGQPSGMWGW (SEQ ID NO: 368) を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列 FPRPLGITGL (SEQ ID NO: 369) を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列 VHMPGLGFLGP (SEQ ID NO: 370) を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列 PLGL (SEQ ID NO: 375) を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列 SARGPSRW (SEQ ID NO: 357) を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列 TARGPSFK (SEQ ID NO: 358) を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列 GGWHTGRN (SEQ ID NO: 360) を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列 HTGRSGAL (SEQ ID NO: 361) を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列 AARGPAIH (SEQ ID NO: 363) を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列 RGPAFNPM (SEQ ID NO: 364) を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列 SSRGPAYL (SEQ ID NO: 365)

30

40

50

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
RGPATPIM (SEQ ID NO: 366)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
RGPA (SEQ ID NO: 367)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
LSGRSGNH (SEQ ID NO: 789)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
SGRSANPRG (SEQ ID NO: 790)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
LSGRSDDH (SEQ ID NO: 791)

10

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
LSGRSDIH (SEQ ID NO: 792)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
LSGRSDQH (SEQ ID NO: 793)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
LSGRSDTH (SEQ ID NO: 794)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
LSGRSDYH (SEQ ID NO: 795)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
LSGRSDNP (SEQ ID NO: 796)

20

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
LSGRSANP (SEQ ID NO: 797)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
LSGRSANI (SEQ ID NO: 798)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
LSGRSDNI (SEQ ID NO: 799)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
MIAPVAYR (SEQ ID NO: 800)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
RPSPMWAY (SEQ ID NO: 801)

30

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
WATPRPMR (SEQ ID NO: 802)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
FRLLDWQW (SEQ ID NO: 803)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
ISSGL (SEQ ID NO: 804)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
ISSGLLS (SEQ ID NO: 805)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列および/または  
ISSGLL (SEQ ID NO: 806)

40

を含む。

# 【 0 1 4 5 】

いくつかの態様において、CMはMMPの基質であり、配列

ISSGLSS (SEQ ID NO: 376); QNQALRMA (SEQ ID NO: 377); AQNLLGMV  
(SEQ ID NO: 378); STFPFGMF (SEQ ID NO: 379); PVGYTSSL (SEQ ID NO: 380);  
DWLYWPGI (SEQ ID NO: 381); ISSGLSS (SEQ ID NO: 382); LKAAPRWA (SEQ ID  
NO: 383); GPSHLVLT (SEQ ID NO: 384); LPGGLSPW (SEQ ID NO: 385); MGLFSEAG  
(SEQ ID NO: 386); SPLPLRVP (SEQ ID NO: 387); RMHLRSLG (SEQ ID NO: 388);  
LAAPLGLL (SEQ ID NO: 389); AVGLLAPP (SEQ ID NO: 390); LLAPSHRA (SEQ ID  
NO: 391); および/または PAGLWLD (SEQ ID NO: 392)  
を含む。

10

## 【 0 1 4 6 】

いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
ISSGLSS (SEQ ID NO: 376)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
QNQALRMA (SEQ ID NO: 377)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
AQNLLGMV (SEQ ID NO: 378)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
STFPFGMF (SEQ ID NO: 379)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
PVGYTSSL (SEQ ID NO: 380)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
DWLYWPGI (SEQ ID NO: 381)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
ISSGLSS (SEQ ID NO: 382)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
LKAAPRWA (SEQ ID NO: 383)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
GPSHLVLT (SEQ ID NO: 384)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
LPGGLSPW (SEQ ID NO: 385)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
MGLFSEAG (SEQ ID NO: 386)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
SPLPLRVP (SEQ ID NO: 387)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
RMHLRSLG (SEQ ID NO: 388)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
LAAPLGLL (SEQ ID NO: 389)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
AVGLLAPP (SEQ ID NO: 390)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
LLAPSHRA (SEQ ID NO: 391)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
PAGLWLD (SEQ ID NO: 392)  
を含む。

20

30

40

## 【 0 1 4 7 】

いくつかの態様において、CMはトロンビンの基質である。いくつかの態様において、CM  
はトロンビンの基質であり、配列  
GPRSFGL (SEQ ID NO: 393) または GPRSFG (SEQ ID NO: 394)

50

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
GPRSFGL (SEQ ID NO: 393)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
GPRSFG (SEQ ID NO: 394)

を含む。

【0148】

いくつかの態様において、CMは、  
NTLSGRSENHSG (SEQ ID NO: 395); NTLSGRSGNHGS  
(SEQ ID NO: 396); TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 397); TSGRSANP (SEQ ID  
NO: 398); VAGRSMRP (SEQ ID NO: 399); VVPEGRRS (SEQ ID NO: 400); ILPRSPAF  
(SEQ ID NO: 401); MVLGRSLL (SEQ ID NO: 402); QGRAITFI (SEQ ID NO: 403);  
SPRSIMLA (SEQ ID NO: 404); および SMLRSMPL (SEQ ID NO: 405)

10

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

【0149】

いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
NTLSGRSENHSG (SEQ ID NO: 395)  
を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
NTLSGRSGNHGS (SEQ ID NO: 396)

20

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 397)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
TSGRSANP (SEQ ID NO: 398)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
VAGRSMRP (SEQ ID NO: 399)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
VVPEGRRS (SEQ ID NO: 400)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
ILPRSPAF (SEQ ID NO: 401)

30

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
MVLGRSLL (SEQ ID NO: 402)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
QGRAITFI (SEQ ID NO: 403)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
SPRSIMLA (SEQ ID NO: 404)

を含む。いくつかの態様において、CMは、アミノ酸配列  
SMLRSMPL (SEQ ID NO: 405)

を含む。

【0150】

40

いくつかの態様において、CMは好中球エラスターゼの基質である。いくつかの態様にお  
いて、CMはセリンプロテアーゼの基質である。いくつかの態様において、CMはuPAの基質  
である。いくつかの態様において、CMはレグマインの基質である。いくつかの態様におい  
て、CMはマトリプターゼの基質である。いくつかの態様において、CMはシステインプロテ  
アーゼの基質である。いくつかの態様において、CMは、カテプシンなどのシステインプロ  
テアーゼの基質である。

【0151】

いくつかの態様において、CMはCM1 ~ CM2基質であり、配列

ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 406); ISSGLSSGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 407); AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 408); TSTSGRSANPRGGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 409); VHMPLGFLGPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 410); TSTSGRSANPRGGGVHMPLGFLGP (SEQ ID NO: 411); AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 412); LSGRSDNHGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 413); VHMPLGFLGPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 414); LSGRSDNHGGVHMPLGFLGP (SEQ ID NO: 415); LSGRSDNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 416); LSGRSGNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 417); ISSGLSSGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 418); LSGRSDNHGGSGGSQLRMA (SEQ ID NO: 419); QNQALRMAGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 420); LSGRSGNHGGSGGSQLRMA (SEQ ID NO: 421); QNQALRMAGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 422); ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 423); ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 680); AVGLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 681); AVGLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO: 682); ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 683); ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 684); ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 685); ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 686); ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 687); ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 688); ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 689); ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 690); AVGLLAPPGGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 691); AVGLLAPPGGLSGRSDIH (SEQ ID NO: 692); AVGLLAPPGGLSGRSDQH (SEQ ID NO: 693); AVGLLAPPGGLSGRSDTH (SEQ ID NO: 694); AVGLLAPPGGLSGRSDYH (SEQ ID NO: 695); AVGLLAPPGGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 696); AVGLLAPPGGLSGRSANP (SEQ ID NO: 697); AVGLLAPPGGLSGRSANI (SEQ ID NO: 698); ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 713); AVGLLAPPGGLSGRSDNI (SEQ ID NO: 714); GLSGRSDNHGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 807); および/または GLSGRSDNHGGVHMPLGFLGP (SEQ ID NO: 808)

10

20

30

を含む。

【 0 1 5 2 】

いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 406)

を含み、これは本明細書において基質2001ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

40

ISSGLSSGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 407)

を含み、これは本明細書において基質1001/LP'/0001ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列

GGSGGS (SEQ ID NO: 1037)

である。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 408)

を含み、これは本明細書において基質2015および/または基質1004/LP'/0003ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列GGである。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

50

## TSTSGRSANPRGGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 409)

を含み、これは本明細書において基質0003/LP'/1004ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列GGである。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

## VHMPLGFLGPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 410)

を含み、これは本明細書において基質1003/LP'/0003ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列GGである。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

## TSTSGRSANPRGGGVHMPLGFLGP (SEQ ID NO: 411)

を含み、これは本明細書において基質0003/LP'/1003ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列GGである。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

10

## AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 412)

を含み、これは本明細書において基質3001および/または基質1004/LP'/0001ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列GGである。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

## LSGRSDNHGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 413)

を含み、これは本明細書において基質0001/LP'/1004ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列GGである。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

20

## VHMPLGFLGPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 414)

を含み、これは本明細書において基質1003/LP'/0001ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列GGである。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

## LSGRSDNHGGVHMPLGFLGP (SEQ ID NO: 415)

を含み、これは本明細書において基質0001/LP'/1003ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列GGである。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

## LSGRSDNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 416)

を含み、これは本明細書において基質0001/LP'/1001ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列

30

## GGSGGS (SEQ ID NO: 1037)

である。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

## LSGRSGNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 417)

を含み、これは本明細書において基質0002/LP'/1001ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列

## GGSGGS (SEQ ID NO: 1037)

である。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

## ISSGLLSSGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 418)

を含み、これは本明細書において基質1001/LP'/0002ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列

40

## GGSGGS (SEQ ID NO: 1037)

である。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

## LSGRSDNHGGSGGSQNQALRMA (SEQ ID NO: 419)

を含み、これは本明細書において基質0001/LP'/1002ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列

## GGSGGS (SEQ ID NO: 1037)

である。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

## QNQALRMAGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 420)

を含み、これは本明細書において基質1002/LP'/0001ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質

50

において用いられるLP'は、アミノ酸配列

GGSGGS (SEQ ID NO: 1037)

である。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

LSGRSGNHGGSGGSQNQALRMA (SEQ ID NO: 421)

を含み、これは本明細書において基質0002/LP'/1002ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列

GGSGGS (SEQ ID NO: 1037)

である。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

QNQALRMAGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 422)

を含み、これは本明細書において基質1002/LP'/0002ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列

GGSGGS (SEQ ID NO: 1037)

である。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 423)

を含み、これは本明細書において基質2002ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 680)

を含み、これは本明細書において基質2003ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

AVGLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 681)

を含み、これは本明細書において基質2004ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

AVGLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO: 682)

を含み、これは本明細書において基質2005ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 683)

を含み、これは本明細書において基質2006ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 684)

を含み、これは本明細書において基質2007ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 685)

を含み、これは本明細書において基質2008ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 686)

を含み、これは本明細書において基質2009ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 687)

を含み、これは本明細書において基質2010ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 688)

を含み、これは本明細書において基質2011ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 689)

を含み、これは本明細書において基質2012ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 690)

を含み、これは本明細書において基質2013ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

AVGLLAPPGGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 691)

10

20

30

40

50

を含み、これは本明細書において基質3006ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

AVGLLAPPGGLSGRSDIH (SEQ ID NO: 692)

を含み、これは本明細書において基質3007ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

AVGLLAPPGGLSGRSDQH (SEQ ID NO: 693)

を含み、これは本明細書において基質3008ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

AVGLLAPPGGLSGRSDTH (SEQ ID NO: 694)

を含み、これは本明細書において基質3009ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

AVGLLAPPGGLSGRSDYH (SEQ ID NO: 695)

を含み、これは本明細書において基質3010ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

AVGLLAPPGGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 696)

を含み、これは本明細書において基質3011ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

AVGLLAPPGGLSGRSANP (SEQ ID NO: 697)

を含み、これは本明細書において基質3012ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

AVGLLAPPGGLSGRSANI (SEQ ID NO: 698)

を含み、これは本明細書において基質3013ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 713)

を含み、これは本明細書において基質2014ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

AVGLLAPPGGLSGRSDNI (SEQ ID NO: 714)

を含み、これは本明細書において基質3014ともいわれる。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

GLSGRSDNHGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 807)

を含み、これは本明細書において基質0001/LP'/1004ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列GGである。いくつかの態様において、CM1-CM2基質は配列

GLSGRSDNHGGVHMPLGFLGP (SEQ ID NO: 808)

を含み、これは本明細書において基質0001/LP'/1003ともいわれ、ここでこのCM1-CM2基質において用いられるLP'は、アミノ酸配列GGである。

【0153】

いくつかの態様において、CMは、少なくとも2種類のプロテアーゼの基質である。いくつかの態様において、それぞれのプロテアーゼは、表4に示したプロテアーゼからなる群より選択される。いくつかの態様において、CMは、少なくとも2種類のプロテアーゼの基質であり、プロテアーゼの一方は、MMP、トロンビン、好中球エラスターゼ、システインプロテアーゼ、uPA、レグマイン、およびマトリプターゼからなる群より選択され、他方のプロテアーゼは、表4に示したプロテアーゼからなる群より選択される。いくつかの態様において、CMは、MMP、トロンビン、好中球エラスターゼ、システインプロテアーゼ、uPA、レグマイン、およびマトリプターゼからなる群より選択される少なくとも2種類のプロテアーゼの基質である。

【0154】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は少なくとも第1のCMおよび第2のCMを含む。いくつかの態様において、第1のCMおよび第2のCMはそれぞれ、15アミノ酸以下の長さのポリペプチドである。いくつかの態様において、非切断状態の活性化可能抗体にある第1のC

10

20

30

40

50

Mおよび第2のCMは、N末端からC末端に向かって、MM-CM1-CM2-ABまたはAB-CM2-CM1-MMのような構造的配置を有する。いくつかの態様において、第1のCMおよび第2のCMの少なくとも1つは、MMP、トロンビン、好中球エラスターゼ、システインプロテアーゼ、uPA、レグマイン、およびマトリプターゼからなる群より選択されるプロテアーゼの基質として機能するポリペプチドである。いくつかの態様において、第1のCMは、標的組織にある、MMP、トロンビン、好中球エラスターゼ、システインプロテアーゼ、uPA、レグマイン、およびマトリプターゼからなる群より選択される第1の切断剤によって切断され、第2のCMは、標的組織にある第2の切断剤によって切断される。いくつかの態様において、他のプロテアーゼは、表4に示したプロテアーゼからなる群より選択される。いくつかの態様において、第1の切断剤および第2の切断剤は、MMP、トロンビン、好中球エラスターゼ、システインプロテアーゼ、uPA、レグマイン、およびマトリプターゼからなる群より選択される同じプロテアーゼであり、第1のCMおよび第2のCMは、この酵素の異なる基質である。いくつかの態様において、第1の切断剤および第2の切断剤は、表4に示したプロテアーゼからなる群より選択される同じプロテアーゼである。いくつかの態様において、第1の切断剤および第2の切断剤は異なるプロテアーゼである。いくつかの態様において、第1の切断剤および第2の切断剤は標的組織において共存している。いくつかの態様において、第1のCMおよび第2のCMは、標的組織にある少なくとも1種類の切断剤によって切断される。

10

#### 【0155】

いくつかの態様において、プロテアーゼがCMを切断した後に、活性化された抗体が、活性化状態または切断状態では、LP2および/またはCM配列の少なくとも一部を含む軽鎖アミノ酸配列を含むように、活性化可能抗体はプロテアーゼに曝露され、プロテアーゼによって切断される。

20

#### 【0156】

本開示の好適な活性化可能抗CD71抗体はまた、ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71上の、SEQ ID NO: 1および3~5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列とSEQ ID NO: 2および6~8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む抗CD71抗体と同じエピトープに結合する、抗体またはその抗原結合断片を含む。

#### 【0157】

本開示の好適な活性化可能抗CD71抗体はまた、ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71上の、アミノ酸配列

30

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

を含むVH CDR1配列; アミノ酸配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

を含むVH CDR2配列; アミノ酸配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

を含むVH CDR3配列; アミノ酸配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)または CRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

を含むVL CDR1配列; アミノ酸配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

を含むVL CDR2配列; およびアミノ酸配列

40

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含むVL CDR3配列を含む抗CD71抗体と同じエピトープに結合する、抗体またはその抗原結合断片を含む。

#### 【0158】

本開示の好適な活性化可能抗CD71抗体はまた、ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71上の、表12に示される重鎖可変領域配列からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と表12に示される軽鎖可変領域配列からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む抗CD71抗体と同じエピトープに結合する、抗体またはその抗原結合断片を含む。

#### 【0159】

50

本開示の好適な活性化可能抗CD71抗体はまた、ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71上の、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含む抗CD71抗体と同じエピトープに結合する、抗体またはその抗原結合断片を含み、ここで該組み合わせは、表13の単一系列内に示される6つのCDR配列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2およびVL CDR3)の組み合わせである。

【0160】

本開示の好適な活性化可能抗CD71抗体はまた、ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71に対する結合について、SEQ ID NO: 1および3~5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列とSEQ ID NO: 2および6~8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む抗CD71抗体と交差競合する、抗体またはその抗原結合断片を含む。

10

【0161】

本開示の好適な活性化可能抗CD71抗体はまた、ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71に対する結合について、アミノ酸配列  
GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

を含むVH CDR1配列；アミノ酸配列  
AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

を含むVH CDR2配列；アミノ酸配列  
ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

を含むVH CDR3配列；アミノ酸配列  
SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

20

を含むVL CDR1配列；アミノ酸配列  
STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

を含むVL CDR2配列；およびアミノ酸配列  
QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含むVL CDR3配列を含む抗CD71抗体と交差競合する、抗体またはその抗原結合断片を含む。

【0162】

本開示の好適な活性化可能抗CD71抗体はまた、ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71に対する結合について、表12に示される重鎖可変領域配列からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と表12に示される軽鎖可変領域配列からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む抗CD71抗体のように交差競合する、抗体またはその抗原結合断片を含む。

30

【0163】

本開示の好適な活性化可能抗CD71抗体はまた、ヒトCD71および/またはカニクイザルCD71に対する結合について、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含む抗CD71抗体のように交差競合する、抗体またはその抗原結合断片を含み、ここで該組み合わせは、表13の単一系列内に示される6つのCDR配列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2およびVL CDR3)の組み合わせである。

【0164】

40

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、哺乳動物CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)であって、該ABがヒトCD71およびカニクイザルCD71に特異的に結合する、前記抗体またはその抗原結合断片(AB)；活性化可能抗体が非切断状態にある場合にCD71へのABの結合を阻害するマスキング部分(MM)；ならびにABにカップリングされた切断可能部分(CM)であって、プロテアーゼの基質として機能するポリペプチドである、前記CMを含む、活性化された状態で、CD71に結合する活性化可能抗体である。

【0165】

いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、CD71に対するABの解離定数よりも大きい解離定数を有する。いくつかの態様において、活性化可能抗体が切断状態にある場合、MMはCD71に対する結合についてABに干渉も競合もしない。いくつかの態様にお

50

いて、MMは、長さが40アミノ酸以下のポリペプチドである。いくつかの態様において、MMのポリペプチド配列はヒトCD71のポリペプチド配列とは異なる。いくつかの態様において、MMポリペプチド配列の、ABのあらゆる天然の結合パートナーに対する同一性が50%以下である。いくつかの態様において、MMは、SEQ ID NO: 16~295および297~314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、MMは、SEQ ID NO: 16、17および297~314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

#### 【0166】

いくつかの態様において、CMは、罹患組織において活性のあるプロテアーゼの基質である。いくつかの態様において、CMは、SEQ ID NO: 356~423、680~698、713、714および789~808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、CMは、SEQ ID NO: 406~423、680~698、713、714および807~808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

10

#### 【0167】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、Fab断片、F(ab')<sub>2</sub>断片、scFv、scAb、dAb、単ドメイン重鎖抗体、および単ドメイン軽鎖抗体からなる群より選択されるその抗原結合断片を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗体のABは、ヒトCD71に特異的に結合する。いくつかの態様において、ABは、VH CDR1配列  
GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

; VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

; VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

; VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

; VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

; およびVL CDR3配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む。いくつかの態様において、ABは、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、ならびにSEQ ID NO: 6~8および809~908からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

30

#### 【0168】

いくつかの態様において、ABはCMに連結される。いくつかの態様において、ABはCMに直接連結される。いくつかの態様において、ABは連結ペプチドを介してCMに連結される。いくつかの態様において、非切断状態の活性化可能抗体がN末端からC末端に向かってMM-CM-ABまたはAB-CM-MMのような構造的配置を含むように、MMはCMに連結される。いくつかの態様において、活性化可能抗体はMMとCMとの間に連結ペプチドを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗体はCMとABとの間に連結ペプチドを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗体は第1の連結ペプチド(LP1)および第2の連結ペプチド(LP2)を含み、かつ非切断状態の活性化可能抗体はN末端からC末端に向かってMM-LP1-CM-LP2-ABまたはAB-LP2-CM-LP1-MMのような構造的配置を有する。いくつかの態様において、2つの連結ペプチドは互いに同一である必要はない。いくつかの態様において、LP1およびLP2の各々は、約1~20アミノ酸長のペプチドである。

40

#### 【0169】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 325または699の重鎖配列ならびにSEQ ID NO: 327、329、331、333、335、337、650、652、654、656、658、660、670~673、701~712、721~788、809~836および841~908からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

#### 【0170】

いくつかの態様において、活性化可能抗体はアミノ酸配列の組み合わせを含み、ここで

50

該アミノ酸配列の組み合わせは表Dの単一系列から選択され、ここで所与の組み合わせについて、(a) ABの重鎖が表Dに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応するVH CDR配列のアミノ酸配列を含み、(b) ABの軽鎖が表Dに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応するVL CDR配列のアミノ酸配列を含み、(c) MMが表Dに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応するマスク配列(MM)のアミノ酸配列を含み、かつ(d) CMが表Dに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応する基質配列(CM)のアミノ酸配列を含む。

# 【 0 1 7 1 】

いくつかの態様において、活性化可能抗体はアミノ酸配列の組み合わせを含み、ここでアミノ酸配列の所与の組み合わせについて、(a) ABの重鎖が表Eの対応する縦列に列挙されたVH配列またはVH CDR配列からなる群より選択されるVH配列またはVH CDR配列のアミノ酸配列を含み、(b) ABの軽鎖が表Eの対応する縦列に列挙されたVL配列またはVL CDR配列からなる群より選択されるVL配列またはVL CDR配列のアミノ酸配列を含み、(c) MMが表Eの対応する縦列に列挙されたMM配列からなる群より選択されるマスク配列(MM)のアミノ酸配列を含み、かつ(d) CMが表Eの対応する縦列に列挙されたCM配列からなる群より選択される基質配列(CM)のアミノ酸配列を含む。

# 【 0 1 7 2 】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、哺乳動物CD71、MMおよびCMに特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)を含み、ここで活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 325または699の重鎖配列；ならびにSEQ ID NO: 327、329、331、333、335、337、650、652、654、656、658、660、670～673、701～712、721～788、809～836および841～908からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、MMは、SEQ ID NO: 16、17および297～314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、かつCMは、SEQ ID NO: 406～423、680～698、713、714および789～808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、ABは、VH CDR1配列 GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

； VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

； VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

； VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

； VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

； およびVL CDR3配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む。いくつかの態様において、ABは、SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、ならびにSEQ ID NO: 6～8および809～908からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

# 【 0 1 7 3 】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、哺乳動物CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)、SEQ ID NO: 16～295および297～314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むMM、ならびにSEQ ID NO: 356～423、680～698、713、714および789～808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCMを含む。いくつかの態様において、MMは、SEQ ID NO: 16、17および297～314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、かつCMは、SEQ ID NO: 406～423、680～698、713、714および807～808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、ABは、VH CDR1配列 GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

； VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

； VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

; VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

; VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

; およびVL CDR3配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む。いくつかの態様において、ABは、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、ならびにSEQ ID NO: 6~8および809~908からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

10

【0174】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、哺乳動物CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)であって、該ABが本開示の単離された抗体と同じヒトCD71および/またはカニクイザルCD71上のエピトープに特異的に結合する、前記抗体またはその抗原結合断片(AB); 活性化可能抗体が非切断状態にある場合にCD71へのABの結合を阻害するマスキング部分(MM); ならびにABにカップリングされた切断可能部分(CM)であって、プロテアーゼの基質として機能するポリペプチドである、前記CMを含む。

【0175】

いくつかの態様において、本開示の抗CD71活性化可能抗体は、哺乳動物CD71に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片(AB)であって、該ABがヒトCD71およびカニクイザルCD71に特異的に結合する、前記抗体またはその抗原結合断片(AB)を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、VH CDR1配列

20

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

; VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

; VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

; VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

; VL CDR2配列

30

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

; およびVL CDR3配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 6~8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む。

【0176】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、哺乳動物CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)であって、該ABがヒトCD71および/またはカニクイザルCD71に対する結合について、本開示の単離された抗体と特異的に交差競合する、前記抗体またはその抗原結合断片(AB); 活性化可能抗体が非切断状態にある場合にCD71へのABの結合を阻害するマスキング部分(MM); ならびにABにカップリングされた切断可能部分(CM)であって、プロテアーゼの基質として機能するポリペプチドである、前記CMを含む。

40

【0177】

いくつかの態様において、本開示の抗CD71活性化可能抗体は、哺乳動物CD71に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片(AB)であって、該ABがヒトCD71およびカニクイザルCD71に特異的に結合する、前記抗体またはその抗原結合断片(AB)を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片は、VH CDR1配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

; VH CDR2配列

50

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

; VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

; VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO:12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

; VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

; およびVL CDR3配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 6~8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む。

【0178】

いくつかの態様において、活性化可能抗体はまた、ABにコンジュゲートされた作用物質も含む。いくつかの態様において、ABにコンジュゲートされた作用物質または活性化可能抗体のABは治療用作用物質である。いくつかの態様において、前記作用物質は抗新生物性作用物質である。いくつかの態様において、前記作用物質は毒素またはその断片である。本明細書で使用する、毒素の断片は、毒素活性を保持している断片である。いくつかの態様において、前記作用物質は、切断可能なリンカーを介してABにコンジュゲートされる。いくつかの態様において、前記作用物質は、少なくとも1つのCM1-CM2基質配列を含むリンカーを介してABにコンジュゲートされる。いくつかの態様において、前記作用物質は、切断不可能なリンカーを介してABにコンジュゲートされる。いくつかの態様において、前記作用物質は、細胞内環境またはリソソーム環境において切断可能なリンカーを介してABにコンジュゲートされる。いくつかの態様において、前記作用物質は微小管障害物質である。いくつかの態様において、前記作用物質は、核酸損傷性作用物質、例えば、DNAアルキル化剤、DNA切断剤、DNA架橋剤、DNAインターカレーター、または他のDNA損傷性作用物質である。いくつかの態様において、前記作用物質は、表5に列挙した群より選択される作用物質である。いくつかの態様において、前記作用物質はドラスタチンである。いくつかの態様において、前記作用物質はアウリスタチンまたはその誘導体である。いくつかの態様において、前記作用物質はアウリスタチンEまたはその誘導体である。いくつかの態様において、前記作用物質はモノメチルアウリスタチンE(MMAE)である。いくつかの態様において、前記作用物質はモノメチルアウリスタチンD(MMAD)である。いくつかの態様において、前記作用物質はメイタンシノイドまたはメイタンシノイド誘導体である。いくつかの態様において、前記作用物質はDM1またはDM4である。いくつかの態様において、前記作用物質はデュオカルマイシンまたはその誘導体である。いくつかの態様において、前記作用物質はカリチアマイシンまたはその誘導体である。いくつかの態様において、前記作用物質はピロロベンゾジアゼピンである。いくつかの態様において、前記作用物質はピロロベンゾジアゼピン二量体である。

【0179】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、ある作用物質の1個または複数個の等価物にコンジュゲートされる。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、作用物質の1個の等価物にコンジュゲートされる。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、作用物質の2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、または10個より多い等価物にコンジュゲートされる。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、コンジュゲートされた複数の作用物質の均一な数の等価物を有する、活性化可能抗体の混合物の一部である。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、コンジュゲートされた複数の作用物質の不均一な数の等価物を有する、活性化可能抗体の混合物の一部である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の混合物は、それぞれの活性化可能抗体にコンジュゲートされている作用物質の数の平均が0~1、1~2、2~3、3~4、4~5、5~6、6~7、7~8、8~9、9~10、および10以上になるような混合物である。いくつかの態様において、活性化可能抗体

の混合物は、それぞれの活性化可能抗体にコンジュゲートされている作用物質の数の平均が1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれより多くなるような混合物である。

【0180】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、活性化可能抗体の元々のアミノ酸配列に対してリジン残基および/もしくはシステイン残基の数が増加または減少するような、従って、いくつかの態様では、それに対応して、活性化可能抗体にコンジュゲートすることができる作用物質の数が増加もしくは減少するような、またはいくつかの態様では、活性化可能抗体に対する作用物質の部位特異的なコンジュゲートが制限されるような1つまたは複数の部位特異的なアミノ酸配列改変を含む。いくつかの態様において、改変される活性化可能抗体は、1つまたは複数の非天然アミノ酸を用いて部位特異的に改変され、従って、いくつかの態様では、作用物質のコンジュゲートが非天然アミノ酸の部位だけに限定される。

10

【0181】

いくつかの態様において、前記作用物質は抗炎症作用物質である。

【0182】

いくつかの態様において、活性化可能抗体はまた、検出可能部分も含む。いくつかの態様において、検出可能部分は診断用作用物質である。

【0183】

いくつかの態様において、活性化可能抗体はまた、シグナルペプチドも含む。いくつかの態様において、シグナルペプチドはスパーサーを介して活性化可能抗体にコンジュゲートされる。いくつかの態様において、スパーサーは、シグナルペプチドの非存在下において活性化可能抗体にコンジュゲートされる。いくつかの態様において、スパーサーは、活性化可能抗体のMMに直接連結される。いくつかの態様において、スパーサーは、N末端からC末端に向かってスパーサー-MM-CM-ABである構造的配置において、活性化可能抗体のMMに直接連結される。活性化可能抗体のMMのN末端に直接連結されたスパーサーの例は、QGQSGQ (SEQ ID NO: 424)である。活性化可能抗体のMMのN末端に直接連結されたスパーサーの他の例としては、QGQSGQG (SEQ ID NO: 645), QGQSG (SEQ ID NO: 646), QGQS (SEQ ID NO: 647), QGQ (SEQ ID NO: 648), QG (SEQ ID NO: 649)

20

30

およびQが挙げられる。活性化可能抗体のMMのN末端に直接連結されたスパーサーの他の例としては、GQSGQG (SEQ ID

NO: 666), QSGQG (SEQ ID NO: 667), SGQG (SEQ ID NO: 668), QQG (SEQ ID NO: 669)

およびGが挙げられる。いくつかの態様において、スパーサーはMMのN末端に連結されない。いくつかの態様において、スパーサーは少なくともアミノ酸配列QGQSGQ (SEQ ID NO: 424)を含む。いくつかの態様において、スパーサーは少なくともアミノ酸配列QGQSGQG (SEQ ID NO: 645)を含む。いくつかの態様において、スパーサーは少なくともアミノ酸配列QGQSG (SEQ ID NO: 646)を含む。いくつかの態様において、スパーサーは少なくともアミノ酸配列QGQS (SEQ ID NO: 647)を含む。いくつかの態様において、スパーサーは少なくともアミノ酸配列QGQ (SEQ ID NO: 648)を含む。いくつかの態様において、スパーサーは少なくともアミノ酸配列QG (SEQ ID NO: 649)を含む。いくつかの態様において、スパーサーは少なくともアミノ酸残基Qを含む。いくつかの態様において、スパーサーは少なくともアミノ酸配列GQSGQG (SEQ ID NO: 666)を含む。いくつかの態様において、スパーサーは少なくともアミノ酸配列QSGQG (SEQ ID NO: 667)を含む。いくつかの態様において、スパーサーは少なくともアミノ酸配列SGQG (SEQ ID NO: 668)を含む。いくつかの態様において、スパーサーは少なくともアミノ酸配列QGQ (SEQ ID NO: 669)を含む。いくつかの態様において、スパーサーは少なくともアミノ酸配列Gを含む。いくつかの態様において

40

50

、スパーサーは存在しない。

【0184】

いくつかの態様において、活性化可能抗体のABは、天然には1つまたは複数のジスルフィド結合を含む。いくつかの態様において、ABは、1つまたは複数のジスルフィド結合を含むように操作することができる。

【0185】

いくつかの態様において、活性化可能抗体またはその抗原結合断片は、作用物質にコンジュゲートされる。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VH CDR1配列 GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

; VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

; VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

; VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

; VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

; およびVL CDR3配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む単離された抗体と交差競合する、抗体またはその抗原結合断片を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域とSEQ ID NO: 6~8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む単離された抗体と交差競合する、抗体またはその抗原結合断片を含む。いくつかの態様において、作用物質は毒素またはその断片である。いくつかの態様において、作用物質は微小管阻害物質である。いくつかの態様において、作用物質は核酸損傷性作用物質である。いくつかの態様において、作用物質は、ドラスタチンまたはその誘導体、アウリスタチンまたはその誘導体、メイタンシノイドまたはその誘導体、デュオカルマイシンまたはその誘導体、カリケアマイシンまたはその誘導体、およびピロロベンゾジアゼピンまたはその誘導体からなる群より選択される。いくつかの態様において、作用物質はアウリスタチンEまたはその誘導体である。いくつかの態様において、作用物質はモノメチルアウリスタチンE (MMAE)である。いくつかの態様において、作用物質はモノメチルアウリスタチンD (MMAD)である。いくつかの態様において、作用物質は、DM1およびDM4からなる群より選択されるメイタンシノイドである。いくつかの態様において、作用物質はメイタンシノイドDM4である。いくつかの態様において、作用物質はデュオカルマイシンである。いくつかの態様において、作用物質はリンカーを介してABにコンジュゲートされる。いくつかの態様において、作用物質をABにコンジュゲートするリンカーは、SPDB部分、vc部分またはPEG2-vc部分を含む。いくつかの態様において、リンカーおよびA Bにコンジュゲートされる毒素は、SPDB-DM4部分、vc-MMAD部分、vc-MMAE部分、vc-デュオカルマイシン、またはPEG2-vc-MMAD部分を含む。いくつかの態様において、リンカーは切断可能リンカーである。いくつかの態様において、リンカーは非切断可能リンカーである。いくつかの態様において、作用物質は検出可能部分である。いくつかの態様において、検出可能部分は診断用作用物質である。

【0186】

いくつかの態様において、コンジュゲートされた活性化可能抗体は、哺乳動物CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)であって、該ABがヒトCD71およびカニクイザルCD71に特異的に結合する、前記抗体またはその抗原結合断片(AB); 活性化可能抗体が非切断状態にある場合にCD71へのABの結合を阻害するマスキング部分(MM); ABにカップリングされた切断可能部分(CM)であって、プロテアーゼの基質として機能するポリペプチドである、前記CM; ならびにABにコンジュゲートされた作用物質を含む、活性化状態ではCD71に結合するコンジュゲートされた活性化可能抗体を含む。いくつかの態様において、

作用物質は、ドラスタチンまたはその誘導体、アウリスタチンまたはその誘導体、メイタンシノイドまたはその誘導体、デュオカルマイシンまたはその誘導体、カリケアマイシンまたはその誘導体、およびピロロベンゾジアゼピンまたはその誘導体からなる群より選択される。いくつかの態様において、作用物質は、アウリスタチンE、モノメチルアウリスタチンF (MMAF)、モノメチルアウリスタチンE (MMAE)、モノメチルアウリスタチンD (MMA D)、メイタンシノイドDM4、メイタンシノイドDM1、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、およびピロロベンゾジアゼピン二量体からなる群より選択される。いくつかの態様において、作用物質はリンカーを介してABにコンジュゲートされる。いくつかの態様において、作用物質をABにコンジュゲートするリンカーは、SPDB部分、vc部分またはPEG2-vc部分を含む。いくつかの態様において、リンカーおよびABにコンジュゲートされる毒素は、SPDB-DM4部分、vc-MMAD部分、vc-MMAE部分、vc-デュオカルマイシン、またはPEG2-vc-MMAD部分を含む。いくつかの態様において、コンジュゲートされた活性化可能抗体のA Bまたはその抗原結合断片は、VH CDR1配列  
GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

10

; VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

; VH CDR3配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

; VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

20

; VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

; およびVL CDR3配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含む。いくつかの態様において、コンジュゲートされた活性化可能抗体のABまたはその抗原結合断片は、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、ならびにSEQ ID NO: 6~8および809~908からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、MMは、SEQ ID NO: 16~295および297~314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、MMは、SEQ ID NO: 16、17および297~314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、CMは、SEQ ID NO: 356~423、680~698、713、714および789~808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、CMは、SEQ ID NO: 406~423、680~698、713、714および807~808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗体はアミノ酸配列の組み合わせを含み、ここで該アミノ酸配列の組み合わせは表Dの単一系列から選択され、ここで所与の組み合わせについて、(a) ABの重鎖が表Dに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応するVH CDR配列のアミノ酸配列を含み、(b) ABの軽鎖が表Dに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応するVL CDR配列のアミノ酸配列を含み、(c) MMが表Dに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応するマスク配列(MM)のアミノ酸配列を含み、かつ(d) CMが表Dに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応する基質配列(CM)のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗体はアミノ酸配列の組み合わせを含み、ここでアミノ酸配列の所与の組み合わせについて、(a) ABの重鎖が表Eの対応する縦列に列挙されたVH配列またはVH CDR配列からなる群より選択されるVH配列またはVH CDR配列のアミノ酸配列を含み、(b) ABの軽鎖が表Eの対応する縦列に列挙されたVL配列またはVL CDR配列からなる群より選択されるVL配列またはVL CDR配列のアミノ酸配列を含み、(c) MMが表Eの対応する縦列に列挙されたMM配列からなる群より選択されるマスク配列(MM)のアミノ酸配列を含み、かつ(d) CMが表Eの対応する縦列に列挙されたCM配列からなる群より選択される基質配列(CM)のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 325または699のアミノ酸配列を含む重鎖; ならびにSEQ ID NO: 327、329、331、333、335、337、650、652、654、656、658、660、670~673、701~712、721~7

30

40

50

88、809～836および841～908からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0187】

いくつかの態様において、コンジュゲートされた活性化可能抗体は、以下のコンジュゲートされた活性化可能抗体を含む：

哺乳動物CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)であって、該ABがヒトCD71およびカニクイザルCD71に特異的に結合する、前記抗体またはその抗原結合断片(AB)；活性化可能抗体が非切断状態にある場合にCD71へのABの結合を阻害するマスキング部分(MM)；ABにカップリングされた切断可能部分(CM)であって、プロテアーゼの基質として機能するポリペプチドである、前記CM；ならびにABにコンジュゲートされた作用物質を含む、活性化状態ではCD71に結合するコンジュゲートされた活性化可能抗体であって、ABが、

10

(i) VH CDR1配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

； VH CDR2配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

； VH CDR3配列

ENWDPGF A F (SEQ ID NO: 11)

； VL CDR1配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

； VL CDR2配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

20

； およびVL CDR3配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

、または(ii) SEQ ID NO: 3～5からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、およびSEQ ID NO: 6～8からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、または(iii) SEQ ID NO: 325もしくは699のアミノ酸配列を含む重鎖、ならびにSEQ ID NO: 327、329、331、333、335、337、650、652、654、656、658、660、670～673、701～712、721～788、809～836および841～908からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含み、かつ作用物質が、アウリスタチンE、モノメチルアウリスタチンF (MMAF)、モノメチルアウリスタチンE (MMAE)、モノメチルアウリスタチンD (MMAD)、メイタンシノイドDM4、メイタンシノイドDM1、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体およびデュオカルマイシンからなる群より選択される、前記活性化可能抗体。いくつかの態様において、MMは、SEQ ID NO: 16～295および297～314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、MMは、SEQ ID NO: 16、17および297～314からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、CMは、SEQ ID NO: 356～423、680～698、713、714および789～808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、CMは、SEQ ID NO: 406～423、680～698、713、714および807～808からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、作用物質はリンカーを介してABにコンジュゲートされ、かつ作用物質をABにコンジュゲートするリンカーは、SPDB部分、vc部分またはPEG2-vc部分を含む。いくつかの態様において、リンカーおよびABにコンジュゲートされる毒素は、SPDB-DM4部分、vc-MMAD部分、vc-MMAE部分、vc-デュオカルマイシン、またはPEG2-vc-MMAD部分を含む。

30

40

【0188】

いくつかの態様において、コンジュゲートされた活性化可能抗体は、活性化状態ではCD71に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)；およびリンカーを介してABにコンジュゲートされた毒素を含むコンジュゲートされた活性化可能抗体またはコンジュゲートされた抗体を含み、ここでコンジュゲートされた活性化可能抗体またはコンジュゲートされた抗体は、表Fの単一行から選択されるアミノ酸配列、リンカーおよび毒素を含み、ここで所与の組み合わせについて：(a) ABが、表Fに列挙された単一行内の所与の組み合わせに対応する重鎖配列または重鎖可変ドメイン配列のアミノ酸配列を含む重鎖を含み、(b) ABが、表Fに列挙された単一行内の所与の組み合わせに対応する軽鎖配列または軽鎖可変ドメ

50

イン配列のアミノ酸配列を含む軽鎖を含み、かつ(c) リンカーおよび毒素が、表Fに列挙された単一系列内の所与の組み合わせに対応するリンカーおよび毒素を含む。

【0189】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 1および3~5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

【0190】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 2および6~8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 6~8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

【0191】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 1および3~5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列、ならびにSEQ ID NO: 2および6~8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

【0192】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列、およびSEQ ID NO: 6~8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

【0193】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 1および3~5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

【0194】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 2および6~8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 6~8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

【0195】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 1および3~5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である核酸配列、ならびにSEQ ID NO: 2および6~8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

【0196】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、SEQ ID NO: 3~5からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、

10

20

30

40

50

94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である核酸配列、ならびにSEQ ID NO: 6~8からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

【0197】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、表12に示される重鎖可変領域配列からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、表12に示される軽鎖可変領域配列からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、表12に示される重鎖可変領域配列からなる群より選択される重鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列および表12に示される軽鎖可変領域配列からなる群より選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

10

【0198】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、表12に示される重鎖可変領域配列からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、表12に示される軽鎖可変領域配列からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、表12に示される重鎖可変領域配列からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列および表12に示される軽鎖可変領域配列からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされる。

20

【0199】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、可変重鎖相補性決定領域1 (VH CDR1、本明細書においてCDRH1ともいわれる) 配列、可変重鎖相補性決定領域2 (VH CDR2、本明細書においてCDRH2ともいわれる) 配列、可変重鎖相補性決定領域3 (VH CDR3、本明細書においてCDRH3ともいわれる) 配列、可変軽鎖相補性決定領域1 (VL CDR1、本明細書においてCDRL1ともいわれる) 配列、可変軽鎖相補性決定領域2 (VL CDR2、本明細書においてCDRL2ともいわれる) 配列および可変軽鎖相補性決定領域3 (VL CDR3、本明細書においてCDRL3ともいわれる) 配列の組み合わせをコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされ、ここで少なくとも1つのCDR配列が、表13に示されるVH CDR1配列；表13に示されるVH CDR2配列；表13に示されるVH CDR3配列；表13に示されるVL CDR1配列；表13に示されるVL CDR2配列；および表13に示されるVL CDR3配列からなる群より選択される。

30

【0200】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせをコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされ、ここで少なくとも1つのCDR配列が、表13に示されるVH CDR1配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR1配列；表13に示されるVH CDR2配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR2配列；表13に示されるVH CDR3配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVH CDR3配列；表13に示されるVL CDR1配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR1配列；表13に示されるVL CDR2配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR

40

50

2配列；および表13に示されるVL CDR3配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含むVL CDR3配列からなる群より選択される。

【0201】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせをコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされ、ここで該組み合わせは、表13の単一系列内に示される6つのCDR配列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2およびVL CDR3)の組み合わせである。

【0202】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含む軽鎖可変領域をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされ、ここで該組み合わせは、表13の単一系列内に示される3つの軽鎖CDR配列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3)の組み合わせである。

【0203】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VH CDR1配列、VH CDR2配列およびVH CDR3配列の組み合わせを含む重鎖可変領域をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされ、ここで該組み合わせは、表13の単一系列内に示される3つの重鎖CDR配列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)の組み合わせである。

【0204】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VH CDR1配列、VH CDR2配列、VH CDR3配列、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせをコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされ、ここで該組み合わせにおける各CDR配列は、表13の単一系列内に示される6つのCDR配列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2およびVL CDR3)の組み合わせにおける対応するCDR配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含む。

【0205】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VH CDR1配列、VH CDR2配列およびVH CDR3配列の組み合わせを含む重鎖可変領域をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされ、ここで該組み合わせにおける各CDR配列は、表13の単一系列内に示される3つの重鎖CDR配列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)の組み合わせにおける対応するCDR配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含む。

【0206】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、VL CDR1配列、VL CDR2配列およびVL CDR3配列の組み合わせを含む軽鎖可変領域をコードする核酸配列を含む核酸配列によってコードされ、ここで該組み合わせにおける各CDR配列は、表13の単一系列内に示される3つの軽鎖CDR配列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3)の組み合わせにおける対応するCDR配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一である配列を含む。

【0207】

本開示はまた、本開示の核酸分子または本開示のベクターを含む細胞を、活性化可能抗体の発現をもたらす条件下で培養することによって、本開示の活性化可能抗体を産生するための方法を提供する。

【0208】

本開示はまた、活性化状態ではCD71に結合する活性化可能抗体を製造する方法であって、(a) 本開示の活性化可能抗体を含む活性化可能抗体の発現をもたらす条件下で、活性化可能抗体をコードする核酸構築体を含む細胞を培養する段階；および(b) 活性化可能抗体を回収する段階を含む該方法を提供する。

【0209】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、表Dの所与の列内の配列の組み合わせか、または表Eのマスク配列(MM)と、基質配列(CM)と、軽鎖可変ドメイン配列もしくは軽鎖可変ドメインCDR配列と、重鎖可変ドメイン配列もしくは重鎖可変ドメインCDR配列の任意の組み合わせを含む、1つまたは複数のポリペプチドを含む。

【 0 2 1 0 】

( 表 D ) 抗CD71活性化可能抗体の組み合わせ

組み合わせ 番号	マスク配列 (MM)	基質配列 (CM)	VL CDR SEQ ID NO	VH CDR SEQ ID NO
1	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	LSGRSDNH (SEQ ID NO: 359)	12, 14, 15	9, 10, 11
2	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	ISSGLLSS (SEQ ID NO: 382)	12, 14, 15	9, 10, 11
3	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	LSGRSGNH (SEQ ID NO: 789)	12, 14, 15	9, 10, 11
4	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	AVGLLAPP (SEQ ID NO: 390)	12, 14, 15	9, 10, 11
5	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	VHMPLGFLGP (SEQ ID NO: 370)	12, 14, 15	9, 10, 11
6	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 397)	12, 14, 15	9, 10, 11
7	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	QNQALRMA (SEQ ID NO: 377)	12, 14, 15	9, 10, 11
8	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 406)	12, 14, 15	9, 10, 11
9	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 423)	12, 14, 15	9, 10, 11
10	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 680)	12, 14, 15	9, 10, 11
11	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	AVGLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 681)	12, 14, 15	9, 10, 11
12	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	AVGLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO: 682)	12, 14, 15	9, 10, 11
13	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 683)	12, 14, 15	9, 10, 11
14	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 684)	12, 14, 15	9, 10, 11
15	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 685)	12, 14, 15	9, 10, 11
16	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 686)	12, 14, 15	9, 10, 11
17	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 687)	12, 14, 15	9, 10, 11

10

20

30

18	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 688)	12, 14, 15	9, 10, 11
19	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 689)	12, 14, 15	9, 10, 11
20	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 690)	12, 14, 15	9, 10, 11
21	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 713)	12, 14, 15	9, 10, 11
22	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 412)	12, 14, 15	9, 10, 11
23	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	AVGLLAPPGGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 691)	12, 14, 15	9, 10, 11
24	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	AVGLLAPPGGLSGRSDIH (SEQ ID NO: 692)	12, 14, 15	9, 10, 11
25	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	AVGLLAPPGGLSGRSDQH (SEQ ID NO: 693)	12, 14, 15	9, 10, 11
26	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	AVGLLAPPGGLSGRSDTH (SEQ ID NO: 694)	12, 14, 15	9, 10, 11
27	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	AVGLLAPPGGLSGRSDYH (SEQ ID NO: 695)	12, 14, 15	9, 10, 11
28	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	AVGLLAPPGGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 696)	12, 14, 15	9, 10, 11
29	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	AVGLLAPPGGLSGRSANP (SEQ ID NO: 697)	12, 14, 15	9, 10, 11
30	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	AVGLLAPPGGLSGRSANI (SEQ ID NO: 698)	12, 14, 15	9, 10, 11
31	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	AVGLLAPPGGLSGRSDNI (SEQ ID NO: 714)	12, 14, 15	9, 10, 11
32	QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	ISSGLLSSGGSGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 407)	12, 14, 15	9, 10, 11
33	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	LSGRSDNH (SEQ ID NO: 359)	12, 14, 15	9, 10, 11
34	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	ISSGLLSS (SEQ ID NO: 382)	12, 14, 15	9, 10, 11
35	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	LSGRSGNH (SEQ ID NO: 789)	12, 14, 15	9, 10, 11
36	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	AVGLLAPP (SEQ ID NO: 390)	12, 14, 15	9, 10, 11
37	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	VHMPGLFLGP (SEQ ID NO: 370)	12, 14, 15	9, 10, 11
38	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 397)	12, 14, 15	9, 10, 11
39	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	QNQALRMA (SEQ ID NO: 377)	12, 14, 15	9, 10, 11
40	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 406)	12, 14, 15	9, 10, 11
41	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 423)	12, 14, 15	9, 10, 11
42	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 680)	12, 14, 15	9, 10, 11
43	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	AVGLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 681)	12, 14, 15	9, 10, 11
44	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	AVGLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO: 682)	12, 14, 15	9, 10, 11

10

20

30

40

45	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 683)	12, 14, 15	9, 10, 11
46	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 684)	12, 14, 15	9, 10, 11
47	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 685)	12, 14, 15	9, 10, 11
48	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 686)	12, 14, 15	9, 10, 11
49	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 687)	12, 14, 15	9, 10, 11
50	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 688)	12, 14, 15	9, 10, 11
51	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 689)	12, 14, 15	9, 10, 11
52	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 690)	12, 14, 15	9, 10, 11
53	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 713)	12, 14, 15	9, 10, 11
54	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 412)	12, 14, 15	9, 10, 11
55	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	AVGLLAPPGGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 691)	12, 14, 15	9, 10, 11
56	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	AVGLLAPPGGLSGRSDIH (SEQ ID NO: 692)	12, 14, 15	9, 10, 11
57	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	AVGLLAPPGGLSGRSDQH (SEQ ID NO: 693)	12, 14, 15	9, 10, 11
58	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	AVGLLAPPGGLSGRSDTH (SEQ ID NO: 694)	12, 14, 15	9, 10, 11
59	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	AVGLLAPPGGLSGRSDYH (SEQ ID NO: 695)	12, 14, 15	9, 10, 11
60	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	AVGLLAPPGGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 696)	12, 14, 15	9, 10, 11
61	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	AVGLLAPPGGLSGRSANP (SEQ ID NO: 697)	12, 14, 15	9, 10, 11
62	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	AVGLLAPPGGLSGRSANI (SEQ ID NO: 698)	12, 14, 15	9, 10, 11
63	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	AVGLLAPPGGLSGRSDNI (SEQ ID NO: 714)	12, 14, 15	9, 10, 11
64	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	ISSGLLSGGSGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 407)	12, 14, 15	9, 10, 11
65	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	LSGRSDNH (SEQ ID NO: 359)	12, 14, 15	9, 10, 11
66	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	ISSGLLSS (SEQ ID NO: 382)	12, 14, 15	9, 10, 11
67	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	LSGRSGNH (SEQ ID NO: 789)	12, 14, 15	9, 10, 11
68	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	AVGLLAPP (SEQ ID NO: 390)	12, 14, 15	9, 10, 11
69	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	VHMPLGFLGP (SEQ ID NO: 370)	12, 14, 15	9, 10, 11
70	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 397)	12, 14, 15	9, 10, 11
71	NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	QNQALRMA (SEQ ID NO: 377)	12, 14, 15	9, 10, 11

10

20

30

40

72	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 406)	12, 14, 15	9, 10, 11
73	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 423)	12, 14, 15	9, 10, 11
74	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 680)	12, 14, 15	9, 10, 11
75	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	AVGLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 681)	12, 14, 15	9, 10, 11
76	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	AVGLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO: 682)	12, 14, 15	9, 10, 11
77	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 683)	12, 14, 15	9, 10, 11
78	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 684)	12, 14, 15	9, 10, 11
79	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 685)	12, 14, 15	9, 10, 11
80	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 686)	12, 14, 15	9, 10, 11
81	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 687)	12, 14, 15	9, 10, 11
82	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 688)	12, 14, 15	9, 10, 11
83	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 689)	12, 14, 15	9, 10, 11
84	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 690)	12, 14, 15	9, 10, 11
85	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 713)	12, 14, 15	9, 10, 11
86	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 412)	12, 14, 15	9, 10, 11
87	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	AVGLLAPPGGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 691)	12, 14, 15	9, 10, 11
88	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	AVGLLAPPGGLSGRSDIH (SEQ ID NO: 692)	12, 14, 15	9, 10, 11
89	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	AVGLLAPPGGLSGRSDQH (SEQ ID NO: 693)	12, 14, 15	9, 10, 11
90	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	AVGLLAPPGGLSGRSDTH (SEQ ID NO: 694)	12, 14, 15	9, 10, 11
91	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	AVGLLAPPGGLSGRSDYH (SEQ ID NO: 695)	12, 14, 15	9, 10, 11
92	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	AVGLLAPPGGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 696)	12, 14, 15	9, 10, 11
93	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	AVGLLAPPGGLSGRSANP (SEQ ID NO: 697)	12, 14, 15	9, 10, 11
94	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	AVGLLAPPGGLSGRSANI (SEQ ID NO: 698)	12, 14, 15	9, 10, 11
95	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	AVGLLAPPGGLSGRSDNI (SEQ ID NO: 714)	12, 14, 15	9, 10, 11
96	NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	ISSGLLSSGGSGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 407)	12, 14, 15	9, 10, 11
97	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	LSGRSDNH (SEQ ID NO: 359)	12, 14, 15	9, 10, 11
98	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	ISSGLLSS (SEQ ID NO: 382)	12, 14, 15	9, 10, 11

10

20

30

40

99	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	LSGRSGNH (SEQ ID NO: 789)	12, 14, 15	9, 10, 11
100	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	AVGLLAPP (SEQ ID NO: 390)	12, 14, 15	9, 10, 11
101	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	VHMLPLGFLGP (SEQ ID NO: 370)	12, 14, 15	9, 10, 11
102	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 397)	12, 14, 15	9, 10, 11
103	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	QNQALRMA (SEQ ID NO: 377)	12, 14, 15	9, 10, 11
104	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 406)	12, 14, 15	9, 10, 11
105	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 423)	12, 14, 15	9, 10, 11
106	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 680)	12, 14, 15	9, 10, 11
107	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	AVGLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 681)	12, 14, 15	9, 10, 11
108	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	AVGLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO: 682)	12, 14, 15	9, 10, 11
109	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 683)	12, 14, 15	9, 10, 11
110	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 684)	12, 14, 15	9, 10, 11
111	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 685)	12, 14, 15	9, 10, 11
112	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 686)	12, 14, 15	9, 10, 11
113	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 687)	12, 14, 15	9, 10, 11
114	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 688)	12, 14, 15	9, 10, 11
115	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 689)	12, 14, 15	9, 10, 11
116	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 690)	12, 14, 15	9, 10, 11
117	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 713)	12, 14, 15	9, 10, 11
118	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 412)	12, 14, 15	9, 10, 11
119	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	AVGLLAPPGGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 691)	12, 14, 15	9, 10, 11
120	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	AVGLLAPPGGLSGRSDIH (SEQ ID NO: 692)	12, 14, 15	9, 10, 11
121	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	AVGLLAPPGGLSGRSDQH (SEQ ID NO: 693)	12, 14, 15	9, 10, 11
122	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	AVGLLAPPGGLSGRSDTH (SEQ ID NO: 694)	12, 14, 15	9, 10, 11
123	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	AVGLLAPPGGLSGRSDYH (SEQ ID NO: 695)	12, 14, 15	9, 10, 11
124	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	AVGLLAPPGGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 696)	12, 14, 15	9, 10, 11
125	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	AVGLLAPPGGLSGRSANP (SEQ ID NO: 697)	12, 14, 15	9, 10, 11

10

20

30

40

126	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	AVGLLAPPGGLSGRSANI (SEQ ID NO: 698)	12, 14, 15	9, 10, 11
127	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	AVGLLAPPGGLSGRSDNI (SEQ ID NO: 714)	12, 14, 15	9, 10, 11
128	CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	ISSGLLSSGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 407)	12, 14, 15	9, 10, 11

## 【 0 2 1 1 】

(表 E) 抗CD71活性化可能抗体の構成要素

マスク配列 (MM)	基質配列 (CM)	VLまたは VL CDR	VHまたは VH CDR
QFCPWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 16)	LSGRSDNH (SEQ ID NO: 359)	SEQ ID NOS: 12, 14, 15	SEQ ID NOS: 9, 10, 11
QFCAWSYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 297)	TGRGPSWV (SEQ ID NO: 356)	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 3
QFCPASYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 298)	PLTGRSGG (SEQ ID NO: 362)	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 4
QFCPWAYYLIGDCDI (SEQ ID NO: 299)	TARGPSFK (SEQ ID NO: 358)	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 5
QFCPWSAYLIGDCDI (SEQ ID NO: 300)	NTLSGRSENHSG (SEQ ID NO: 395)	SEQ ID NOS: 13, 14, 15	
QFCPWSYALIGDCDI (SEQ ID NO: 301)	NTLSGRSGNHGS (SEQ ID NO: 396)		
QFCPWSYYAIGDCDI (SEQ ID NO: 302)	TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 397)		
QFCPWSYYLAGDCDI (SEQ ID NO: 303)	TSGRSANP (SEQ ID NO: 398)		
QFCPWSYYLIGACDI (SEQ ID NO: 304)	VHMP LGFLGP (SEQ ID NO: 370)		
NLCTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 17)	AVGLLAPP (SEQ ID NO: 390)		
NLCAEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 305)	AQNLLGMV (SEQ ID NO: 378)		
NLCTAHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 306)	QNQALRMA (SEQ ID NO: 377)		
NLCTEASFALDCRSY (SEQ ID NO: 307)	LAAPLGLL (SEQ ID NO: 389)		
NLCTEHAFALDCRSY (SEQ ID NO: 308)	STFPFGMF (SEQ ID NO: 379)		
NLCTEHSAAALDCRSY (SEQ ID NO: 309)	ISSGLLSS (SEQ ID NO: 382)		
NLCTEHSFAALDCRSY (SEQ ID NO: 310)	PAGLWLDP (SEQ ID NO: 392)		
NLCTEHSFALACRSY (SEQ ID NO: 311)	VAGRSMRP (SEQ ID NO: 399)		
NLCTEHSFALDCASY (SEQ ID NO: 312)	VVPEGRRS (SEQ ID NO: 400)		
CTEHSFALDCRSY (SEQ ID NO: 313)	ILPRSPAF (SEQ ID NO: 401)		

10

20

30

40

CTEHSFALDC (SEQ ID NO: 314)	MVLGRSLL (SEQ ID NO: 402)		
	QGRAITFI (SEQ ID NO: 403)		
	SPRSIMLA (SEQ ID NO: 404)		
	SMLRSMPL (SEQ ID NO: 405)		
	ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 406)		
	AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 412)		
	ISSGLLSSGGSGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 407)		
	LSGRSGNH (SEQ ID NO: 789)		
	SGRSANPRG (SEQ ID NO: 790)		
	LSGRSDDH (SEQ ID NO: 791)		
	LSGRSDIH (SEQ ID NO: 792)		
	LSGRSDQH (SEQ ID NO: 793)		
	LSGRSDTH (SEQ ID NO: 794)		
	LSGRSDYH (SEQ ID NO: 795)		
	LSGRSDNP (SEQ ID NO: 796)		
	LSGRSANP (SEQ ID NO: 797)		
	LSGRSANI (SEQ ID NO: 798)		
	LSGRSDNI (SEQ ID NO: 799)		
	MIAPVAYR (SEQ ID NO: 800)		
	RPSPMWAY (SEQ ID NO: 801)		
	WATPRPMR (SEQ ID NO: 802)		
	FRLLDWQW (SEQ ID NO: 803)		
	ISSGL (SEQ ID NO: 804)		
	ISSGLLS (SEQ ID NO: 805)		
	ISSGLL (SEQ ID NO: 806)		
	ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 680)		
	AVGLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 681)		

10

20

30

40

	AVGLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO: 682)		
	ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 683)		
	ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 684)		
	ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 685)		
	ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 686)		
	ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 687)		
	ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 688)		
	ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 689)		
	ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 690)		
	AVGLLAPPGGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 691)		
	AVGLLAPPGGLSGRSDIH (SEQ ID NO: 692)		
	AVGLLAPPGGLSGRSDQH (SEQ ID NO: 693)		
	AVGLLAPPGGLSGRSDTH (SEQ ID NO: 694)		
	AVGLLAPPGGLSGRSDYH (SEQ ID NO: 695)		
	AVGLLAPPGGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 696)		
	AVGLLAPPGGLSGRSANP (SEQ ID NO: 697)		
	AVGLLAPPGGLSGRSANI (SEQ ID NO: 698)		
	ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 713)		
	AVGLLAPPGGLSGRSDNI (SEQ ID NO: 714)		
	GLSGRSDNHGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 807)		
	GLSGRSDNHGGVHMPGLGFLGP (SEQ ID NO: 808)		

10

20

30

40

50

## 【0212】

いくつかの態様において、本開示の活性化可能抗体は、表Dまたは表Eから選択される配列の組み合わせを含む1つまたは複数のポリペプチドを含み、ここで該ポリペプチドは、表Dまたは表Eの「マスク配列(MM)」と題された縦列から選択されるマスキング配列と、表Dまたは表Eの「基質配列(CM)」と題された縦列からの基質配列と、表Dまたは表Eの「VLもしくはVL CDR」または「VL CDR SEQ ID NO」と題された縦列からの軽鎖可変ドメインまたは軽鎖CDRと、表Dまたは表Eの「VHもしくはVH CDR」または「VH CDR SEQ ID No」と題された縦列からの重鎖可変ドメインまたは重鎖CDRの組み合わせを含む。例えば、本開示の活性化可能抗体は、組み合わせ番号54のアミノ酸配列を含み得、これにはSEQ ID NO: 17のマスキング配列、SEQ ID NO: 412の基質配列、SEQ ID NO: 12、14および15のVL CDR配列を含む軽鎖可変ドメイン、ならびに9、10および11のVH CDR配列を含む重鎖可変ドメインが含まれる。それゆえ、少なくとも表Dの任意の所与の列内の配列の組み合わせを含む活性化可能抗体が本明細書において記述される。同様に、表Eのマスキング配列(MM)と、基質配列(CM)と、軽鎖可変ドメイン配列または軽鎖可変ドメインCDR配列と、重鎖可変ドメイン配列または重鎖可変ドメインCDR配列の任意の組み合わせが本明細書において記述され

る。少なくとも、対応する縦列の表Dまたは表Eから選択されるマスキング配列と、基質配列と、可変重鎖または可変重鎖CDRと、可変軽鎖または可変軽鎖CDRの任意の組み合わせを含む活性化可能抗体もまた、本明細書において記述される。いくつかの例示的な態様において、少なくとも、表Dの任意の所与の列内の配列の組み合わせか、または表Eのマスキング配列(MM)と、基質配列(CM)と、軽鎖可変ドメイン配列もしくは軽鎖可変ドメインCDR配列と、重鎖可変ドメイン配列もしくは重鎖可変ドメインCDR配列の任意の組み合わせを含む、活性化可能抗体を、ドラスタチンもしくはその誘導体、アウリスタチンもしくはその誘導体、メイタンシノイドもしくはその誘導体、デュオカルマイシンもしくはその誘導体、カリケアマイシンもしくはその誘導体、またはピロロベンゾジアゼピンもしくはその誘導体を含む、1つまたは複数の毒素と組み合わせることができる。いくつかの例示的な態様において、少なくとも、表Dの任意の所与の列内の配列の組み合わせか、または表Eのマスキング配列(MM)と、基質配列(CM)と、軽鎖可変ドメイン配列もしくは軽鎖可変ドメインCDR配列と、重鎖可変ドメイン配列もしくは重鎖可変ドメインCDR配列の任意の組み合わせを含む、活性化可能抗体を、アウリスタチンE、モノメチルアウリスタチンF (MMAF)、モノメチルアウリスタチンE (MMAE)、モノメチルアウリスタチンD (MMAD)、メイタンシノイドDM4、メイタンシノイドDM1、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体および/またはデュオカルマイシンを含む、1つまたは複数の毒素と組み合わせることができる。

10

20

30

40

#### 【0213】

上記の表Dまたは表Eにおける組み合わせのいずれも、ヒト免疫グロブリン定常領域と組み合わせ、IgG1、IgG2、IgG4を含む完全ヒトIgGを生じさせることができ、または変異定常領域と組み合わせ、IgG1 N297A、IgG1 N297QまたはIgG4 S228Pのような改変された機能を有するヒトIgGを生じさせることができる。表Dまたは表Eに記述された組み合わせは、任意の所与の列内に示された特定の組み合わせによって限定されず、したがって表Dの縦列3 (または表Eの縦列2)からの任意の基質配列と組み合わせられ、表Dの縦列4 (または表Eの縦列3)からの任意のVL配列またはVL CDR配列セットと組み合わせられ、表Dの縦列5 (または表Eの縦列4)からの任意のVH配列またはVH CDR配列セットと組み合わせられた表Dの縦列2 (または表Eの縦列1)からの任意のマスキング配列を含みうる。表Dの縦列2または表Eの縦列1に開示されたマスキング配列に加え、本明細書において開示される任意のマスキング配列を組み合わせる用いることができる。表Dの縦列3または表Eの縦列2に開示された基質配列に加え、本明細書において開示される任意のCMを組み合わせる用いることができる。表Dの縦列4または表Eの縦列3に開示された軽鎖可変領域配列または軽鎖CDR配列に加え、本明細書において開示される任意の軽鎖可変領域配列または軽鎖CDR配列を組み合わせる用いることができる。表Dの縦列5または表Eの縦列4に開示された重鎖可変領域配列または重鎖CDR配列に加え、本明細書において開示される任意の重鎖可変領域配列または重鎖CDR配列を組み合わせる用いることができる。

#### 【0214】

いくつかの態様において、抗体薬物コンジュゲート(ADC)および活性化可能抗体薬物コンジュゲート(AADC)は、表Fの所与の列内の軽鎖配列もしくは軽鎖可変ドメイン配列と、重鎖配列もしくは重鎖可変ドメイン配列と、リンカーと、毒素の組み合わせか、または表Fの軽鎖配列もしくは軽鎖可変ドメイン配列と、重鎖配列もしくは重鎖可変ドメイン配列と、リンカーと、毒素の任意の組み合わせを含む、1つまたは複数のポリペプチドを含むことができる。

#### 【0215】

(表F) 抗CD71 ADCおよび抗CD71活性化可能ADCの組み合わせ

組み合わせ 番号	重鎖(HC)または HC可変領域の SEQ ID NO.	軽鎖(LC)または LC可変領域の SEQ ID NO.	リンカー	毒素
1	5	7	vc	MMAD
2	5	7	PEG2-vc	MMAD
3	5	7	vc	MMAE
4	5	7	vc	デュオカルマイシン
5	5	7	spdb	DM4

6	325	323	vc	MMAD
7	325	323	PEG2-vc	MMAD
8	325	323	vc	MMAE
9	325	323	vc	デュオカルマイシン
10	325	323	spdb	DM4
11	325	327	vc	MMAD
12	325	327	PEG2-vc	MMAD
13	325	327	vc	MMAE
14	325	327	vc	デュオカルマイシン
15	325	327	spdb	DM4
16	5	810	vc	MMAD
17	5	810	PEG2-vc	MMAD
18	5	810	vc	MMAE
19	5	810	vc	デュオカルマイシン
20	5	810	spdb	DM4
21	325	329	vc	MMAD
22	325	329	PEG2-vc	MMAD
23	325	329	vc	MMAE
24	325	329	vc	デュオカルマイシン
25	325	329	spdb	DM4
26	5	812	vc	MMAD
27	5	812	PEG2-vc	MMAD
28	5	812	vc	MMAE
29	5	812	vc	デュオカルマイシン
30	5	812	spdb	DM4
31	325	331	vc	MMAD
32	325	331	PEG2-vc	MMAD
33	325	331	vc	MMAE
34	325	331	vc	デュオカルマイシン
35	325	331	spdb	DM4
36	5	814	vc	MMAD
37	5	814	PEG2-vc	MMAD
38	5	814	vc	MMAE
39	5	814	vc	デュオカルマイシン
40	5	814	spdb	DM4
41	325	333	vc	MMAD
42	325	333	PEG2-vc	MMAD
43	325	333	vc	MMAE
44	325	333	vc	デュオカルマイシン
45	325	333	spdb	DM4
46	5	816	vc	MMAD
47	5	816	PEG2-vc	MMAD
48	5	816	vc	MMAE
49	5	816	vc	デュオカルマイシン
50	5	816	spdb	DM4
51	325	335	vc	MMAD
52	325	335	PEG2-vc	MMAD
53	325	335	vc	MMAE
54	325	335	vc	デュオカルマイシン

10

20

30

40

55	325	335	spdb	DM4
56	5	818	vc	MMAD
57	5	818	PEG2-vc	MMAD
58	5	818	vc	MMAE
59	5	818	vc	デュオカルマイシン
60	5	818	spdb	DM4
61	325	337	vc	MMAD
62	325	337	PEG2-vc	MMAD
63	325	337	vc	MMAE
64	325	337	vc	デュオカルマイシン
65	325	337	spdb	DM4
66	5	820	vc	MMAD
67	5	820	PEG2-vc	MMAD
68	5	820	vc	MMAE
69	5	820	vc	デュオカルマイシン
70	5	820	spdb	DM4
71	325	673	vc	MMAD
72	325	673	PEG2-vc	MMAD
73	325	673	vc	MMAE
74	325	673	vc	デュオカルマイシン
75	325	673	spdb	DM4
76	5	824	vc	MMAD
77	5	824	PEG2-vc	MMAD
78	5	824	vc	MMAE
79	5	824	vc	デュオカルマイシン
80	5	824	spdb	DM4
81	325	702	vc	MMAD
82	325	702	PEG2-vc	MMAD
83	325	702	vc	MMAE
84	325	702	vc	デュオカルマイシン
85	325	702	spdb	DM4
86	5	826	vc	MMAD
87	5	826	PEG2-vc	MMAD
88	5	826	vc	MMAE
89	5	826	vc	デュオカルマイシン
90	5	826	spdb	DM4
91	325	671	vc	MMAD
92	325	671	PEG2-vc	MMAD
93	325	671	vc	MMAE
94	325	671	vc	デュオカルマイシン
95	325	671	spdb	DM4
96	5	822	vc	MMAD
97	5	822	PEG2-vc	MMAD
98	5	822	vc	MMAE
99	5	822	vc	デュオカルマイシン
100	5	822	spdb	DM4
101	325	704	vc	MMAD
102	325	704	PEG2-vc	MMAD
103	325	704	vc	MMAE

10

20

30

40

104	325	704	vc	デュオカルマイシン
105	325	704	spdb	DM4
106	5	828	vc	MMAD
107	5	828	PEG2-vc	MMAD
108	5	828	vc	MMAE
109	5	828	vc	デュオカルマイシン
110	5	828	spdb	DM4
111	325	706	vc	MMAD
112	325	706	PEG2-vc	MMAD
113	325	706	vc	MMAE
114	325	706	vc	デュオカルマイシン
115	325	706	spdb	DM4
116	5	830	vc	MMAD
117	5	830	PEG2-vc	MMAD
118	5	830	vc	MMAE
119	5	830	vc	デュオカルマイシン
120	5	830	spdb	DM4
121	325	708	vc	MMAD
122	325	708	PEG2-vc	MMAD
123	325	708	vc	MMAE
124	325	708	vc	デュオカルマイシン
125	325	708	spdb	DM4
126	5	832	vc	MMAD
127	5	832	PEG2-vc	MMAD
128	5	832	vc	MMAE
129	5	832	vc	デュオカルマイシン
130	5	832	spdb	DM4
131	325	710	vc	MMAD
132	325	710	PEG2-vc	MMAD
133	325	710	vc	MMAE
134	325	710	vc	デュオカルマイシン
135	325	710	spdb	DM4
136	5	834	vc	MMAD
137	5	834	PEG2-vc	MMAD
138	5	834	vc	MMAE
139	5	834	vc	デュオカルマイシン
140	5	834	spdb	DM4
141	325	712	vc	MMAD
142	325	712	PEG2-vc	MMAD
143	325	712	vc	MMAE
144	325	712	vc	デュオカルマイシン
145	325	712	spdb	DM4
146	5	836	vc	MMAD
147	5	836	PEG2-vc	MMAD
148	5	836	vc	MMAE
149	5	836	vc	デュオカルマイシン
150	5	836	spdb	DM4
151	325	323	vc	MMAD
152	325	323	PEG2-vc	MMAD

10

20

30

40

153	325	323	vc	MMAE
154	325	323	vc	デュオカルマイシン
155	325	323	spdb	DM4
156	325	650	vc	MMAD
157	325	650	PEG2-vc	MMAD
158	325	650	vc	MMAE
159	325	650	vc	デュオカルマイシン
160	325	650	spdb	DM4
161	5	809	vc	MMAD
162	5	809	PEG2-vc	MMAD
163	5	809	vc	MMAE
164	5	809	vc	デュオカルマイシン
165	5	809	spdb	DM4
166	325	652	vc	MMAD
167	325	652	PEG2-vc	MMAD
168	325	652	vc	MMAE
169	325	652	vc	デュオカルマイシン
170	325	652	spdb	DM4
171	5	811	vc	MMAD
172	5	811	PEG2-vc	MMAD
173	5	811	vc	MMAE
174	5	811	vc	デュオカルマイシン
175	5	811	spdb	DM4
176	325	654	vc	MMAD
177	325	654	PEG2-vc	MMAD
178	325	654	vc	MMAE
179	325	654	vc	デュオカルマイシン
180	325	654	spdb	DM4
181	5	813	vc	MMAD
182	5	813	PEG2-vc	MMAD
183	5	813	vc	MMAE
184	5	813	vc	デュオカルマイシン
185	5	813	spdb	DM4
186	325	656	vc	MMAD
187	325	656	PEG2-vc	MMAD
188	325	656	vc	MMAE
189	325	656	vc	デュオカルマイシン
190	325	656	spdb	DM4
191	5	815	vc	MMAD
192	5	815	PEG2-vc	MMAD
193	5	815	vc	MMAE
194	5	815	vc	デュオカルマイシン
195	5	815	spdb	DM4
196	325	658	vc	MMAD
197	325	658	PEG2-vc	MMAD
198	325	658	vc	MMAE
199	325	658	vc	デュオカルマイシン
200	325	658	spdb	DM4
201	5	817	vc	MMAD

10

20

30

40

202	5	817	PEG2-vc	MMAD
203	5	817	vc	MMAE
204	5	817	vc	デュオカルマイシン
205	5	817	spdb	DM4
206	325	660	vc	MMAD
207	325	660	PEG2-vc	MMAD
208	325	660	vc	MMAE
209	325	660	vc	デュオカルマイシン
210	325	660	spdb	DM4
211	5	819	vc	MMAD
212	5	819	PEG2-vc	MMAD
213	5	819	vc	MMAE
214	5	819	vc	デュオカルマイシン
215	5	819	spdb	DM4
216	325	672	vc	MMAD
217	325	672	PEG2-vc	MMAD
218	325	672	vc	MMAE
219	325	672	vc	デュオカルマイシン
220	325	672	spdb	DM4
221	5	823	vc	MMAD
222	5	823	PEG2-vc	MMAD
223	5	823	vc	MMAE
224	5	823	vc	デュオカルマイシン
225	5	823	spdb	DM4
226	325	701	vc	MMAD
227	325	701	PEG2-vc	MMAD
228	325	701	vc	MMAE
229	325	701	vc	デュオカルマイシン
230	325	701	spdb	DM4
231	5	825	vc	MMAD
232	5	825	PEG2-vc	MMAD
233	5	825	vc	MMAE
234	5	825	vc	デュオカルマイシン
235	5	825	spdb	DM4
236	325	670	vc	MMAD
237	325	670	PEG2-vc	MMAD
238	325	670	vc	MMAE
239	325	670	vc	デュオカルマイシン
240	325	670	spdb	DM4
241	5	821	vc	MMAD
242	5	821	PEG2-vc	MMAD
243	5	821	vc	MMAE
244	5	821	vc	デュオカルマイシン
245	5	821	spdb	DM4
246	325	703	vc	MMAD
247	325	703	PEG2-vc	MMAD
248	325	703	vc	MMAE
249	325	703	vc	デュオカルマイシン
250	325	703	spdb	DM4

10

20

30

40

251	5	827	vc	MMAD
252	5	827	PEG2-vc	MMAD
253	5	827	vc	MMAE
254	5	827	vc	デュオカルマイシン
255	5	827	spdb	DM4
256	325	705	vc	MMAD
257	325	705	PEG2-vc	MMAD
258	325	705	vc	MMAE
259	325	705	vc	デュオカルマイシン
260	325	705	spdb	DM4
261	5	829	vc	MMAD
262	5	829	PEG2-vc	MMAD
263	5	829	vc	MMAE
264	5	829	vc	デュオカルマイシン
265	5	829	spdb	DM4
266	325	707	vc	MMAD
267	325	707	PEG2-vc	MMAD
268	325	707	vc	MMAE
269	325	707	vc	デュオカルマイシン
270	325	707	spdb	DM4
271	5	831	vc	MMAD
272	5	831	PEG2-vc	MMAD
273	5	831	vc	MMAE
274	5	831	vc	デュオカルマイシン
275	5	831	spdb	DM4
276	325	709	vc	MMAD
277	325	709	PEG2-vc	MMAD
278	325	709	vc	MMAE
279	325	709	vc	デュオカルマイシン
280	325	709	spdb	DM4
281	5	833	vc	MMAD
282	5	833	PEG2-vc	MMAD
283	5	833	vc	MMAE
284	5	833	vc	デュオカルマイシン
285	5	833	spdb	DM4
286	325	711	vc	MMAD
287	325	711	PEG2-vc	MMAD
288	325	711	vc	MMAE
289	325	711	vc	デュオカルマイシン
290	325	711	spdb	DM4
291	5	835	vc	MMAD
292	5	835	PEG2-vc	MMAD
293	5	835	vc	MMAE
294	5	835	vc	デュオカルマイシン
295	5	835	spdb	DM4

10

20

30

40

50

## 【 0 2 1 6 】

本開示の抗体薬物コンジュゲート(ADC)または本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲート(AADC)は、表Fの所与の列内に列挙されたアミノ酸配列、リンカー、および毒素の組み合わせを含む、1つまたは複数のポリペプチドを含みうる。それゆえ、所与の列内に列挙されたまたは特定の組み合わせとして提供されたアミノ酸配列、リンカー、および毒素の組み合わせを含む本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲート(ADC)または本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲート(AADC)が、本明細書において記述される。例えば、本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲートは、組み合わせ番号45のアミノ酸配列を含むことができ、これにはSEQ ID NO: 325のアミノ酸配列を含む重鎖、SEQ ID NO: 333のアミノ酸

配列を含む軽鎖、およびspdb-DM4リンカー-毒素が含まれる。本明細書において開示され記述されるAADCの別の例において、本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲートは、組み合わせ番号33のアミノ酸配列を含むことができ、これにはSEQ ID NO: 325のアミノ酸配列を含む重鎖、SEQ ID NO: 331のアミノ酸配列を含む軽鎖、およびvc-MMAEリンカー-毒素が含まれる。

#### 【0217】

重鎖および軽鎖可変領域を列挙する表Fにおける組み合わせのいずれも、ヒト免疫グロブリン定常領域と組み合わせ、IgG1、IgG2、IgG4を含む完全ヒトIgGを生じさせることができ、または変異定常領域と組み合わせ、IgG1 N297A、IgG1 N297QまたはIgG4 S228Pのような改変された機能を有するヒトIgGを生じさせることができる。表Fに記述された組み合わせは、任意の所与の列内に示された特定の組み合わせによって限定されず、したがって表Fの縦列3からの任意の軽鎖配列または軽鎖可変領域配列と組み合わせられ、縦列4からの任意のリンカーと組み合わせられ、縦列5からの任意の毒素と組み合わせられた、表Fの縦列2からの任意の重鎖配列または重鎖可変領域配列を含むことができる。縦列2に列挙された重鎖配列または重鎖可変領域配列に加え、本明細書において開示される任意の重鎖配列または重鎖可変領域配列を組み合わせる用いることができる。縦列3に列挙された軽鎖配列または軽鎖可変領域配列に加え、本明細書において開示される任意の軽鎖配列または軽鎖可変領域配列を組み合わせる用いることができる。縦列4に列挙されたリンカーに加え、本明細書において開示される任意のリンカーを組み合わせる用いることができる。縦列5に列挙された毒素に加え、本明細書において開示される任意の毒素を組み合わせる用いることができる。

#### 【0218】

いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、対応する抗体の血清半減期より長い。例えば、活性化可能抗体のpKは、対応する抗体のpKより長い。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、対応する抗体の血清半減期と同様である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも15日である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも12日である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも11日である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも10日である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも9日である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも8日である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも7日である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも6日である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも5日である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも4日である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも3日である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも2日である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも24時間である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも20時間である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも18時間である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも16時間である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも14時間である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも12時間である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも10時間である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも8時間である。いくつかの態様において、活

性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも6時間である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも4時間である。いくつかの態様において、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与された場合に少なくとも3時間である。

#### 【0219】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体は単一特異性である。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体は多重特異性であり、例えば、非限定的な例として、二重特異性または三機能性である。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体は、プロ二重特異性T細胞エンゲージャー(Bispecific T Cell Engager: BITE)分子の一部として処方される。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体は、プロキメラ抗原受容体(CAR)によって改変されたT細胞または他の操作受容体の一部として処方される。

10

#### 【0220】

いくつかの態様において、活性化可能抗体またはその抗原結合断片は多重特異性活性化可能抗体またはその抗原結合断片に組み入れられ、多重特異性活性化可能抗体の少なくとも1つのアームはCD71に特異的に結合する。いくつかの態様において、活性化可能抗体またはその抗原結合断片は二重特異性抗体またはその抗原結合断片に組み入れられ、二重特異性活性化可能抗体の少なくとも1つのアームはCD71に特異的に結合する。

20

#### 【0221】

いくつかの態様において、本明細書に記載の抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体は、1種類もしくは複数種類のさらなる作用因子またはさらなる作用因子の組み合わせと一緒に用いられる。適切なさらなる作用因子には、例えば、がんなどの意図された用途のための現行の薬学的療法および/または外科的療法が含まれる。例えば、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体は、さらなる化学療法剤または抗新生物剤と一緒に使用することができる。

#### 【0222】

いくつかの態様において、さらなる作用因子は、化学療法剤、例えば、ドセタキセル、パクリタキセル、アブラキサン(すなわち、アルブミンにコンジュゲートしたパクリタキセル)、ドキシソルピシン、オキサリプラチン、カルボプラチン、シスプラチン、イリノテカン、およびゲムシタピンからなる群より選択される化学療法剤である。

30

#### 【0223】

いくつかの態様において、さらなる作用因子は、チェックポイント阻害剤、キナーゼ阻害剤、腫瘍微小環境にある阻害因子を標的とする作用因子、および/またはT細胞アゴニストもしくはNKアゴニストである。いくつかの態様において、さらなる作用因子は、単独の、または例えば化学療法剤または抗新生物剤などの別のさらなる作用因子と組み合わせた、放射線療法である。いくつかの態様において、さらなる作用因子は、ワクチン、オンコウイルス、および/またはDC活性化剤、例えば、非限定的な例として、toll様受容体(TLR)アゴニストおよび/または-CD40である。いくつかの態様において、さらなる作用因子は、ADCCを介して、または毒素への直接的なコンジュゲート(例えば、抗体薬物コンジュゲート(ADC))を介して腫瘍を死滅するように設計された、腫瘍を標的とする抗体である。

40

#### 【0224】

いくつかの態様において、チェックポイント阻害剤は、CTLA-4、LAG-3、PD1、CD71、TIGIT、TIM-3、B7H4、およびVistaからなる群より選択される標的の阻害剤である。いくつかの態様において、キナーゼ阻害剤は、B-RaFi、MEKi、およびBtk阻害剤、例えば、イブルチニブからなる群より選択される。いくつかの態様において、キナーゼ阻害剤はクリゾチニブである。いくつかの態様において、腫瘍微小環境阻害剤は、IDO阻害剤、-CSF1R

50

阻害剤、-CCR4阻害剤、TGF-、骨髄系由来サプレッサー細胞、または制御性T細胞からなる群より選択される。いくつかの態様において、アゴニストは、Ox40、GITR、CD137、ICOS、CD27、およびHVEMからなる群より選択される。

【0225】

いくつかの態様において、前記阻害剤はCTLA-4阻害剤である。いくつかの態様において、阻害剤はLAG-3阻害剤である。いくつかの態様において、前記阻害剤はPD1阻害剤である。いくつかの態様において、前記阻害剤はCD71阻害剤である。いくつかの態様において、前記阻害剤はTIGIT阻害剤である。いくつかの態様において、前記阻害剤はTIM-3阻害剤である。いくつかの態様において、前記阻害剤はB7H4阻害剤である。いくつかの態様において、前記阻害剤はVista阻害剤である。いくつかの態様において、前記阻害剤はB-RAFi阻害剤である。いくつかの態様において、前記阻害剤はMEKi阻害剤である。いくつかの態様において、前記阻害剤はBtk阻害剤である。いくつかの態様において、前記阻害剤はイブルチニブである。いくつかの態様において、前記阻害剤はクリゾチニブである。いくつかの態様において、前記阻害剤はIDO阻害剤である。いくつかの態様において、前記阻害剤は-CSF1R阻害剤である。いくつかの態様において、前記阻害剤は-CCR4阻害剤である。いくつかの態様において、前記阻害剤はTGF-である。いくつかの態様において、前記阻害剤は骨髄系由来サプレッサー細胞である。いくつかの態様において、前記阻害剤は制御性T細胞である。

10

【0226】

いくつかの態様において、前記アゴニストはOx40である。いくつかの態様において、アゴニストはGITRである。いくつかの態様において、アゴニストはCD137である。いくつかの態様において、アゴニストはICOSである。いくつかの態様において、アゴニストはCD27である。いくつかの態様において、アゴニストはHVEMである。

20

【0227】

いくつかの態様において、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体は、1種類または複数種類のさらなる作用因子、例えば、化学療法剤、抗炎症剤、および/または免疫抑制剤と組み合わせて処置中および/または処置後に投与される。いくつかの態様において、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体と、さらなる作用因子は単一の治療用組成物に処方され、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体と、さらなる作用因子は同時に投与される。あるいは、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体と、さらなる作用因子は互いに分かれており、例えば、それぞれは、別々の治療用組成物に処方され、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/もしくはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体と、さらなる作用因子は、同時に投与されるか、または抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/もしくはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体と、さらなる作用因子は、処置レジメン中に異なる時間に投与される。例えば、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/もしくはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体は、さらなる作用因子が投与される前に投与されるか、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/もしくはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体は、さらなる作用因子が投与された後に投与されるか、または抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/もしくはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体と、さらなる作用因子は、交互に投与される。本明細書において説明されるように、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体と、さらなる作用因子は、単一の用量で、または複数の用量で投与される。

30

40

【0228】

50

いくつかの態様において、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体と、さらなる作用因子は同時に投与される。例えば、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体と、さらなる作用因子は、単一の組成物に処方されてもよく、または2種類以上の別々の組成物として投与されてもよい。いくつかの態様において、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/もしくはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体と、さらなる作用因子は、連続して投与されるか、または抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/もしくはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体と、さらなる作用因子は、処置レジメン中に異なる時間に投与される。

10

#### 【0229】

いくつかの態様において、処置の間および/または処置の後に、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体は、1種類または複数種類のさらなる作用因子、例えば、非限定的な例として、化学療法剤、抗炎症剤、および/または免疫抑制剤、例えば、アルキル化剤、代謝拮抗剤、抗微小管剤、トポイソメラーゼ阻害剤、細胞傷害性抗生物質、および/または他の任意の核酸損傷剤と組み合わせて投与される。いくつかの態様において、さらなる作用因子は、タキサン、例えば、パクリタキセル(例えば、Abraxane(登録商標))である。いくつかの態様において、さらなる作用因子は、代謝拮抗剤、例えば、ゲムシタピンである。いくつかの態様において、さらなる作用因子は、アルキル化剤、例えば、カルボプラチンまたはシスプラチンなどの白金に基づく化学療法である。いくつかの態様において、さらなる作用因子は、標的化された作用物質、例えば、キナーゼ阻害剤、例えば、ソラフェニブまたはエルロチニブである。いくつかの態様において、さらなる作用因子は、標的化された作用物質、例えば、別の抗体、例えば、モノクローナル抗体(例えば、ペバシズマブ)、二重特異性抗体、または多重特異性抗体である。いくつかの態様において、さらなる作用因子は、プロテオソーム阻害剤、例えば、ボルテゾミブまたはカーフィルゾミブである。いくつかの態様において、さらなる作用因子は、免疫調節剤、例えば、レノリドミンまたはIL-2である。いくつかの態様において、さらなる作用因子は放射線である。いくつかの態様において、さらなる作用因子は、当業者によって治療の標準だとみなされている作用因子である。いくつかの態様において、さらなる作用因子は、当業者に周知の化学療法である。

20

30

#### 【0230】

いくつかの態様において、さらなる作用因子は、別の抗体もしくはその抗原結合断片、別のコンジュゲートされた抗体もしくはその抗原結合断片、別の活性化可能抗体もしくはその抗原結合断片、および/または別のコンジュゲートされた活性化可能抗体もしくはその抗原結合断片である。いくつかの態様において、さらなる作用因子は、第1の抗体もしくはその抗原結合断片、第1のコンジュゲートされた抗体もしくはその抗原結合断片、活性化可能抗体もしくはその抗原結合断片、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体もしくはその抗原結合断片と同じ標的に対する、例えば、CD71に対する、別の抗体もしくはその抗原結合断片、別のコンジュゲートされた抗体もしくはその抗原結合断片、別の活性化可能抗体もしくはその抗原結合断片、および/または別のコンジュゲートされた活性化可能抗体もしくはその抗原結合断片である。いくつかの態様において、さらなる作用因子は、第1の抗体もしくはその抗原結合断片、第1のコンジュゲートされた抗体もしくはその抗原結合断片、活性化可能抗体もしくはその抗原結合断片、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体もしくはその抗原結合断片の標的とは異なる標的に対する、別の抗体もしくはその抗原結合断片、別のコンジュゲートされた抗体もしくはその抗原結合断片、別の活性化可能抗体もしくはその抗原結合断片、および/または別のコンジュゲートされた活性化可能抗体もしくはその抗原結合断片である。

40

#### 【0231】

50

非限定的な例として、前記抗体もしくは抗原結合断片および/または活性化可能抗体のA Bは、表1に列挙した任意の標的の結合パートナーである。

【 0 2 3 2 】

(表 1) 例示的な標的

1-92-LFA-3	CD52	DL44	HVEM	LIF-R	STEAP1
$\alpha$ -4 インテグリン	CD56	DLK1	ヒアルロニダーゼ	ルイスX	STEAP2
$\alpha$ -V インテグリン	CD64	DLL4	ICOS	LIGHT	TAG-72
$\alpha 4 \beta 1$ インテグリン	CD70	DPP-4	IFN $\alpha$	LRP4	TAPA1
$\alpha 4 \beta 7$ インテグリン	CD71	DSG1	IFN $\beta$	LRRC26	TGF $\beta$
AGR2	CD74	EGFR	IFN $\gamma$	MCSP	TIGIT
抗ルイスY		EGFRviii	IgE	メソテリン	TIM-3
アペリンJ 受容体	CD80	エンドセリンB 受容体 (ETBR)	IgE 受容体 (FcεRI)	MRP4	TLR2
APRIL	CD81	ENPP3	IGF	MUC1	TLR4
B7-H4	CD86	EpCAM	IGF1R	ムチン-16 (MUC16, CA-125)	TLR6
BAFF	CD95	EPHA2	IL1B	Na/K ATPase	TLR7
BTLA	CD117	EPHB2	IL1R	好中球 エラスターゼ	TLR8
C5 補体	CD125	ERBB3	IL2	NGF	TLR9
C-242	CD132 (IL-2RG)	RSVの Fタンパク質	IL11	ニカストリン (nicastatin)	TMEM31
CA9	CD133	FAP	IL12	Notch 受容体	TNF $\alpha$
CA19-9 (ルイス a)	CD137	FGF-2	IL12p40	Notch 1	TNFR
炭酸 脱水酵素9	CD138	FGF8	IL-12R, IL-12R $\beta$ 1	Notch 2	TNFRS12 A
CD2	CD166	FGFR1	IL13	Notch 3	TRAIL-R1
CD3	CD172A	FGFR2	IL13R	Notch 4	TRAIL-R2
CD6	CD248	FGFR3	IL15	NOV	トランスフェリン

10

20

30

CD9	CDH6	FGFR4	IL17	OSM-R	トランスフェリン受容体
CD11a	CEACAM5 (CEA)	葉酸受容体	IL18	OX-40	TRK-A
CD19	CEACAM6 (NCA-90)	GAL3ST1	IL21	PAR2	TRK-B
CD20	CLAUDIN-3	G-CSF	IL23	PDGF-AA	uPAR
CD22	CLAUDIN-4	G-CSFR	IL23R	PDGF-BB	VAP1
CD24	cMet	GD2	IL27/IL27R (wsx1)	PDGFR $\alpha$	VCAM-1
CD25	コラーゲン	GITR	IL29	PDGFR $\beta$	VEGF
CD27	Cripto	GLUT1	IL-31R	PD-1	VEGF-A
CD28	CSFR	GLUT4	IL31/IL31R	PD-L1	VEGF-B
CD30	CSFR-1	GM-CSF	IL2R	PD-L2	VEGF-C
CD33	CTLA-4	GM-CSFR	IL4	フォスファチジルセリン	VEGF-D
CD38	CTGF	GP IIb/IIIa 受容体	IL4R	P1GF	VEGFR1
CD40	CXCL10	Gp130	IL6, IL6R	PSCA	VEGFR2
CD40L	CXCL13	GPIIB/IIIA	インシュリン受容体	PSMA	VEGFR3
CD41	CXCR1	GPNMB	Jagged リガンド	RAAG12	VISTA
CD44	CXCR2	GRP78	Jagged 1	RAGE	WISP-1
CD44v6		HER2/neu	Jagged 2	SLC44A4	WISP-2
CD47	CXCR4	HGF	LAG-3	スフィンゴシン1リン酸	WISP-3
CD51	CYR61	hGH			

10

20

## 【 0 2 3 3 】

非限定的な例として、前記抗体もしくは抗原結合断片および/または活性化可能抗体のA Bは、表2に列挙した抗体であるか、または該抗体に由来する。

## 【 0 2 3 4 】

30

(表2) Abの例示的な供給源

抗体の商品名(抗体の名前)	標的
Avastin(商標)(ベバシズマブ)	VEGF
Lucentis(商標)(ラニビズマブ)	VEGF
Erbix(商標)(セツキシマブ)	EGFR
Vectibix(商標)(パニツムマブ)	EGFR
Remicade(商標)(インフリキシマブ)	TNF $\alpha$
Humira(商標)(アダリムマブ)	TNF $\alpha$
Tysabri(商標)(ナタリズマブ)	インテグリン $\alpha 4$
Simulect(商標)(バシリキシマブ)	IL2R
Soliris(商標)(エクリズマブ)	補体C5
Raptiva(商標)(エファリズマブ)	CD11a
Bexxar(商標)(トシツモマブ)	CD20
Zevalin(商標)(イブリツモマブチウキセタン)	CD20
Rituxan(商標)(リツキシマブ)	CD20

40

オクレリズマブ	CD20
Arzerra(商標)(オフアツムマブ)	CD20
Gazyva(商標)(オビヌツズマブ)	CD20
Zenapax(商標)(ダクリズマブ)	CD25
Adcetris(商標)(プレントキシマブベドチン)	CD30
Myelotarg(商標)(ゲムツズマブ)	CD33
Mylotarg(商標)(ゲムツズマブオゾガマイシン)	CD33
Campath(商標)(アレムツズマブ)	CD52
ReoPro(商標)(アビシキシマブ(abiciximab))	糖タンパク質受容体IIb/IIIa
Xolair(商標)(オマリズマブ)	IgE
Herceptin(商標)(トラスツズマブ)	Her2
Kadcyla(商標)(トラスツズマブエムタンシン)	Her2
Synagis(商標)(パリビズマブ)	RSVのFタンパク質
(イビリムマブ)	CTLA-4
(トレメリムマブ)	CTLA-4
Hu5c8	CD40L
(ペルツズマブ)	Her2-neu
(エルツマキシマブ(ertumaxomab))	CD3/Her2-neu
Orencia(商標)(アバタセプト)	CTLA-4
(タネズマブ(tanezumab))	NGF
(バビツキシマブ(bavituximab))	フォスファチジルセリン
(ザルツムマブ)	EGFR
(マバツムマブ)	EGFR
(マツズマブ)	EGFR
(ニモツズマブ)	EGFR
ICR62	EGFR
mAb 528	EGFR
CH806	EGFR
MDX-447	EGFR/CD64
(エドレコロマブ)	EpCAM
RAV12	RAAG12
huJ591	PSMA
Enbrel(商標)(エタネルセプト)	TNF-R
Amevive(商標)(アレファセプト)	1-92-LFA-3
Antril(商標), Kineret(商標)(アンキンラ(ankinra))	IL-1Ra
GC1008	TGFβ
	Notch、例えばNotch 1
	Jagged 1またはJagged 2
(アデカツムマブ)	EpCAM
(フィギツムマブ)	IGF1R
(トシリズマブ)	IL-6受容体
Stelara(商標)(ウステキヌマブ)	IL-12/IL-23
Prolia(商標)(デノスマブ)	RANKL

10

20

30

40

## 【 0 2 3 5 】

いくつかの態様において、さらなる抗体もしくはその抗原結合断片、コンジュゲートされた抗体もしくはその抗原結合断片、活性化可能抗体もしくはその抗原結合断片、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体もしくはその抗原結合断片は、モノクローナル抗体、ドメイン抗体、単鎖、Fab断片、F(ab')<sub>2</sub>断片、scFv、scAb、dAb、シングルドメイン重鎖抗体、またはシングルドメイン軽鎖抗体である。いくつかの態様において、さらなる抗体もしくはその抗原結合断片、コンジュゲートされた抗体もしくはその抗原結合断片、活性化可能抗体もしくはその抗原結合断片、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体もしくはその抗原結合断片は、マウス抗体、他のげっ歯類抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、または完全ヒトモノクローナル抗体である。

50

## 【0236】

本開示はまた、抗CD71抗体および/または活性化可能抗CD71抗体ポリペプチドの発現をもたらす条件下で細胞を培養することによって該ポリペプチドを産生する方法であって、前記細胞が、本明細書に記載の抗体および/もしくは活性化可能抗体をコードする単離された核酸分子、ならびに/またはこれらの単離された核酸配列を含むベクターを含む、前記方法も提供する。本開示は、抗体および/または活性化可能抗体の発現をもたらす条件下で細胞を培養することによって抗体および/または活性化可能抗体を産生する方法であって、前記細胞が、本明細書に記載の抗体および/もしくは活性化可能抗体をコードする単離された核酸分子、ならびに/またはこれらの単離された核酸配列を含むベクターを含む、前記方法を提供する。

10

## 【0237】

本発明はまた、(a)活性化可能抗体の発現をもたらす条件下で、活性化可能抗体をコードする核酸構築物を含む細胞を培養する工程であって、活性化可能抗体が、マスキング部分(MM)と、切断可能部分(CM)と、CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(AB)とを含み、(i)CMが、プロテアーゼの基質として機能するポリペプチドであり、(ii)活性化可能抗体が非切断状態にある場合にMMがCD71に対するABの特異的結合に干渉するように、および活性化可能抗体が切断状態にある場合はMMがCD71に対するABの特異的結合に干渉も競合もしないように、CMが活性化可能抗体に配置される、前記工程、および(b)活性化可能抗体を回収する工程によって、活性化状態でCD71に結合する活性化可能抗体を製造する方法も提供する。適切なAB、MM、および/またはCMは、本明細書において開示された任意のAB、MM、および/またはCMを含む。

20

## 【0238】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、非切断状態では、N末端からC末端に向かって、MM-CM-ABまたはAB-CM-MMのような構造的配置を有する。いくつかの態様において、活性化可能抗体はMMとCMとの間に連結ペプチドを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗体はCMとABとの間に連結ペプチドを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗体は第1の連結ペプチド(LP1)および第2の連結ペプチド(LP2)を含み、非切断状態では、N末端からC末端に向かって、MM-LP1-CM-LP2-ABまたはAB-LP2-CM-LP1-MMのような構造的配置を有する。いくつかの態様において、2つの連結ペプチドは互いに同一である必要はない。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、非切断状態では、N末端からC末端に向かって、スパーサー-MM-LP1-CM-LP2-ABまたはAB-LP2-CM-LP1-MM-スパーサーのような構造的配置を有する。

30

## 【0239】

いくつかの態様において、LP1またはLP2の少なくとも1つは、 $(GS)_n$ 、 $(GGS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$  (SEQ ID NO: 339)および $(GGGS)_n$  (SEQ ID NO: 340)からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、nは、少なくとも1の整数である。

## 【0240】

いくつかの態様において、LP1またはLP2の少なくとも1つは、GSGG (SEQ ID NO: 341)、GSGGG (SEQ ID NO: 342)、GSGSG (SEQ ID NO: 343)、GSGGG (SEQ ID NO: 344)、GGGSG (SEQ ID NO: 345)、およびGSSSG (SEQ ID NO: 346)からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

40

## 【0241】

いくつかの態様において、LP1は、アミノ酸配列GSSGGSGGSGGSG (SEQ ID NO: 347)、GSSGGSGGSGG (SEQ ID NO: 348)、GSSGGSGGSGGS (SEQ ID NO: 349)、GSSGGSGGSGGSGGGS (SEQ ID NO: 350)、GSSGGSGGSG (SEQ ID NO: 351)、またはGSSGGSGGSGS (SEQ ID NO: 352)を含む。

50

## 【0242】

いくつかの態様において、LP2は、アミノ酸配列  
GSS, GGS,

GGGS (SEQ ID NO: 353), GSSGT (SEQ ID NO: 354)またはGSSG (SEQ ID NO: 356)

を含む。

## 【0243】

本発明は、その必要のある対象に、治療的有効量の本明細書に記載の抗CD71抗体、コン  
ジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートさ  
れた活性化可能抗CD71抗体を投与することによって、対象においてCD71を介した疾患を予  
防する、該疾患の進行を遅らせる、該疾患を処置する、該疾患の症状を緩和する、または  
別の形で該疾患を寛解させる方法を提供する。

10

## 【0244】

本発明はまた、治療的有効量の本明細書において記述される抗CD71抗体、コンジュゲ  
ートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化  
可能抗CD71抗体を、その必要のある対象に投与することによって、対象においてがんを予  
防する、がんの進行を遅らせる、がんを処置する、がんの症状を緩和する、またはそれ以  
外の方法でがんを改善する方法を提供する。CD71は、非限定的な例として、腺癌、胆管(  
胆道)癌、膀胱癌、乳癌、例えばトリプルネガティブ乳癌およびHer2陰性乳癌、カルチノ  
イド癌；子宮頸癌；胆管癌；大腸癌；子宮内膜癌；神経膠腫；頭頸部癌、例えば頭頸部扁  
平上皮癌；白血病；肝臓癌；肺癌、例えばNSCLC、SCLC；リンパ腫；黒色腫；口腔咽頭癌；  
卵巣癌；膵臓癌；前立腺癌、例えば転移性去勢抵抗性前立腺癌；腎臓癌；皮膚癌；扁平  
上皮細胞癌；胃癌；精巣癌；甲状腺癌；ならびに尿路上皮癌のような種々のがんにおいて  
発現することが知られている。

20

## 【0245】

いくつかの態様において、がんは、CD71発現腫瘍と関連している。いくつかの態様にお  
いて、がんはCD71発現腫瘍によるものである。

## 【0246】

これらの方法および使用の任意の態様において用いられる抗CD71抗体、コンジュゲ  
ートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化  
可能抗CD71抗体は疾患の任意の段階で投与することができる。例えば、このような抗CD71  
抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジ  
ュゲートされた活性化可能抗CD71抗体は、初期がんから転移がんまで任意の段階のがんに  
罹患している患者に投与することができる。対象および患者という用語は本明細書におい  
て互換的に用いられる。

30

## 【0247】

いくつかの態様において、対象は、哺乳動物、例えば、ヒト、非ヒト霊長類、コンパニ  
オンアニマル(例えば、ネコ、イヌ、ウマ)、家畜、ワークアニマル(work animal)、また  
は動物園の動物である。いくつかの態様において、対象はヒトである。いくつかの態様  
において、対象はコンパニオンアニマルである。いくつかの態様において、対象は、獣医師  
に管理されている動物である。

40

## 【0248】

抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/また  
はコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体、ならびにその治療剤は、異常なCD71発  
現および/または活性に関連する疾患または障害に罹患しているか、またはかかりやすい  
対象に投与される。異常なCD71発現および/または活性に関連する疾患または障害に罹患  
しているか、またはかかりやすい対象は、当技術分野において公知の任意の様々な方法  
を用いて特定される。例えば、がんまたは他の新生物状態に罹患している対象は、健康状態  
を評価するために、任意の様々な臨床検査および/または実験室検査、例えば、理学的検  
査ならびに血液分析、尿分析、および/または糞便分析を用いて特定される。例えば、炎

50

症および/または炎症性障害に罹患している対象は、健康状態を評価するために、任意の様々な臨床検査および/または実験室検査、例えば、理学的検査ならびに/または体液分析、例えば、血液分析、尿分析、および/もしくは糞便分析を用いて特定される。

#### 【0249】

異常なCD71発現および/または活性に関連する疾患または障害に罹患している患者への、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体の投与は、様々な実験目的または臨床目的のうちどれでも達成されれば成功したとみなされる。例えば、異常なCD71発現および/または活性に関連する疾患または障害に罹患している患者への、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体の投与は、疾患または障害に関連する症状の1つまたは複数が軽減すれば、低減すれば、阻害されれば、またはさらなる、すなわちさらに悪い状態に進行しなければ成功したとみなされる。異常なCD71発現および/または活性に関連する疾患または障害に罹患している患者への、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体の投与は、疾患または障害が寛解期に入れば、またはさらなる、すなわちさらに悪い状態に進行しなければ成功したとみなされる。

#### 【0250】

いくつかの態様において、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体およびその治療用製剤は、がんまたは他の新生物状態に罹患している対象のような、疾患または障害に罹患しているまたはそれに対して感受性が高い対象に投与され、ここで対象の罹患細胞はCD71を発現している。いくつかの態様において、罹患細胞は、異常なCD71発現および/または活性に関連する。いくつかの態様において、罹患細胞は、正常なCD71発現および/または活性に関連する。対象の罹患細胞がCD71を発現する疾患または障害に罹患しているまたはそれに対して感受性が高い対象は、当技術分野において公知の種々の方法のいずれかを用いて同定される。例えば、健康状態を評価するための身体検査ならびに血液分析、尿分析および/または糞便分析のような種々の臨床検査および/または検査室検査のいずれかを用いて、がんまたは他の新生物状態に罹患している対象が同定される。例えば、炎症および/または炎症性障害に罹患している対象は、健康状態を評価するための身体検査および/または体液分析、例えば血液分析、尿分析および/または糞便分析のような種々の臨床検査および/または検査室検査のいずれかを用いて同定される。

#### 【0251】

いくつかの態様において、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体およびその治療用製剤は、がんまたは他の新生物状態に罹患している対象のような、CD71を発現する細胞またはそのような細胞の存在、成長、増殖、転移および/もしくは活性に関連する疾患または障害に罹患しているまたはそれに対して感受性が高い対象に投与される。いくつかの態様において、細胞は、異常なCD71発現および/または活性に関連する。いくつかの態様において、細胞は、正常なCD71発現および/または活性に関連する。CD71を発現する細胞に関連する疾患または障害に罹患しているまたはそれに対して感受性が高い対象は、当技術分野において公知の種々の方法のいずれかを用いて同定される。例えば、健康状態を評価するための身体検査ならびに血液分析、尿分析および/または糞便分析のような種々の臨床検査および/または検査室検査のいずれかを用いて、がんまたは他の新生物状態に罹患している対象が同定される。例えば、炎症および/または炎症性障害に罹患している対象は、健康状態を評価するための身体検査および/または体液分析、例えば血液分析、尿分析および/または糞便分析のような種々の臨床検査および/または検査室検査のいずれかを用いて同定される。

#### 【0252】

CD71を発現する細胞に関連する疾患または障害に罹患している患者への抗CD71抗体、コ

ンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体の投与は、種々の検査室または臨床の目的のいずれかが達成されるなら成功と見なされる。例えば、CD71を発現する細胞に関連する疾患または障害に罹患している患者への抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体の投与は、疾患または障害に関連する症状の1つまたは複数が緩和されれば、低減されれば、阻害されれば、またはさらなる、すなわちさらに悪い状態に進行しなければ成功と見なされる。CD71を発現する細胞に関連する疾患または障害に罹患している患者への抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体の投与は、疾患または障害が寛解に入れば、またはさらなる、すなわちさらに悪い状態に進行しなければ成功と見なされる。

10

#### 【0253】

いくつかの態様において、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体は、1種類または複数種類のさらなる作用因子、例えば、化学療法剤、抗炎症剤、および/または免疫抑制剤と組み合わせて、処置中および/または処置後に投与される。いくつかの態様において、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体と、さらなる作用因子は、同時に投与される。例えば、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体と、さらなる作用因子は、単一の組成物に処方されてもよく、または2種類以上の別々の組成物として投与されてもよい。いくつかの態様において、抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体、および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体と、さらなる作用因子は連続して投与される。

20

#### 【0254】

本開示はまた、治療的有効量の本開示の抗体もしくは本開示のコンジュゲートされた抗体または本開示の抗体を含む薬学的組成物もしくは本開示のコンジュゲートされた抗体を含む薬学的組成物を、その必要のある対象に投与する段階を含む、罹患細胞がCD71を発現する障害または疾患を処置するか、その症状を緩和するか、またはその進行を遅らせる方法を提供する。いくつかの態様において、障害または疾患は、がんである。

30

#### 【0255】

本開示はまた、治療的有効量の本開示の抗体もしくは本開示のコンジュゲートされた抗体または本開示の抗体を含む薬学的組成物もしくは本開示のコンジュゲートされた抗体を含む薬学的組成物を、その必要のある対象に投与する段階を含む、CD71を発現する細胞に関連した障害または疾患を処置するか、その症状を緩和するか、またはその進行を遅らせる方法を提供する。いくつかの態様において、CD71を発現する細胞に関連した障害または疾患は、がんである。いくつかの態様において、がんは腺癌、胆管(胆道)癌、膀胱癌、骨がん、乳癌、トリプルネガティブ乳癌、Her2陰性乳癌、カルチノイド癌、子宮頸癌、胆管癌、大腸癌、結腸癌、子宮内膜癌、神経膠腫、頭頸部癌、頭頸部扁平上皮癌、白血病、肝臓癌、肺癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、リンパ腫、黒色腫、口腔咽頭癌、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、転移性去勢抵抗性前立腺癌、腎臓癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮細胞癌、胃癌、精巣癌、甲状腺癌、泌尿生殖器癌または尿路上皮癌である。いくつかの態様において、天然リガンドはトランスフェリンである。いくつかの態様において、哺乳動物CD71の発現および/または活性は異常である。いくつかの態様において、本方法はさらなる作用物質を投与する段階を含む。いくつかの態様において、さらなる作用物質は治療剤である。

40

#### 【0256】

本開示はまた、治療的有効量の本開示の抗体もしくは本開示のコンジュゲートされた抗体または本開示の抗体を含む薬学的組成物もしくは本開示のコンジュゲートされた抗体を含む薬学的組成物を、その必要のある対象に投与する段階を含む、哺乳動物CD71を発現する細胞の成長、増殖または転移を阻害または低減する方法を提供する。いくつかの態様に

50

において、天然リガンドはトランスフェリンである。いくつかの態様において、哺乳動物CD71の発現および/または活性は異常である。いくつかの態様において、本方法はさらなる作用物質を投与する段階を含む。いくつかの態様において、さらなる作用物質は治療剤である。

【0257】

本開示はまた、治療的有効量の本開示の抗体もしくは本開示のコンジュゲートされた抗体または本開示の抗体を含む薬学的組成物もしくは本開示のコンジュゲートされた抗体を含む薬学的組成物を、その必要のある対象に投与する段階を含む、哺乳動物CD71への天然リガンドの結合を阻害する、ブロックするまたは阻止する方法を提供する。いくつかの態様において、天然リガンドはトランスフェリンである。いくつかの態様において、哺乳動物CD71の発現および/または活性は異常である。いくつかの態様において、本方法はさらなる作用物質を投与する段階を含む。いくつかの態様において、さらなる作用物質は治療剤である。

10

【0258】

本開示はまた、治療的有効量の本開示の活性化可能抗体もしくは本開示のコンジュゲートされた活性化可能抗体または本開示の活性化可能抗体を含む薬学的組成物もしくは本開示のコンジュゲートされた活性化可能抗体を含む薬学的組成物を、その必要のある対象に投与する段階を含む、罹患細胞がCD71を発現する障害または疾患を処置するか、その症状を緩和するか、またはその進行を遅らせる方法を提供する。いくつかの態様において、障害または疾患は、がんである。

20

【0259】

本開示はまた、治療的有効量の本開示の活性化可能抗体もしくは本開示のコンジュゲートされた活性化可能抗体または本開示の活性化可能抗体を含む薬学的組成物もしくは本開示のコンジュゲートされた活性化可能抗体を含む薬学的組成物を、その必要のある対象に投与する段階を含む、CD71を発現する細胞に関連した障害または疾患を処置するか、その症状を緩和するか、またはその進行を遅らせる方法を提供する。いくつかの態様において、CD71を発現する細胞に関連した障害または疾患は、がんである。いくつかの態様において、がんは腺癌、胆管(胆道)癌、膀胱癌、骨がん、乳癌、トリプルネガティブ乳癌、Her2陰性乳癌、カルチノイド癌、子宮頸癌、胆管癌、大腸癌、結腸癌、子宮内膜癌、神経膠腫、頭頸部癌、頭頸部扁平上皮癌、白血病、肝臓癌、肺癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、リンパ腫、黒色腫、口腔咽頭癌、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、転移性去勢抵抗性前立腺癌、腎臓癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮細胞癌、胃癌、精巣癌、甲状腺癌、泌尿生殖器癌または尿路上皮癌である。いくつかの態様において、天然リガンドはトランスフェリンである。いくつかの態様において、哺乳動物CD71の発現および/または活性は異常である。いくつかの態様において、本方法はさらなる作用物質を投与する段階を含む。いくつかの態様において、さらなる作用物質は治療剤である。

30

【0260】

本開示はまた、治療的有効量の本開示の活性化可能抗体もしくは本開示のコンジュゲートされた活性化可能抗体または本開示の活性化可能抗体を含む薬学的組成物もしくは本開示のコンジュゲートされた活性化可能抗体を含む薬学的組成物を、その必要のある対象に投与する段階を含む、哺乳動物CD71を発現する細胞の成長、増殖または転移を阻害または低減する方法を提供する。いくつかの態様において、天然リガンドはトランスフェリンである。いくつかの態様において、哺乳動物CD71の発現および/または活性は異常である。いくつかの態様において、本方法はさらなる作用物質を投与する段階を含む。いくつかの態様において、さらなる作用物質は治療剤である。

40

【0261】

本開示はまた、治療的有効量の本開示の活性化可能抗体もしくは本開示のコンジュゲートされた活性化可能抗体または本開示の活性化可能抗体を含む薬学的組成物もしくは本開示のコンジュゲートされた活性化可能抗体を含む薬学的組成物を、その必要のある対象に投与する段階を含む、哺乳動物CD71への天然リガンドの結合を阻害する、ブロックするま

50

たは阻止する方法を提供する。いくつかの態様において、天然リガンドはトランスフェリンである。いくつかの態様において、哺乳動物CD71の発現および/または活性は異常である。いくつかの態様において、本方法はさらなる作用物質を投与する段階を含む。いくつかの態様において、さらなる作用物質は治療剤である。

#### 【0262】

本発明はまた、様々な診断上および/または予防上の適用において、活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体を使用するための方法およびキットも提供する。例えば、本発明は、(i)対象または試料を抗CD71活性化可能抗体と接触させる工程であって、抗CD71活性化可能抗体が、マスキング部分(MM)と、切断剤によって切断される切断可能部分(CM)と、関心対象の標的に特異的に結合する抗原結合ドメインまたはその断片(AB)とを含み、切断されておらず活性化されていない状態にある抗CD71活性化可能抗体がN末端からC末端に向かって、MM-CM-ABまたはAB-CM-MMのような構造的配置を含み、(a)MMがABとCD71との結合を阻害するペプチドであり、かつMMがABの天然結合パートナーのアミノ酸配列を有さず、かつABの天然結合パートナーの改変型ではなく、(b)ABが切断されておらず活性化されていない状態にある場合に、MMがCD71に対するABの特異的結合に干渉し、ABが切断され活性化された状態にある場合は、MMがCD71に対するABの特異的結合に干渉も競合もしない、前記工程と、(ii)対象または試料における、活性化された抗CD71活性化可能抗体のレベルを測定する工程であって、対象または試料に、活性化された抗CD71活性化可能抗体の検出可能なレベルがあることは、切断剤およびCD71が対象または試料に存在することを示し、対象または試料に、活性化された抗CD71活性化可能抗体の検出可能なレベルが無いことは、対象または試料に切断剤が存在しないか、CD71が存在しないか、または切断剤とCD71が両方とも存在しないことを示す、前記工程によって、対象または試料における切断剤および関心対象の標的の有無を検出するための方法およびキットを提供する。

#### 【0263】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、治療用作用物質がコンジュゲートした活性化可能抗CD71抗体である。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、作用物質にコンジュゲートされていない。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、検出可能な標識を含む。いくつかの態様において、検出可能な標識はAB上に配置される。いくつかの態様において、対象または試料における活性化可能抗CD71抗体のレベルの測定は、活性化された抗体に特異的に結合する二次試薬を用いて成し遂げられ、試薬は、検出可能な標識を含む。いくつかの態様において、二次試薬は、検出可能な標識を含む抗体である。

#### 【0264】

これらの方法およびキットのいくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、検出可能な標識を含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、検出可能な標識は、イメージング剤、造影剤(contrasting agent)、酵素、蛍光標識、発色団、色素、1つもしくは複数の金属イオン、またはリガンドをベースとする標識を含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、イメージング剤は放射性同位体を含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、放射性同位体はインジウムまたはテクネチウムである。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、造影剤は、ヨウ素、ガドリニウム、または酸化鉄を含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、酵素は、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、または $\beta$ -ガラクトシダーゼを含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、蛍光標識は、黄色蛍光タンパク質(YFP)、シアン蛍光タンパク質(CFP)、緑色蛍光タンパク質(GFP)、改変赤色蛍光タンパク質(mRFP)、赤色蛍光タンパク質tdimer2(RFP tdimer2)、HCRED、またはユーロピウム誘導体を含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、ルミネセンス標識はN-メチルアクリジウム(methylacrydium)誘導体を含む。これらの方法のいくつかの態様において、標識は、Alexa Fluor(登録商標)標識、例えば、Alexa Fluor(登録商標)680またはAlexa Fluor(登録商標)750を含む。これらの方法およびキットのいく

つかの態様において、リガンドをベースとする標識は、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジン、または1つもしくは複数のハプテンを含む。

【0265】

これらの方法およびキットのいくつかの態様において、対象は哺乳動物である。これらの方法のいくつかの態様において、対象はヒトである。いくつかの態様において、対象は非ヒト哺乳動物、例えば、非ヒト霊長類、コンパニオンアニマル(例えば、ネコ、イヌ、ウマ)、家畜、ワークアニマル、または動物園の動物である。いくつかの態様において、対象は、げっ歯類である。

【0266】

これらの方法およびキットのいくつかの態様において、前記方法はインビボ方法である。これらの方法のいくつかの態様において、前記方法はインサイチュー方法である。これらの方法のいくつかの態様において、前記方法はエクスビボ方法である。これらの方法のいくつかの態様において、前記方法はインビトロ方法である。

【0267】

前記方法およびキットのいくつかの態様において、前記方法は、本開示の抗CD71活性化可能抗体を用いた処置に適した患者集団を特定するか、または別の方法で正確にし、それに続いて、処置を必要とする対象に、活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体を投与することによって処置するのに用いられる。例えば、標的(例えば、CD71)と、これらの方法において試験されている抗CD71活性化可能抗体の切断可能部分(CM)にある基質を切断するプロテアーゼの両方が陽性と試験結果がでた患者は、このようなCMを含む、このような抗CD71活性化可能抗体を用いた処置に適した候補であると特定され、次いで、この患者には、治療的有効量の、試験された活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体が投与される。同様に、標的(例えば、CD71)と、これらの方法を用いて試験されている活性化可能抗体のCMにある基質を切断するプロテアーゼのいずれか、または両方が陰性と試験結果がでた患者は、別の形の療法に適した候補であると特定される可能性がある。いくつかの態様では、処置に適した抗CD71活性化可能抗体(例えば、疾患部位で患者によって切断されるCMを含む抗CD71活性化可能抗体)が特定されるまで、このような患者は他の抗CD71活性化可能抗体を用いて試験することができる。いくつかの態様では、次いで、患者には、患者において陽性と試験結果がでた治療的有効量の活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体が投与される。適切なAB、MM、および/またはCMには、本明細書において開示された任意のAB、MM、および/またはCMが含まれる。

【0268】

本発明による薬学的組成物は本発明の抗体と担体を含んでもよい。これらの薬学的組成物は、例えば、診断キットなどのキットに含まれてもよい。

【0269】

いくつかの態様において、薬学的組成物は、本開示の抗体、本開示の活性化可能抗体、本開示のコンジュゲートされた抗体、および/または本開示のコンジュゲートされた活性化可能抗体、ならびに担体を含む。いくつかの態様において、薬学的組成物はさらなる作用物質を含む。いくつかの態様において、さらなる作用物質は治療剤である。

【図面の簡単な説明】

【0270】

【図1】ヒトCD71に結合する本開示の抗CD71抗体の能力を示すグラフである。

【図2-1】ヒトCD71に結合する本開示のさまざまな活性化可能抗CD71抗体の能力を示すグラフである。

【図2-2】図2-1の続きの図である。

【図3】図3A: 活性化可能抗体がインタクトであるかまたはタンパク質分解的に活性化される場合に、ヒトCD71に結合する本開示の非コンジュゲートおよびコンジュゲート抗CD71活性化可能抗体の能力を示すグラフである。図3B: 本開示のコンジュゲート抗CD71活性化可能抗体および活性化されたコンジュゲート抗CD71活性化可能抗体のインビトロ細胞傷害

性を示すグラフである。

【図4】NCI-H292異種移植腫瘍における本開示のコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体の有効性を示すグラフである。

【図5】乳癌HCC1806異種移植腫瘍における本開示のコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体の有効性を示すグラフである。

【図6A】図6A: 本開示の抗CD71抗体がカニクイザル初代腎臓上皮細胞に結合することを示すグラフである。

【図6B】図6B: 本開示の抗CD71抗体はカニクイザルCD71に結合するが、マウスCD71に結合しないことを示すグラフである。

【図6C】図6C: 本開示のネズミおよびヒト化抗CD71抗体がヒトBxPC3細胞株に結合することを示すグラフである。

【図7】本開示の活性化可能抗CD71抗体の単回用量が、カニクイザルにおけるCD71親抗体と比べて延長された半減期を実証することを示すグラフである。

【図8】カニクイザルへの投与時の本開示のコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体の薬物動態を示すグラフである。

【図9】カニクイザルへの投与時の本開示のコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体の認容性を示すグラフである。

【図10】組み換えCD71とそのリガンドトランスフェリンとの間の結合の例示的なアッセイ法を示すグラフである。

【図11A】図11A: 本開示の抗CD71抗体とトランスフェリンとの間でのCD71に対する競合的結合アッセイ法を示すグラフである。

【図11B】図11B: 本開示の抗CD71抗体による結合の阻害を実証する、CD71へのトランスフェリンの結合の結合アッセイ法を示すグラフである。

【図12A】さまざまな原発性および転移性がんの組織の種類におけるCD71発現のレベルを決定するための例示的な免疫組織化学(IHC)アッセイ法を示す。

【図12B】さまざまな原発性および転移性がんの組織の種類におけるCD71発現のレベルを決定するための例示的な免疫組織化学(IHC)アッセイ法を示す。

【図12C】さまざまな原発性および転移性がんの組織の種類におけるCD71発現のレベルを決定するための例示的な免疫組織化学(IHC)アッセイ法を示す。

【図13A】マウスにおける非ホジキンリンパ腫腫瘍異種移植片を用いた、本開示の活性化可能抗CD71コンジュゲート抗体(AADC)の例示的な有効性研究を示す。

【図13B】マウスにおける非ホジキンリンパ腫腫瘍異種移植片を用いた、本開示の活性化可能抗CD71コンジュゲート抗体(AADC)の例示的な有効性研究を示す。

【図13C】マウスにおける非ホジキンリンパ腫腫瘍異種移植片を用いた、本開示の活性化可能抗CD71コンジュゲート抗体(AADC)の例示的な有効性研究を示す。

【図14A】カニクイザルにおける本開示の抗CD71コンジュゲート活性化可能抗体(AADC)の例示的な認容性研究を示す。

【図14B】カニクイザルにおける本開示の抗CD71コンジュゲート活性化可能抗体(AADC)の例示的な認容性研究を示す。

【図14C】カニクイザルにおける本開示の抗CD71コンジュゲート活性化可能抗体(AADC)の例示的な認容性研究を示す。

【図14D】カニクイザルにおける本開示の抗CD71コンジュゲート活性化可能抗体(AADC)の例示的な認容性研究を示す。

【図14E】カニクイザルにおける本開示の抗CD71コンジュゲート活性化可能抗体(AADC)の例示的な認容性研究を示す。

【図14F】カニクイザルにおける本開示の抗CD71コンジュゲート活性化可能抗体(AADC)の例示的な認容性研究を示す。

【図14G】カニクイザルにおける本開示の抗CD71コンジュゲート活性化可能抗体(AADC)の例示的な認容性研究を示す。

【図15】抗CD71抗体を用いたさまざまな細胞株における例示的なCD71発現レベル、およ

10

20

30

40

50

び本開示の抗CD71抗体を薬物コンジュゲート二次抗体とともに用いた同じ細胞株における細胞傷害性研究を示す。

【図16】図16A~16Dは、さまざまなヒト由来細胞株上のヒトCD71に結合する本開示のさまざまな抗CD71活性化可能抗体の能力の例示的研究を示す。

【図17A】さまざまな細胞株に対する本開示の抗CD71抗体薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図17B】さまざまな細胞株に対する本開示の抗CD71抗体薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図17C】さまざまな細胞株に対する本開示の抗CD71抗体薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図17D】さまざまな細胞株に対する本開示の抗CD71抗体薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図18】非ホジキンリンパ腫由来Raji細胞株に対する本開示のさまざまな活性化可能抗CD71抗体薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図19】ヒトCD71に結合する本開示のさまざまな抗CD71活性化可能抗体の能力の例示的研究を示す。

【図20A】患者由来異種移植腫瘍モデルにおける本開示の抗CD71抗体薬物コンジュゲート(ADC)および抗CD71活性化可能抗体薬物コンジュゲート(AADC)の有効性の例示的研究を示す。

【図20B】患者由来異種移植腫瘍モデルにおける本開示の抗CD71抗体薬物コンジュゲート(ADC)および抗CD71活性化可能抗体薬物コンジュゲート(AADC)の有効性の例示的研究を示す。

【図21A】種々の大腸癌由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71抗体薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図21B】種々の大腸癌由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71抗体薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図21C】種々の大腸癌由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71抗体薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図21D】種々の大腸癌由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71抗体薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図21E】種々の大腸癌由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71抗体薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図21F】種々の大腸癌由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71抗体薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図21G】種々の大腸癌由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71抗体薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図21H】種々の大腸癌由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71抗体薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図22】図22Aおよび22Bは、HT29大腸癌由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71抗体薬物コンジュゲートおよび活性化可能薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図23】図23Aおよび23Bは、マウスにおける非ホジキンリンパ腫腫瘍異種移植片を用いた、本開示の活性化可能抗CD71コンジュゲート抗体(AADC)の例示的な有効性研究を示す。

【図24】図24Aおよび24Bは、マウスにおける非小細胞肺癌(NCI-H292)腫瘍異種移植片を用いた、本開示の活性化可能抗CD71コンジュゲート抗体(AADC)の例示的な有効性研究を示す。

【図25】マウスにおける脾臓癌(BxPC3)腫瘍異種移植片を用いた、本開示の活性化可能抗CD71コンジュゲート抗体(AADC)の例示的な有効性研究を示す。

【図26】図26Aおよび26Bは、マウスにおける患者由来腫瘍異種移植片(非ホジキンリンパ腫)を用いた、本開示の活性化可能抗CD71コンジュゲート抗体(AADC)の例示的な有効性

10

20

30

40

50

研究を示す。

【図 2 7】図27Aおよび27Bは、マウスにおける患者由来腫瘍異種移植片を用いた、本開示の活性化可能抗CD71コンジュゲート抗体(AADC)の例示的な有効性研究を示す。

【図 2 8】ヒトCD71に結合する本開示のさまざまな抗CD71抗体および活性化可能抗体の能力の例示的研究を示す。

【図 2 9】図29A～29Cは、さまざまなヒト由来細胞株上のヒトCD71に結合する、本開示のさまざまな抗CD71活性化可能抗体および活性化可能抗体薬物コンジュゲートの能力の例示的研究を示す。

【図 3 0 A】インビトロのおよびさまざまなヒト由来細胞株上のヒトCD71に結合する本開示のさまざまな抗CD71活性化可能抗体の能力の例示的研究を示す。

【図 3 0 B】インビトロのおよびさまざまなヒト由来細胞株上のヒトCD71に結合する本開示のさまざまな抗CD71活性化可能抗体の能力の例示的研究を示す。

【図 3 0 C】インビトロのおよびさまざまなヒト由来細胞株上のヒトCD71に結合する本開示のさまざまな抗CD71活性化可能抗体の能力の例示的研究を示す。

【図 3 0 D】インビトロのおよびさまざまなヒト由来細胞株上のヒトCD71に結合する本開示のさまざまな抗CD71活性化可能抗体の能力の例示的研究を示す。

【図 3 1 A】図31A～31Jは、さまざまながん由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71活性化可能薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図 3 1 B】さまざまながん由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71活性化可能薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図 3 1 C】さまざまながん由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71活性化可能薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図 3 1 D】さまざまながん由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71活性化可能薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図 3 1 E】さまざまながん由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71活性化可能薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図 3 1 F】さまざまながん由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71活性化可能薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図 3 1 G】さまざまながん由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71活性化可能薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図 3 1 H】さまざまながん由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71活性化可能薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図 3 1 I】さまざまながん由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71活性化可能薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図 3 1 J】さまざまながん由来細胞株に対する本開示のさまざまな抗CD71活性化可能薬物コンジュゲートの細胞傷害性の例示的研究を示す。

【図 3 2】図32Aおよび32Bは、さまざまなヒト由来小細胞肺癌細胞株上のヒトCD71に結合する本開示の抗CD71抗体および抗体薬物コンジュゲートの能力の例示的研究を示す。

【図 3 3】図33Aおよび33Bは、さまざまながん由来細胞株に対する本開示の抗CD71抗体の抗増殖効果の例示的研究を示す。

【図 3 4】複数の患者由来転移性がんサンプルにおけるCD71の発現レベルの例示的研究を示す。

【図 3 5】膵臓癌マウスモデルにおける腫瘍への本開示の抗CD71抗体のインビボ結合の例示的研究を示す。

【図 3 6】転移性乳癌マウスモデルにおける腫瘍への本開示の抗CD71抗体のインビボ結合の例示的研究を示す。

【図 3 7】肺癌異種移植モデルにおける本開示の抗CD71抗体のインサイチュー結合の例示的研究を示す。

【発明を実施するための形態】

【0 2 7 1】

10

20

30

40

50

## 発明の詳細な説明

本開示は、トランスフェリン受容体タンパク質1 (TfR1)としても知られる、CD71に特異的に結合するモノクローナル抗体(mAb)および活性化可能モノクローナル抗体を提供する。いくつかの態様において、モノクローナル抗体および活性化可能モノクローナル抗体は、CD71含有細胞によって内部移行される。用語「CD71」の使用は、非限定的な例として、CD-71および/またはCD 71のような、その任意の変化形を網羅するように意図され、全ての変化形が本明細書において互換的に用いられる。

### 【0272】

CD71は、主にトランスフェリンに結合する膜貫通糖タンパク質である。CD71は細胞恒常性に不可欠である。CD71は、主リガンドがトランスフェリンであるリガンド媒介性エンドサイトーシスを通じて連続的に再利用される。CD71は、分裂細胞上に遍在的に発現されることも知られている。

10

### 【0273】

CD71およびCD71関連シグナル伝達の異常な発現および/または活性は、がんのような、多くの疾患および障害の病因に関係づけられている。CD71は、固形がんおよび血液がんの両方を含む、多くのがんにおいて過剰発現される。CD71は広範な細胞表面発現を有する。悪性細胞におけるCD71は、細胞分裂に必要なより高い鉄取込みを媒介する。CD71はまた、白血病での不良予後と関連している。

### 【0274】

CD71は、複数のがんの兆候に広く認められるので、望ましい標的である。

20

### 【0275】

本開示は、異常なCD71発現および/または活性に関連する疾患または障害の症状を処置する、予防する、その進行を遅らせる、その症状を改善するおよび/または緩和する方法において有用である抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体を提供する。例えば、活性化可能抗CD71抗体は、がんまたは他の新生物状態の症状を処置する、予防する、その進行を遅らせる、その症状を改善するおよび/または緩和する方法において用いられる。

### 【0276】

本開示は、CD71を発現する細胞に関連する疾患または障害の症状を処置する、予防する、その進行を遅らせる、その症状を改善するおよび/または緩和する方法において有用である抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体を提供する。いくつかの態様において、細胞は、異常なCD71発現および/または活性に関連する。いくつかの態様において、細胞は、正常なCD71発現および/または活性に関連する。例えば、活性化可能抗CD71抗体は、がんまたは他の新生物状態の症状を処置する、予防する、その進行を遅らせる、その症状を改善するおよび/または緩和する方法において用いられる。

30

### 【0277】

本開示は、罹患細胞がCD71を発現する疾患または障害の症状を処置する、予防する、その進行を遅らせる、その症状を改善するおよび/または緩和する方法において有用である抗CD71抗体、コンジュゲートされた抗CD71抗体、活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体を提供する。いくつかの態様において、罹患細胞は、異常なCD71発現および/または活性に関連する。いくつかの態様において、罹患細胞は、正常なCD71発現および/または活性に関連する。例えば、活性化可能抗CD71抗体は、がんまたは他の新生物状態の症状を処置する、予防する、その進行を遅らせる、その症状を改善するおよび/または緩和する方法において用いられる。

40

### 【0278】

活性化可能抗CD71抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体は、CD71に結合する抗体またはその抗原結合断片の能力をMMのカップリングが低減させるような、マスキング部分(MM)にカップリングされた、CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片を含む。いくつかの態様において、MMはプロテアーゼ、例えば、対象の処置

50

部位でCD71と共局在するプロテアーゼの基質を含む配列を介してカップリングされる。

【 0 2 7 9 】

本発明の例示的な活性化可能抗CD71抗体には、例えば、以下に示される重鎖可変配列および軽鎖可変配列であるか、またはそれに由来する重鎖および軽鎖を含む活性化可能抗体が含まれる(CDR配列は太字および下線で示されている)。

muM21 VH:

EVQLQESGTVLARPGASVKMSCKAS GYTFTSYWMHWVKQRPQGQLEWIG AIYPGNSETGYNQNFKGK  
AKLTAVTSASTAYMDLSSLTNEEDSAVYYCTRE ENWDPGFAFWGQGTLLITVSA (SEQ ID NO: 1)

muM21 VL:

DIVMTQTPAIMSASPGEKVTITC SASSSVYYMYWFQQKPGTSPKLWIY STSNLASGVPPVRFSGSGSG  
TSYSLTISRMEAEDAATYYC QQRNYPYTFGGGTKLEIKRA (SEQ ID NO: 2)

hu2vHa 可変重鎖

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCCKAS GYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMG AIYPGNSETGYAQKFQGR  
VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARE ENWDPGFAFWGQGTLLITVSS (SEQ ID NO: 3)

hu2vHb 可変重鎖

QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKAS GYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIG AIYPGNSETGYAQKFQGR  
ATLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRE ENWDPGFAFWGQGTLLITVSS (SEQ ID NO: 4)

hu2vHc 可変重鎖

QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKAS GYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIG AIYPGNSETGYAQKFQGR  
ATLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRE ENWDPGFAFWGQGTLLITVSS (SEQ ID NO: 5)

hu21vKa 可変軽鎖

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC SASSSVYYMYWYQQKPGKAPKLLIY STSNLASGVPSRFSGSGSG  
TDFTLTISSLQPEDFATYYC QQRNYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 6)

hu21vKb 可変軽鎖

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC SASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIY STSNLASGVPSRFSGSGSG  
TDYTLTISSMQPEDFATYYC QQRNYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 7)

hu21vKc 可変軽鎖

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC CRASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIY STSNLASGVPSRFSGSGSG  
TDYTLTISSMQPEDFATYYC QQRNYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 8)

【 0 2 8 0 】

本発明の例示的な活性化可能抗CD71抗体としては、例えば、可変重鎖相補性決定領域1 (VH CDR1、本明細書においてCDRH1ともいわれる)配列、可変重鎖相補性決定領域2 (VH CDR2、本明細書においてCDRH2ともいわれる)配列、可変重鎖相補性決定領域3 (VH CDR3、本明細書においてCDRH3ともいわれる)配列、可変軽鎖相補性決定領域1 (VL CDR1、本明細書においてCDRL1ともいわれる)配列、可変軽鎖相補性決定領域2 (VL CDR2、本明細書においてCDRL2ともいわれる)配列および可変軽鎖相補性決定領域3 (VL CDR3、本明細書においてCDRL3ともいわれる)配列の組み合わせを含む活性化可能抗体が挙げられ、ここで少なくとも

10

20

30

40

50

も1つのCDR配列が、アミノ酸配列

GYTFTSYWMH (SEQ ID NO: 9)

を含むVH CDR1配列; アミノ酸配列

AIYPGNSETG (SEQ ID NO: 10)

を含むVH CDR2配列; アミノ酸配列

ENWDPGFAF (SEQ ID NO: 11)

を含むVH CDR3配列; アミノ酸配列

SASSSVYYMY (SEQ ID NO: 12)またはCRASSSVYYMY (SEQ ID NO: 13)

を含むVL CDR1配列; アミノ酸配列

STSNLAS (SEQ ID NO: 14)

を含むVL CDR2配列; およびアミノ酸配列

QQRNYPYT (SEQ ID NO: 15)

を含むVL CDR3配列

からなる群より選択される。

【0281】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、各々の内容が参照によりその全体として本明細書に組み入れられる、PCT公開公報WO 2014/144060、WO 2014/189973、WO 2014/020140、米国特許第8,663,598号、同8,129,503号、同7,736,647号、同7,572,895号、同4,434,156号、米国特許出願公開US2014114054、US20140212423、US2013177579、US2013045206、US20130216476、US20120282176、および/または、中国特許CN101245107Bに示される重鎖アミノ酸配列を含むかまたはそれに由来する重鎖を含む。

【0282】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12に示される重鎖アミノ酸配列を含む、またはそれに由来する重鎖を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12に示される重鎖アミノ酸配列を含む、またはそれに由来する軽鎖を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12に示される重鎖アミノ酸配列を含む、またはそれに由来する重鎖、および表12に示される軽鎖アミノ酸配列を含む、またはそれに由来する軽鎖を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループAに示される組み合わせ由来の重鎖可変領域および軽鎖可変領域配列の組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループBに示される配列由来の重鎖可変領域および軽鎖可変領域配列の組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループCに示される配列由来の重鎖可変領域および軽鎖可変領域配列の組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループDに示される配列由来の重鎖可変領域および軽鎖可変領域配列の組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループEに示される重鎖可変領域および軽鎖可変領域配列の組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループFに示される重鎖可変領域および軽鎖可変領域配列の組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループGに示される配列由来の重鎖可変領域および軽鎖可変領域配列の組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループHに示される配列由来の重鎖可変領域および軽鎖可変領域配列の組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループIに示される重鎖可変領域および軽鎖可変領域配列の組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループJに示される重鎖可変領域配列を含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループJに示される重鎖可変領域配列、または表12のグループKに示される重鎖可変領域および軽鎖可変領域配列の組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループLに示される配列由来の重鎖可変領域および軽鎖可変領域配列の組み合わせを含む。

【0283】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループAに示される重鎖

【 0 2 8 4 】

10

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループCに示される重鎖配列由来の重鎖配列のCDRの組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループCに示される軽鎖配列由来の軽鎖配列のCDRの組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループCに示される重鎖配列由来の重鎖配列のCDRおよび表12のグループCに示される重鎖配列由来の軽鎖配列のCDRの組み合わせを含む。

20

【 0 2 8 7 】

30

40

【 0 2 9 0 】

50

D71抗体は、表12のグループHに示される軽鎖配列由来の軽鎖配列のCDRの組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループHに示される重鎖配列由来の重鎖配列のCDRおよび表12のグループHに示される重鎖配列由来の軽鎖配列のCDRの組み合わせを含む。

【0291】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループIに示される重鎖配列由来の重鎖配列のCDRの組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループIに示される軽鎖配列由来の軽鎖配列のCDRの組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループIに示される重鎖配列由来の重鎖配列のCDRおよび表12のグループIに示される重鎖配列由来の軽鎖配列のCDRの組み合わせを含む。

10

【0292】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループJに示される重鎖配列由来の重鎖配列のCDRの組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループJに示される軽鎖配列由来の軽鎖配列のCDRの組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループJに示される重鎖配列由来の重鎖配列のCDRおよび表12のグループJに示される重鎖配列由来の軽鎖配列のCDRの組み合わせを含む。

【0293】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループKに示される重鎖配列由来の重鎖配列のCDRの組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループKに示される軽鎖配列由来の軽鎖配列のCDRの組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループKに示される重鎖配列由来の重鎖配列のCDRおよび表12のグループKに示される重鎖配列由来の軽鎖配列のCDRの組み合わせを含む。

20

【0294】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループLに示される重鎖配列由来の重鎖配列のCDRの組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループLに示される軽鎖配列由来の軽鎖配列のCDRの組み合わせを含む。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表12のグループLに示される重鎖配列由来の重鎖配列のCDRおよび表12のグループLに示される重鎖配列由来の軽鎖配列のCDRの組み合わせを含む。

30

【0295】

(表12) CD71に結合する活性化可能抗体の可変重鎖領域(VH)および可変軽鎖領域(VL)配列

グループ A	
VH	VT LK V C G P G I L Q P S Q T L G L A C T F S G I S L S T S G M G L S W L R K P S G K A L E W L A S I W N N D N Y Y N P S L K S R L T I S K E T S N N Q V F L K L T S V D T A D S T T Y F C A W R E R T M V T T S M L W T T G V K E P Q S P S (SEQ ID NO: 425)
VL	D I L M T Q S P A S L S A S V G E N V T I T C R A S E N I Y S Y L A W Y Q Q K Q G K S P Q L L L Y K E K T L A E G V S S R F S G S G S G T Q F S L R I N S L Q P E D F G S Y Y C Q H H Y G I P W T F G G G T K L E I K R (SEQ ID NO: 426)
グループ B	
VH	E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T S Y W M H W V R Q A P G Q R L E W I G E I N P T N G R T N Y I E K F K S R A T L T V D K S A S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R G T R A Y H Y W G Q G T M V T V S S (SEQ ID NO: 427)
VH	E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K S G Y T F T D Y A M H W V R Q A P G Q G L E W M G G I S T Y F G R T N Y N Q K F K G R V T M T V D T S I S T A Y M E L S R L R S D D T A V Y Y C A R G L S G N Y V M D Y W G Q G T T V T V S S (SEQ ID NO: 428)
VH	E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T S Y W M H W V R Q A P G Q G L E W I G N I Y P G S G S T K Y D E R F K S R V T I T V D T S T S T A Y L E L S S L R S E D T A V Y Y C T R G G Y D S R A W F A Y W G Q G T L V T V S S (SEQ ID NO: 429)
VH	E V Q L V E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S G N S I T S E Y A W N W I R Q P P G K G L E W I G Y I S Y S G T T S Y N P S L K S R V T I S R D T S K N Q L S L K L S S V T A A D T A V Y Y C A R Y G Y G N P A T R Y F D V W G Q G T L V T V S S (SEQ ID NO: 430)
VH	E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T S Y W M H W V R Q A P G Q R L E W I G E I A P T N G R T N Y I E K F K S R A T L T V D K S A S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R G T R A Y H Y W G Q G T M V T V S S (SEQ ID NO: 431)
VH	E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T S Y W M H W V R Q A P G Q R L E W I G E I N P A N G R T N Y I E K F K S R A T L T V D K S A S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R G T R A Y H Y W G Q G T M V T V S S (SEQ ID NO: 432)
VL	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S D N L Y S N L A W Y Q Q K P G K S P K L L V Y D A T N L A D G V P S R F S G S G S G T D Y T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q H F W G T P L T F G Q G T K V E I K (SEQ ID NO: 433)
VL	D I V M T Q S P D S L A V S L G E R A T I N C R A S E S V D S Y G N S F M H W Y Q Q K P G Q P P K L L I Y R A S N L E S G V P D R F S G S G S R T D F T L T I S S L Q A E D V A V Y Y C Q Q S N E A P P T F G Q G T K L E I K (SEQ ID NO: 434)
VL	D I V M T Q S P D S L A V S L G E R A T I N C R A R Q S V S T S S Y S F M H W Y Q Q P A G Q P P K L L I K Y A S I Q E S G V P D R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q A E D V A V Y Y C Q H T W E I P F T F G Q G T K V E I K (SEQ ID NO: 435)
VL	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S K S I S K Y L A W Y Q Q K P G K T N K L L Y S G S T L Q S G V P S R F S G S G S G T D Y T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q H N E Y P W T F G Q G T K V E I K (SEQ ID NO: 436)
VL	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S D N L Y S N L A W Y Q Q K P G K S P K L L V Y D A T N L A D G V P S R F S G S G S G T D Y T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q H F A G T P L T F G Q G T K V E I K (SEQ ID NO: 437)
グループ C	
VH	E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S N Y G M H W I R Q A P G K G L E W I A M I Y D S S K M N Y A D T V K G R F T I S R D N A K N S L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A V P T S H Y V V D V W G Q G T T V T V S S (SEQ ID NO: 438)

10

20

30

VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSNYGMHWIRQAPGQGLEWIAMIIYYDSSKMNYADTVKGRFTITR DNSTNTLYMELSSSLRSEDTAVYYCAVPTSHYVVDVWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 440)
VH	EVQLVESGGGLVQPGLNSLTSLSCVASGFTFSNYGMHWIRQAPKKGLEWIAMIIYYDSSKMNYADTVKGRFTISR DNSKNTLYLEMNSLRSEDTAMYYCAVPTSHYVVDVWGQGVSVTVSS (SEQ ID NO: 442)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGYTFTNYDIHWVRQAPGQGLEWMGWIYPGDGSTKYNEKFGRVTITA DESTSTAYMELSSSLRSEDTAVYYCAREWAYWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 443)
VH	EVQLQQSGAVLVKPGASVKLSCLPASGFNIKDTYIHWVIQRPEQGLEWIGRIDPANGDTKCDPKFQVKATITA DTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYFCVRDYLPPYFDWVGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 988)
VH	QSMEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSYAMSWVRQAPGKGLEWIGYIWSGGSTDYASWAKGRFTISKTS TTVDLKITSETTEDTATYFCARRYGTSYPDYGDANGFDPWPGTLTVTVSS (SEQ ID NO: 989)
VL	DIQMTQSPASLSASLEEIVTITCQASQDIGNWLAWYQQKPGKSPQLLIYGATSLADGVPSRFGSGRSGTQFS LKISRVQVEDIGIYYCLQAYNTPWTFGGGTKLELK (SEQ ID NO: 985)
VL	DIQMTQSPASLSASLEEIVTITCQASQDIGNWLAWYQQKPGKSPQLLIYGATSLADGVPSRFGSGRSGTQFS LKISRVQVEDIGIYYCLQAYNTPWTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 986)
VL	KIVMTQSPKSMSSVGERVTLCNCRASESDVTYVSWYQQKPEQSPPELLIYGASNRYTGVPDRFTGSGSATDFT LTISVQAEDLADYYCGQTYNYPLTFGAGTKLELKR (SEQ ID NO: 987)
VL	AYDMTQTPASVEVAVGGTVTIKQASQSISSYLSWYQQKPGQRPKLLIYRASTLASGVSSRFKSGSGTQFT LTISGVECADEATYYCQQCYSSSNVDNTFGGGTEVVVKR (SEQ ID NO: 990)
グループ D	
VH	MEWSWIFLFLLSGTAGVLSEVELQQFGIEMVKPGASVKISCKASGYIFTDYHMDWVRQSHGKSLEWIGDIDP KYDRVITYNQKFKGKASLTADKSSSTAYMELRSLTSEDTAVYYCAKTGAYGDYLAYWGQGTITVTVSA (SEQ ID NO: 444)
VH	MGWSYIILFLVATATGVHSSQVQLQQPGAELVKPGTSVKLSCKASGYNFTSYWINWVKLRPGQGLEWIGDIYP GSGSTNYNEKFKSKATLTVDTSSTAYMQLSSLASEDSALYYCARSAYRYDWFAYWGQGTITVTVSA (SEQ ID NO: 445)
VH	MLLGLKWVFFVVFYQGVHCEVQLVESGGGLVQPKGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRS KSNYYATYYADSVKDRFTISRDDSQSMYLYQMNNLKTEDTAMYYCVAYGSRNYWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 446)
VH	MGWSWIFLFLLSGTAGVHSEVQLQQSGPEVVKPGASMKMSCKTSGYKFTGYMDWVKQSLGASFEGWIGRVIP SNGDTRYNQKFEKGATLTVDRSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARKPLSGNAADYWGQGTITVTVST (SEQ ID NO: 447)
HC	EVQLQQSGPEVVKPGASMKMSCKTSGYKFTGYMDWVKQSLGASFEGWIGRVIPSNGDTRYNQKFEKGATLTV DRSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARKPLSGNAADYWGQGTITVTVSTASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 448)

10

20

30

40

VL	MKLPVRLVLVLMFWIPASSSDLVMTQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQSLVHSDGNTYFYWYLQKPGQSPKLLI YKVS NRFS GVPDRFSAGGSGTYFTLKISRVEAEDLG VYFCSQTHFPPTFGGGTKLEIKR (SEQ ID NO: 449)
VL	MSVPTQVLGLLLLWLTDARCDIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASENIYSNLAWYQQKQKSPQLLVYAAT NLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINS LQSEDFGSYYCQHFWGTPYTFGGGTKEIKR (SEQ ID NO: 450)
VL	MESQTQVLM SLLFWVSGTCGDIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLN SGNQKNYLTWYQQKPGQPPKL LIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPYTFGGGTKEIKR (SEQ ID NO: 451)
VL	MTMLS LAPLLS LLLLCVSDSRAETTVTQSPASLSVATGEKVTIRCITSTDDDDMNWYQQKPGEPKLLISD GNTLRPGVPSRFS SSGYGTDFVFTIENTLSE DITDY YCMQSDNMPFTFGSGTKLEIKR (SEQ ID NO: 452)
LC	ETTVTQSPASLSVATGEKVTIRCITSTDDDDMNWYQQKPGEPKLLISD GNTLRPGVPSRFS SSGYGTDFV FTIENTLSE DITDY YCMQSDNMPFTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 453)
グループ E	
VH	MEWSWVMLFLLSGTAGVRSEVQLQQSGPELVKPGASKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGENLEWIGRINP HNGGTDYNQKFKDKAPLTVDKSSNTAYMELLSLTSEDSAVYYCARGY YYYSLDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 454)
VL	MDFQVQIFSFLLISASVILSRGQIVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCSASSSIDYIHWYQQKSGTSPKRWIYDT SKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEPEDAATYYCHQRNSYPWTFGGGTRLEIR (SEQ ID NO: 455)
グループ F	
VH	MAQVQLLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFI FNT EYMAWVRQAPGKGLEWVSAIKEQSGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAQMHHEAEVKFWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 456)
VH	MAQVQLLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFKFSAEYMSWVRQAPGKGLEWVSTIKMNGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKHTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARPMAWRGNVVRAENLRFWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 457)
グループ G	
VH	MEFGLSWLFLVAILKGVQCEVQLQQSGTVLARP GASVKMSCKASGYSFTIYWIHWVKQRPQG LEWIATIYP GNSDIIYNQKFKGKAKLTAVTSASTAYMELSSLTNEASAVYYCTRQGYDY YAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 458)
VL	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCDVQITQSPSYLAASPGETIIINCRASKSISKYLAWYQEKPGKTNKLLIYS GSTLQSGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLEPQDFAMYYCQQHNEYPWTFGGGTKEIK (SEQ ID NO: 459)
VL	NIVMTQSPKSM SMSVGERVTLTCKASENVVTYVSWYQQKPEQSPKLLIYGASNRYTGVPDRFTGSGSATDFT LTISSVQAEDLADYHCGQGYSPYTFGGGTKEIKR (SEQ ID NO: 460)

10

20

30

40

VL	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCDVQITQSPSYLAASPGETIIINCRASKSISKYLAWYQEKPGKTNKLLIYS GSTLQSGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSELPQDFAMYYCQHNEYPWTFGGGTKLEIKR (SEQ ID NO: 461)
VL	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCDVQITQSPSYLAASPGETIIINCRASKSISKYLAWYQEKPGKTNKLLIYS GSTLQSGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSELPQDFAMYYCQHNEYPWTFGGGTKLQIK (SEQ ID NO: 462)
VL	NIVMTQSPKSMMSVGERVTLTCKASENVVTYVSWYQQKPEQSPKLLIYGASNRYTGVPDRFTGSGSATDFT LTISVQAEDLADYHCGQGYSPYTFGGGTKLQIKR (SEQ ID NO: 463)
VL	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCDVQITQSPSYLAASPGETIIINCRASKSISKYLAWYQEKPGKTNKLLIYS GSTLQSGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSELPQDFAMYYCQHNEYPWTFGGGTKLQIKR (SEQ ID NO: 464)
グループ H	
VH	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYTMHWVRQAPGKGLEWVADIAYDGSTKYYADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDVAGEGYFDLWGRGTLTVS (SEQ ID NO: 465)
VH	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSASGMHWVRQAPGKGLEWMAFIAYDGNQKFYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMDSLRGEDTAVYYCAKEMQREGYFDYWGQGTTLTVS (SEQ ID NO: 466)
VH	QVQLAESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSISTSGSSIYYVDSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMDSLRDDDTAVYYCARDLHGDIYAFDSWGQGTTLTVS (SEQ ID NO: 467)
VH	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVVSSWSHFYWGQGTTLTVS (SEQ ID NO: 468)
VH	QVQLVESGGGLVEPGGSLRLSCAASGFTFSNYAINWVRQAPGKGLEWVANIHHDGNGKYYVDSVEGRFTISR DNAKNSLYLQMDSLRAEDTAIYYCARDGYGGYLDLWGQGTTLTVS (SEQ ID NO: 469)
VH	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFTFSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLSGYGDYPDYWGQGTTLTVS (SEQ ID NO: 470)
VL	SNFMLTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLYIGKNNRPSGIPDRFSGSKSGNSAS LDISGLQSEDEADYYCATWDDNLSGPIFGGGTKVTVLG (SEQ ID NO: 471)
VL	SQSALTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSAS LAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSAWVFGGGTKLTVLG (SEQ ID NO: 472)
VL	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLYIGKNNRPSGIPDRFSGSKSGNSASL DISGLQSEDEADYYCATWDDNLSGPIFGGGTKVTVLG (SEQ ID NO: 473)
VL	SDVMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQYISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEF TLTISLQPEDFATYYCQESYNTPLFTFGPGTKLEIKR (SEQ ID NO: 474)
VL	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLYIGKNNRPSGIPDRFSGSGSGNTASL TITGAQAEDEADYYCAAWDDSLSGPVFGGGTKVTVLG (SEQ ID NO: 475)
VL	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLYMYGRNERPSGVPDRFSGSKSGTSASL AISGLQPEDEANYYCAGWDDSLTGPVFGGGTKLTVLG (SEQ ID NO: 476)

10

20

30

40

VH / VL	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFNTYTMHWVRQAPGKGLEWVADIAYDGSTKYYADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD <u>AVAGEGYFDL</u> WGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQDPA VSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSED EADYYCAAWDDSLSAWVFGGGTKLTVLG (SEQ ID NO: 477)
VH / VL	QVQLQQSGGGVVPGGSLRLSCAASEFTFSASGMHWVRQAPGKGLEWMAFIAYDGNQKFYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRLGEDTAVYYCAKEMQREGYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSNFMILTQDPAV SVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGNKNNRPSGIPDRFSGSKSGNSASLDISGLQSEDE ADYYCATWDDNLSGPIFGGGTKVTVLG (SEQ ID NO: 478)
VH / VL	QVQLAESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWIRQAPGKGLEWVSISTSGSSIYYVDSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRDDDTAVYYCARDLHGDIYAFDSWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSELTQDPAVS VALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGNKNNRPSGIPDRFSGSKSGNSASLDISGLQSEDEA DYCATWDDNLSGPIFGGGTKVTVLG (SEQ ID NO: 479)
VH / VL	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSSSWSHFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDVMTQSPST LSASVGDRVITITCRASQYISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPED FATYYCQESYNTPLFTFGPGTKLEIKR (SEQ ID NO: 480)
VH / VL	QVQLVESGGGLVEPGGSLRLSCAASGFTFSNYAINWVRQAPGKGLEWVANIHHDGNGKYYVDSVEGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAIYYCARDGYGGYLDLWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSELTQDPAVSV ALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGNKNNRPSGIPDRFSGSGSGNTASLTITGAQAEDEAD YYCAAWDDSLSGPVFGGGTKVTVLG (SEQ ID NO: 481)
VH / VL	QVQLQESGGGVVPGRSLRLSCAASRFTFSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLSGYGDYPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSELTQDPAV SVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVMIYGRNERPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQPEDE ANYCAGWDDSLTGPVFGGGTKLTVLG (SEQ ID NO: 482)
グループ I	
VH	MEFGLSWLFLVAILKGVQCEVQLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYSFTIYWIHWVKQRPQGLEWIATYIP GNSDIIYNQKFKGAKLTAVTSASTAYMELSSLTNEASAVYYCTRQGYDYAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 483)
VL	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCDVQITQSPSYLAASPGETIIINCRASKSISKYLAWYQEKPGKTNKLLIYS GSTLQSGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSELPQDFAMYYCQHNEYPWTFGGGTKLEIKR (SEQ ID NO: 484)
グループ J	
VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFAHETMVWVRQAPGKGLEWVSHIPPVGQDPFYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCALLPKRGPWFYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 485)
グループ K	
VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFAHETMVWVRQAPGKGLEWVSHIPPVGQDPFYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCALLPKRGPWFYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 485)

10

20

30

40

VH / VL	MASYELTQPPSVSVAPGQTARITCSGDALGNKYASWYQQKPGQAPVLIYEDSKRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISGTQAEDEADYYCSSGDSPCRAFGGGTKLTVLGSGGSTITSYNVYYTKLSSSGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARHSIYRCFFAVWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 487)
グループ L	
VH	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFPFKSYGMQWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSSRYADSVKGRFTISR DNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGALWGGYYSPVDVWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 999)
VH	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFPFKSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISR DNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGALWGGYYSPVDVWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 1000)
VH	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFPFKSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSKYYADSVKGRFTISR DNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGALWGGYYSPVDVWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 1001)
VH	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFPFKSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSSRYADSVKGRFTISR DNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGALWGGYYSPVDVWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 1002)
VH	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFPFKSYGMQWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSSRYADSVKGRFTISR DNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGALWGGYYSPVDVWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 1003)
VH	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMQWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSSRYADSVKGRFTISR DNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGALWGGYYSPVDVWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 1004)
VH	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMQWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSSRYADSVKGRFTISR DNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGALWGGYYSPVDVWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 1005)
VH	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMQWVRQAPGKGLEWVVISFDGGRYYADSVKGRFTISR DNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGALWGGYYSPVDVWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 1006)
VH	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMQWVRQAPGKGLEWVSIVSFDGGRYYADSIGRFTISR NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGALWGGYYSPIDVWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 1007)
VL	DFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYVQWYQQRPGSSPTTVIYEDNQRPSPGVPDRFSGSIDSSN SASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSNHWFVGGGTKLAVL (SEQ ID NO: 1008)
VL	DFMLTQPPSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYVQWYQQRPGSSPTTVIYEDNQRPSPGVPDRFSGSIDSSN SASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSNQWVFGGKTKLAVL (SEQ ID NO: 1009)
VL	QSXLTPPSVSGSPGQSVTISCTGSSSNIISXNYVSWYQXPGTAPKLMYENNKRPSPGVPDRFSGSKXXSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSDSSLSX (SEQ ID NO: 1010)
VL	DSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGSSSNIISNSVQWYQQLPGTAPKTVIYEDTQRPSPGVPDRFSGSKDSSG NTASLTISGLQAEDEADYYCQSYDSAYHWVFGGKTKLAVL (SEQ ID NO: 1011)
VL	DSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGSSSNIISNSVQWYQQLPGTAPKTVIYENTQRPSPGVPDRFSGSKDSSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSDSAYHWVFGGKTKLAVL (SEQ ID NO: 1012)
VL	DFMLTQPHSVSESPGKTVIISCTRSDGTIAGYYVQWYQQRPGRAPTTVIFEDTQRPSPGVPDRFSGSIDRSSN SASLTISGLQTEDEADYYCQSYDRDHWVFGGKTKLTVLG (SEQ ID NO: 1013)
VL	DFMLTQPHSVSESPGKTVIISCTRSDGTIAGYYVQWYQQRPGRAPTTVIFEDTQRPSPGVPDRFSGSIDRSSN SASLTISGLQTEDEADYYCQSYDSRDHWVFGGKTKLTVL (SEQ ID NO: 1014)
VL	DFMLTQPPSVSESPGKTVIISCTRSTGTIASNSVQWYQQRPGRAPTTVIFDETQRPSPGVPDRFSGSIDRSSN SASLTISGLQTEDEADYYCQSYDSRDQWVFGGKTKLTVL (SEQ ID NO: 1015)

10

20

30

40

VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQISNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLESQVPSRFSGSGSGTDEFT LTISSLQPEDFATYYCQQYNLPTWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1016)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQIASNSVQWYQQKPGKAPKTVIYEDTQLESQVPSRFSGSGSGTDEFT LTISSLQPEDFATYYCQSYDSAYHWVFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1017)
VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESQVPSRFSGSGSGTDEFT LTISSLQPDDEFATYYCQQYNSYS (SEQ ID NO: 1018)
VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQIASNSVQWYQQKPGKAPKTVIYEDTQLESQVPSRFSGSGSGTDEFT LTISSLQPDDEFATYYCQSYDSAYHWVFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1019)
VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQIASNSVQWYQQKPGKAPKTVIYEDTQLESQVPSRFSGSGSGTDEFT LTISSLQPDDEFATYYCQSYNSAYHWVFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1020)
VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQIASNSVQWYQQKPGKAPKTVIYEDTQLESQVPSRFSGSGSGTDEFT LTISSLQPDDEFATYYCQSYNSAYQWVFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1021)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGI RNDLTWYQQKPGTAPKRLIYGATSLQSGVPSRFSGSGSGTDEFT LTINSLQPEDFATYYCLQYSSFPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1022)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQIASNSVQWYQQKPGTAPKTVIYEDTQLESQVPSRFSGSGSGTDEFT LTINSLQPEDFATYYCQSYDSAYHWVFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1023)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQIASNSVQWYQQKPGTAPKTVIYEDTQLESQVPSRFSGSGSGTDEFT LTINSLQPEDFATYYCQSYNSAYHWVFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1024)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQIASNSVQWYQQKPGTAPKTVIYEDTQLESQVPSRFSGSGSGTDEFT LTINSLQPEDFATYYCQSYNSAYQWVFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1025)

10

20

30

(VH/VL = VLに連結されているVH)

## 【0296】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、表13に示されるCDR配列、表13の単一系列内に示される組み合わせからなる群より選択されるVL CDR配列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3)の組み合わせ、表13に示される組み合わせからなる群より選択されるVH CDR配列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)の組み合わせ、または表13に示される組み合わせからなる群より選択されるVL CDRおよびVH CDR配列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)の組み合わせを含む。

## 【0297】

(表13) CD71に結合する抗体および活性化可能抗体のCDR配列

グループ A

VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)	CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)
TSGMGL (488)	ASIWNNDNYNPS LKS (489)	AWRERTMVTTS MLWT (490)	RASENIYSYL A (491)	KEKTLAE (492)	QHGYGIPWT (493)

	GISTYFGRITNYNQ KFKG (494)	GLSGNYVMDY (495)
	VIS(F/P)YSGKT NYSQNFVG (501)	GLSGNFVDF (502)
	EINPTNGRTNYIE KFKS (506)	YGYGNPATRYF DV (507)
	EINP(I/S)NGRT NY(N/S)E(N/T) FKK (511)	GLSGNYVMDY (495)
	NIYPGSGSTKYDE RFKS (516)	GLSGNYVVDY (517)
	(S/G)I(S/L)NG GDNTYY(P/N)D( K/T)VKG (521)	GLSGNFVMDY (522)
	VISPYSGRTNYNQ NFKG (525)	GTRAYHY (526)
	EIAPTNGRTNYIE KFKS (528)	GTRAYHF (529)
	VISFYSGKITNYNQ KFMG (531)	GTRAYHY (526)
	VISPYSGKITNYSQ KFKG (534)	GTRAYHF (529)
	EINPTNGRTNYIE KFK (537)	GGYDSRAWFAY (538)
	EINPTNGRTNYNE NFKS (540)	GGYDSRAWFAH (541)
	EINPINGRTNYSE KFKK (543)	QGALYDGYRG AMDY (544)
	YISYSGTTSYNPS LKS (546)	RGYGYDGEFA Y (547)
	NIYPGSGSTKYDE RFKS (516)	
	NIYPGSGSTKYDE KFKS (551)	
	SISNGGDNTIYYP TVK (553)	
	EILPGSGSTKYNE KFKG (555)	

グループ B

VH		
CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)
GFTFSNYGMH (558)	MIYYDSSKM NYADTVKG (559)	PTSHYVVDV (560)
GFTFSNYGMH (561)	MIYYDSSKM NYADTVKG (559)	PTSHYVVDV (563)
GYTFTNYDIH (564)	MIYYDSSK MNYADTVK G (559)	PTSHYVVDV (566)
	WIYPGDGST KYNEKFKG (567)	YWGQGTTV (578)

RASESVDSYG NSFMH (496)	RASNLES (497)	QQSNEAPPT (500)
RASESVDDYP NSFMH (503)	DATNLAD (504)	QHSNE(G/D)PPT (505)
RASENLYSNL A (508)	DATDLAD (509)	QHFAGTPLT (510)
RASDNIYSNL A (513)	YASIQES (514)	GGYDSRAWFRGAMA Y (515)
RARQSVSTSS YSFMH (518)	STS(N/R)L(A/H) S (519)	(Q/R)G(A/G)(L/ Y)(Y/G)(D/Y)(G /D)(Y/ G)(Y/G)(F or Absent)DH (520)
TT(S/G)S(V /D)(P/I)(S /T)NY(F/L) N (523)		QQSNEAPPT (524)
		QQSNEGPPT (527)
		GISTYFGRITNYNQ FK (530)
		QHSNEDPPT (533)
		QHFAGTPLT (510)
		QHFAGTPLM (539)
		QQHNEYPWT (542)
		QHTWEIPFT (545)
		HQYHRSPFT (548)
		QQANTLPYT (550)
		QHTWEIPFT (552)
		HQ(Y/A)(H/N)(R /T)(S/L)PYT (554)
		QQSNEAPPT (556)
		QHFAGTPLT (557)

10

20

30

40

## グループ C

VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)	CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)
TYTMH (579)	DIAYDGSTKYY ADSVKG (580)	DAVAGEGYFDL (581)	QGDSLRSYYA S (582)	RNNQRPS (583)	AAWDDSLSAWV (584)
ASGMH (585)	FLAYDGNQKYY ADSVKG (586)	EMQREGYFDY (587)	QGDSLRSYYA S (582)	GKNNRPS (589)	ATWDDNLSGPI (590)
DYYMS (591)	YISTSGSSIYY VDSVKG (592)	DLHGDYAFDS (593)	QGDSLRSYYA S (582)	GKNNRPS (589)	ATWDDNLSGPI (590)
SYAMS (597)	AISGSGGSTYY ADSVKG (598)	VSSWSHFYD (599)	RASQYISNWL A (600)	KASSLES (601)	QESYNTPLFT (602)
NYAIN (603)	NIHHDGNKYY VDSVEG (604)	DGYGGYLDL (605)	QGDSLRSYYA S (582)	GKNNRPS (589)	AAWDDSLSGPV (608)
SYAMH (609)	VISYDGSNKYY ADSVKG (610)	DLSGYGDYPDY (611)	QGDSLRSYYA S (582)	GRNERPS (613)	AGWDDSLTGPV (614)

10

## グループ D

VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)	CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)
米国特許出願公開第2014/0114054号の段落[0060]、 [00150]および/または[00151]に示されている VH CDRの組み合わせのうちのいずれか			米国特許出願公開第2014/0114054号の段落[0060]、 [00150]および/または[00151]に示されている VL CDRの組み合わせのうちのいずれか		
TSGVGVG (439)	LIYWDDDKHYS PSLKS (441)	NGDYGIEFDY (486)	GGNNIGSKSV H (512)	YDSRPS (516)	QVWDSSSDHVV (532)
SYSMN (535)	SISSSSSYIYY ADSVKG (536)	ARESVDAFDI (562)	QGDSLRSYDA S (565)	GLSDRPS (588)	ISRDSGGNPH (594)
SYAMS (597)	AISGSGGSTYY ADSVKG (598)	GYYGSNYYYGMD V (595)	SGSSSNIGSN YVY (596)	RNNQRPS (583)	AAWDDSLSGPV (608)
DFVFS (606)	WISAHDGNTNY AQKLQD (607)	DTFTNLLGDYSY DAMDV (612)	GSSTGAVTSG HYPY (909)	DTTEKHS (910)	LLSSGDGRAV (911)
NYGMS (912)	WISAYNGNTNY GEKLQG (913)	DDYYGSGVDAFD I (914)	GGNKIGSKSV H (915)	YDRDRPS (916)	QVWDSSSDVV (917)
SYGMH (918)	VISFDGSSKYY ADSVKG (919)	DSNFWSGYYSPV DV (920)	TRSSGSIASN SVQ (921)	YEDTQRPS (922)	QSYDSAYHWV (923)
SYWLS (924)	KIDPSDSYTQY SPSFEG (925)	HGYDAFHV (926)	SGSSSNIGNN AVN (927)	YDDLPS (928)	AAWDDSLNGWV (929)
DYAMH (930)	GISWNSGSIGY ADSVKG (931)	DQHREFYYYGMD V (932)	SGSSSNIGSN YVY (596)	RNNQRPS (583)	AAWDDSLSGPV (608)
SYWIG (933)	IIYPGDSOTRY SPSFQG (934)	QGTNWGVGDAFD I (935)	GGNNIGSKSV H (512)	DDSDRPS (936)	QVWDISSDHVV (937)
SYAMS (597)	AISGSGGSTYY ADSVKG (598)	DRYYYGSGSYD AFDI (938)	QGDSLRSYYA S (582)	GKNNRPS (589)	NSRDSSGNHVV (939)
SYSMN (535)	VISYDGSNKYY ADSVKG (610)	VDPGDRGWYFDL (940)	SGSSSNIGSN TVN (941)	SNNQRPS (942)	AAWDDSLNGWV (929)
SSPYYWG (943)	SVYYSGNTYYN PSLTR (944)	HSWGINDAFDV (945)	SGSSSNIGNN YVS (946)	DNNKRPS (947)	GTWDDSLSVWV (948)

20

30

40

DYAMH (930)	GISWNSGSIDY ADSVKG (949)	ENLAVAGLDY (950)	QGDSLRLGYA S (951)	DKNTRPS (952)	QSRDMSGEMVV (953)
ELSMH (954)	GFDPEDGETIY AQKFQG (955)	DAYYSGSGSPRDA FDI (956)	GGDNVGGKSL H (957)	DDRDRPS (958)	QVWDDISRLVI (959)
SYIYH (960)	IINPRGGGTDF AQKFQG (961)	GDCTNGVCYSGG LDV (962)	SGSSSNIGNN YVS (946)	DNDKRPS (963)	GTWDNSLSGV (964)
DYAMH (930)	GISWNSGSIGY ADSVKG (931)	DVDLWFGYYFD Y (965)	SGSSSNIGNN YVS (946)	DNNKRPS (947)	GTWDSSLSAPYV (966)
DYAMY (967)	GINWNSAIGY ADSVKG (968)	EALYYSAFFDS (969)	SGSSSNIGNN YVS (946)	DNNKRPS (947)	GTWDSSLSAWV (970)
DYAMH (930)	GINWNGGSTDY ADSVKG (971)	DYADLGSAGDY (972)	SGSRNIGSN YVH (973)	RNDQRPS (974)	ASWDDKMSGRL (975)
SYEMN (976)	YISSSGSTIYY ADSVKG (977)	HSNYDILTGYST DAFDI (978)	TGTSSDIGFY DSVS (979)	DVSNRPS (980)	TSNTKTNTLYV (981)
RCNYWWT (982)	SVHYSGSTNYN PSLKS (983)	DSDYGDYYFDY (984)	QGDSLRLGYA S (582)	GKNNRPS (589)	NSRDSSGNHVV (939)

## グループ E

VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)	CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)
SYGMH (918)	VISFDGSSKYY ADSVK (919)	DGNFWSGYYSPV DV (1026)	TRSSGSIASN SVQ (921)	YEDTQRPS (922)	QSYDSAYHWV (923)
SYGMH (918)	VISFDGSSKYY ADSVK (919)	DSAFWSGYYSPV DV (991)			
SYGMH (918)	VISFDGSSKYY ADSVK (919)	DSNLWSGYYSPV DV (992)			
SYGMH (918)	VISFDGSSKYY ADSVK (919)	DSNFWGGYYSPV DV (993)			
SYGMH (918)	VISFDGSSKYY ADSVK (919)	DSALWGGYYSPV DV (994)			
SYGMH (918)	VISFDGSSKYY ADSVK (919)	DGNLWGGYYSPV DV (995)			
SYGMH (918)	VISFDGSSKYY ADSVK (919)	DGAFWGGYYSPV DV (996)			
SYGMH (918)	VISFDGSSKYY ADSVK (919)	DGALWSGYYSPV DV (997)			
SYGMH (918)	VISFDGSSKYY ADSVK (919)	DGALWGGYYSPV DV (998)			
SYGMH (918)	VISYDGSKYY ADSVKG (1027)	DSNFWSGYYSPV DV (920)			
SYGMH (918)	VISYDGSNKYY ADSVKG (610)	DSNFWSGYYSPV DV (920)			

## グループ F

VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)	CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)
FSLSSY (1028)	WS	GTSYDPDYGANG FD (1029)	QSISY (1030)	RAS (1031)	CYSSSNVDN (1032)
GFNIKDT (1033)	ANG	YLYPYFD (1034)	SESVDY (1035)	GAS	TYNYPL (1036)

## 【 0 2 9 8 】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、例えば、米国特許第7,736,647号に開示されているようにBA120と称し、番号CNCM I-3449の下で2005年6月14日にCollection Nationale de Cultures de Microorganismes (CNCM) (パスツール研究所、Paris, France, 25, Rue du Docteur Roux, F-75724, Paris, Cedex 15) に寄託されたハイブリドーマ、米国特許第7,572,895号に開示され、PTA-6055の下でATCCに寄託されたハイブリドーマ、PCT公開公報WO 2014/020140およびWO 2005/111082に開示され、番号1-2665の下で2001年5月10日にCNCMに寄託されたハイブリドーマ、米国特許第4,434,156号に開示され、H

10

20

30

40

50

B-8094の下でATCCに寄託されたハイブリドーマ、米国特許第5,648,469号に開示され、HB-11011およびHB-11010の下でATCCに寄託されたハイブリドーマのようなハイブリドーマにより製造され、分泌されまたはその他の方法で産生される抗体を含むか、またはそれに由来する。

【 0 2 9 9 】

本開示の活性化可能抗体における抗CD71抗体およびABは、例えば、哺乳動物CD71および/またはヒトCD71のような、CD71標的に特異的に結合する。本開示の抗体および/または本明細書において記述される活性化された活性化可能抗体と同じCD71エピトープに結合する抗CD71抗体およびABも本開示に含まれる。CD71標的、例えばヒトCD71に対する結合について、本明細書において記述される抗CD71抗体および/または活性化された抗CD71活性化可能抗体と競合する抗CD71抗体およびABも本開示に含まれる。CD71標的、例えばヒトCD71に対する結合について、本明細書において記述される抗CD71抗体および/または活性化された抗CD71活性化可能抗体と交差競合する抗CD71抗体およびABも本開示に含まれる。

10

【 0 3 0 0 】

本明細書で提供される活性化可能抗CD71抗体は、マスキング部分を含む。いくつかの態様において、マスキング部分は、抗CD71抗体にカップリングされるかまたは別の方法で付加されるアミノ酸配列であり、マスキング部分が、抗CD71抗体のCD71に特異的に結合する能力を低減させるように、活性化可能抗CD71抗体構築物内に位置づけられる。好適なマスキング部分は、様々な公知の技法のいずれかを用いて特定される。例えば、ペプチドマスキング部分は、DaughertyらによるPCT公開公報第WO 2009/025846号に記載されている方法を用いて特定され、それらの内容は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

20

【 0 3 0 1 】

本明細書で提供される活性化可能抗CD71抗体は、切断可能部分を含む。いくつかの態様において、切断可能部分は、プロテアーゼ、通常は細胞外プロテアーゼに対する基質であるアミノ酸配列を含む。好適な基質は、様々な公知の技法のいずれかを用いて特定される。例えば、ペプチド基質は、Daughertyらによる米国特許第7,666,817号；Staglianoらによる米国特許第8,563,269号；およびLa PorteらによるPCT公開公報第WO 2014/026136号に記載されている方法を用いて特定され、それらの各々の内容は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。(Boulware et al. "Evolutionary optimization of peptide substrates for proteases that exhibit rapid hydrolysis kinetics." Biotechnol Bioeng. 106.3 (2010): 339-46も参照されたい。)

30

【 0 3 0 2 】

例示的な基質には、表4に列挙される以下の酵素またはプロテアーゼのうちの1つまたは複数によって切断可能な基質が含まれるが、それらに限定されない。

【 0 3 0 3 】

( 表 4 ) 例示的なプロテアーゼおよび/または酵素

ADAM類、ADAMT類、例えば ADAM8 ADAM9 ADAM10 ADAM12 ADAM15 ADAM17/TACE ADAMDEC1 ADAMTS1 ADAMTS4 ADAMTS5	システインプロテイナーゼ類、例えば クルジパイン レグマイン オツパイン-2	セリンプロテアーゼ類、例えば 活性化プロテインC カテプシンA カテプシンG キマーゼ 凝固因子プロテアーゼ類 (例えば、FVIIa, FIXa, FXa, FXIa, FXIIa)
	KLK類、例えば KLK4 KLK5 KLK6 KLK7 KLK8 KLK10	エラスターゼ グランザイムB グアニジノベンゾアターゼ HtrA1
アスパラギン酸プロテアーゼ類、例えば BACE レニン	KLK11 KLK13 KLK14	ヒト好中球エラスターゼ ラクトフェリン マラプシン NS3/4A PACE4 プラスミン PSA iPA トロンビン トリプターゼ uPA
アスパラギン酸カテプシン類、例えば カテプシンD カテプシンE	メタロプロテイナーゼ類、例えば メプリン ネプリライシン PSMA BMP-1	II型膜貫通 セリンプロテアーゼ (TTSP) 類、例えば DESC1 DPP-4 FAP ヘプシン マトリプターゼ-2 MT-SP1/マトリプターゼ TMPRSS2 TMPRSS3 TMPRSS4
カスパーゼ類、例えば カスパーゼ 1 カスパーゼ 2 カスパーゼ 3 カスパーゼ 4 カスパーゼ 5 カスパーゼ 6 カスパーゼ 7 カスパーゼ 8 カスパーゼ 9 カスパーゼ 10 カスパーゼ 14	MMP類、例えば MMP1 MMP2 MMP3 MMP7 MMP8 MMP9 MMP10 MMP11 MMP12 MMP13 MMP14 MMP15 MMP16 MMP17 MMP19 MMP20 MMP23 MMP24 MMP26 MMP27	
システインカテプシン類、例えば カテプシンB カテプシンC カテプシンK カテプシンL カテプシンS カテプシンV/L2 カテプシンX/Z/P		

10

20

30

40

## 【 0 3 0 4 】

本明細書に記載される活性化可能抗CD71抗体は、抗体治療法、とりわけ、インビボで少なくともある程度まで毒性であることが公知である抗体治療法の限界を克服する。標的媒介性毒性は、治療用抗体の開発にとって大きな制限となっている。本明細書で提供される活性化可能抗CD71抗体は、伝統的な治療用抗体による正常組織中の標的の阻害と関連する毒性に対処するように設計されている。これらの活性化可能抗CD71抗体は、疾患の部位でタンパク質分解性に活性化されるまでマスクされたままである。親治療用抗体として抗CD71抗体から出発して、本発明の活性化可能抗CD71抗体を、プロテアーゼ基質を組み込むリンカーを通して抗体を阻害性マスクにカップリングすることによって作製した。

## 【 0 3 0 5 】

50

ABがMMで修飾され、かつ標的の存在下にある場合、ABのその標的に対する特異的結合は、標的に対する、MMで修飾されていないABの特異的結合または親ABの特異的結合と比較して、低減または阻害される。

【0306】

標的に対する、MMで修飾されたABの $K_d$ は、標的に対する、MMで修飾されていないABまたは親ABの $K_d$ よりも、少なくとも5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000倍もしくはそれよりも大きい、または、5~10、10~100、10~1,000、10~10,000、10~100,000、10~1,000,000、10~10,000,000、100~1,000、100~10,000、100~100,000、100~1,000,000、100~10,000,000、1,000~10,000、1,000~100,000、1,000~1,000,000、1000~10,000,000、10,000~100,000、10,000~1,000,000、10,000~10,000,000、100,000~1,000,000、もしくは100,000~10,000,000倍大きい。逆に、標的に対する、MMで修飾されたABの結合親和性は、標的に対する、MMで修飾されていないABまたは親ABの結合親和性よりも、少なくとも2、3、4、5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000倍もしくはそれよりも大きい、または、5~10、10~100、10~1,000、10~10,000、10~100,000、10~1,000,000、10~10,000,000、100~1,000、100~10,000、100~100,000、100~1,000,000、100~10,000,000、1,000~10,000、1,000~100,000、1,000~1,000,000、1000~10,000,000、10,000~100,000、10,000~1,000,000、10,000~10,000,000、100,000~1,000,000、もしくは100,000~10,000,000倍低い。

【0307】

ABに対するMMの解離定数 ( $K_d$ ) は、一般に、標的に対するABの $K_d$ よりも大きい。ABに対するMMの $K_d$ は、標的に対するABの $K_d$ よりも少なくとも5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、100,000、1,000,000倍、または10,000,000倍大きいことすらある。逆に、ABに対するMMの結合親和性は、一般に、標的に対するABの結合親和性よりも低い。ABに対するMMの結合親和性は、標的に対するABの結合親和性よりも少なくとも5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、100,000、1,000,000倍、または10,000,000倍低いことすらある。

【0308】

いくつかの態様において、ABに対するMMの解離定数 ( $K_d$ ) は、標的に対するABの $K_d$ とほぼ同等である。いくつかの態様において、ABに対するMMの解離定数 ( $K_d$ ) は、標的に対するABの解離定数以下である。

【0309】

いくつかの態様において、ABに対するMMの解離定数 ( $K_d$ ) は、標的に対するABの解離定数よりも小さい。

【0310】

いくつかの態様において、ABに対するMMの解離定数 ( $K_d$ ) は、標的に対するABの解離定数よりも大きい。

【0311】

いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、標的に対するABの結合についての $K_d$ 以下である $K_d$ を有する。

【0312】

いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、標的に対するABの結合についての $K_d$ 以上である $K_d$ を有する。

【0313】

いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、標的に対するABの結合についての $K_d$ とほぼ同等である $K_d$ を有する。

【0314】

いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、標的に対するABの結合についての $K_d$ よりも小さい $K_d$ を有する。

## 【0315】

いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、標的に対するABの結合についてのKdよりも大きいKdを有する。

## 【0316】

いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、標的に対するABの結合についてのKdの2、3、4、5、10、25、50、100、250、500、または1,000倍以下だけ大きいKdを有する。いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、標的に対するABの結合のKdの1~5、2~5、2~10、5~10、5~20、5~50、5~100、10~100、10~1,000、20~100、20~1000、または100~1,000倍大きいKdを有する。

## 【0317】

いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、標的に対するABの結合親和性よりも低い親和性を有する。

## 【0318】

いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、標的に対するABの結合親和性以下である親和性を有する。

## 【0319】

いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、標的に対するABの結合親和性とほぼ同等である親和性を有する。

## 【0320】

いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、標的に対するABの結合親和性以上である親和性を有する。

## 【0321】

いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、標的に対するABの結合親和性よりも高い親和性を有する。

## 【0322】

いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、標的に対するABの結合親和性よりも2、3、4、5、10、25、50、100、250、500、または1,000倍低い親和性を有する。いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、標的に対するABの結合親和性よりも1~5、2~5、2~10、5~10、5~20、5~50、5~100、10~100、10~1,000、20~100、20~1000、または100~1,000倍低い親和性を有する。いくつかの態様において、MMは、ABに対する結合について、標的に対するABの結合親和性よりも2~20倍低い親和性を有する。いくつかの態様において、ABに共有結合で連結されておらず、かつABと等モル濃度のMMは、標的に対するABの結合を阻害しない。

## 【0323】

ABがMMで修飾され、かつ標的の存在下にある場合、ABのその標的に対する特異的結合は、標的に対する、MMで修飾されていないABの特異的結合または親ABの特異的結合と比較して、低減または阻害される。標的に対する、MMで修飾されていないABの結合または親ABの結合と比較した場合、MMで修飾した場合の、標的に結合するABの能力は、インビボでまたはインビトロアッセイにおいて測定した際、少なくとも2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84、もしくは96時間、または5、10、15、30、45、60、90、120、150、もしくは180日、または1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、もしくは12か月またはそれより長くに渡って、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、およびさらに100%低減され得る。

## 【0324】

MMは、標的に対するABの結合を阻害する。MMは、ABの抗原結合ドメインに結合し、標的に対するABの結合を阻害する。MMは、標的に対するABの結合を立体的に阻害することができる。MMは、ABのその標的に対する結合をアロステリックに阻害することができる。これらの態様において、ABが修飾されるかまたはMMにカップリングされ、かつ標的の存在下にある場合、インビボでまたはインビトロアッセイにおいて測定した際、少なくとも2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84、もしくは96時間、または5、10、15、30、4

10

20

30

40

50

5、60、90、120、150、もしくは180日、または1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、もしくは12か月またはそれより長くに渡って、標的に対するABの結合は存在しないかもしくは実質的に結合が存在せず、または、標的に対する、MMで修飾されていないAB、親AB、もしくはMMにカップリングされていないABの結合と比較して、標的に対するABの結合は、0.001%、0.01%、0.1%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、または50%以下である。

#### 【0325】

ABがMMにカップリングされるかまたはMMにより修飾されている場合、MMは、標的に対するABの特異的結合を「マスクする」か、または低減させるか、またはさもなくば阻害する。ABがMMにカップリングされるかまたはMMにより修飾されている場合、そのようなカップリングまたは修飾は、構造変化をもたらすことができ、それが、ABのその標的に特異的に結合する能力を低減または阻害する。

10

#### 【0326】

MMにカップリングされるかまたはMMで修飾されているABは、以下の式によって表すことができる（アミノ（N）末端領域からカルボキシル（C）末端領域への順序）：

(MM)-(AB)

(AB)-(MM)

(MM)-L-(AB)

(AB)-L-(MM)

式中、MMはマスキング部分であり、ABは抗体またはその抗体断片であり、かつLはリンカーである。多くの態様において、可動性を提供するために1つまたは複数のリンカー、例えばフレキシブルリンカーを、組成物中に挿入することが望ましい場合がある。

20

#### 【0327】

ある特定の態様において、MMは、ABの天然の結合パートナーではない。いくつかの態様において、MMは、ABのいずれの天然の結合パートナーに対しても相同性を有さないか、または実質的に相同性を有さない。いくつかの態様において、MMの、ABのあらゆる天然の結合パートナーに対する類似性は、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または80%以下である。いくつかの態様において、MMの、ABのあらゆる天然の結合パートナーに対する同一性は、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または80%以下である。いくつかの態様において、MMの、ABのあらゆる天然の結合パートナーに対する同一性は、25%以下である。いくつかの態様において、MMの、ABのあらゆる天然の結合パートナーに対する同一性は、50%以下である。いくつかの態様において、MMの、ABのあらゆる天然の結合パートナーに対する同一性は、20%以下である。いくつかの態様において、MMの、ABのあらゆる天然の結合パートナーに対する同一性は、10%以下である。

30

#### 【0328】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、MMにより修飾され、かつ1つまたは複数の切断可能部分（CM）も含むABを含む。そのような活性化可能抗体は、ABの標的に対して、活性化可能/切り換え可能な結合を呈する。活性化可能抗体は、一般に、マスキング部分（MM）および修飾可能または切断可能な部分（CM）により修飾されるかまたはそれにカップリングされた、抗体または抗体断片（AB）を含む。いくつかの態様において、CMは、少なくとも1つのプロテアーゼに対する基質として働くアミノ酸配列を含有する。

40

#### 【0329】

活性化可能抗体の要素は、切断された（または相対的に活性の）状態および標的の存在下で、ABが標的に結合し、活性化可能抗体が切断されていない（または相対的に不活性の）状態で標的の存在下にある間は、ABのその標的に対する特異的結合が低減または阻害されるように、MMおよびCMが位置づけられて配置される。ABのその標的に対する特異的結合は、ABのその標的に特異的に結合する能力のMMによる阻害またはマスキングに起因して低減され得る。

#### 【0330】

50

標的に対するMMおよびCMで修飾されたABの $K_d$ は、標的に対するMMおよびCMで修飾されていないABまたは親ABの $K_d$ よりも、少なくとも5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000倍もしくはそれより大きい、または、5～10、10～100、10～1,000、10～10,000、10～100,000、10～1,000,000、10～10,000,000、100～1,000、100～10,000、100～100,000、100～1,000,000、100～10,000,000、1,000～10,000、1,000～100,000、1,000～1,000,000、1000～10,000,000、10,000～100,000、10,000～1,000,000、10,000～10,000,000、100,000～1,000,000、もしくは100,000～10,000,000倍大きい。逆に、標的に対するMMおよびCMで修飾されたABの結合親和性は、標的に対するMMおよびCMで修飾されていないABまたは親ABの結合親和性よりも、少なくとも5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000倍もしくはそれより大きい、または、5～10、10～100、10～1,000、10～10,000、10～100,000、10～1,000,000、10～10,000,000、100～1,000、100～10,000、100～100,000、100～1,000,000、100～10,000,000、1,000～10,000、1,000～100,000、1,000～1,000,000、1000～10,000,000、10,000～100,000、10,000～1,000,000、10,000～10,000,000、100,000～1,000,000、もしくは100,000～10,000,000倍低い。

10

20

30

40

50

#### 【0331】

ABがMMおよびCMで修飾され、標的の存在下にあるが修飾作用物質（例えば、少なくとも1つのプロテアーゼ）の存在下にはない時、ABのその標的に対する特異的結合は、標的に対するMMおよびCMで修飾されていないABまたは親ABの特異的結合と比較して、低減または阻害される。その標的に対する、親ABの結合またはMMおよびCMで修飾されていないABの結合と比較した場合、MMおよびCMで修飾された際の標的に結合するABの能力は、インビボでまたはインビトロアッセイにおいて測定した際、少なくとも2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84、もしくは96時間、または5、10、15、30、45、60、90、120、150、もしくは180日、または1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、もしくは12か月またはそれより長くに渡って、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、およびさらに100%低減され得る。

#### 【0332】

本明細書において使用される際、切断状態という用語は、少なくとも1つのプロテアーゼによるCMの修飾後の活性化可能抗体の様子を指す。非切断状態という用語は、本明細書において使用される際、プロテアーゼによるCMの切断のない活性化可能抗体の様子を指す。上記で議論されるように、「活性化可能抗体」という用語は、その切断されていない（天然の）状態、およびその切断状態の両方の活性化可能抗体を指すように、本明細書において使用される。いくつかの態様において、切断された活性化可能抗体は、（例えば、MMが共有結合（例えば、システイン残基間のジスルフィド結合）によって活性化可能抗体に接続されていない場合は）少なくともMMの放出を結果としてもたらす、プロテアーゼによるCMの切断のためにMMを欠如する場合があることが、当業者に明らかであろう。

#### 【0333】

活性化可能または切り替え可能とは、活性化可能抗体が阻害された状態、マスクされた状態、または非切断状態（すなわち、第1のコンフォメーション）にある場合、活性化可能抗体が標的に対する結合の第1のレベルを示し、阻害されていない状態、マスクされていない状態、および/または切断状態（すなわち、第2のコンフォメーション）にある場合は、標的に対する結合の第2のレベルを示し、ここで標的結合の第2のレベルが結合の第1のレベルよりも大きいことを意味する。一般に、活性化可能抗体のABに対する標的のアクセスは、CMを切断することができる切断作用物質、すなわちプロテアーゼの存在下では、そのような切断作用物質の非存在下よりも大きい。したがって、活性化可能抗体が非切断状態にある場合、ABは、標的結合から阻害され、標的結合からマスクされることができ（すなわち、第1のコンフォメーションは、ABが標的に結合できないようなものである）、切断状態にある場合は、ABは、標的結合について阻害されないか、またはマスクされない。

## 【0334】

活性化可能抗体のCMおよびABは、ABが所定の標的に対する結合部分に相当し、CMがプロテアーゼに対する基質に相当するように選択される。いくつかの態様において、プロテアーゼは、対象における処置部位または診断部位で標的と共局在化する。本明細書において使用される際、共局在化とは、同じ部位または相対的にすぐ近くにあることを指す。いくつかの態様において、プロテアーゼはCMを切断し、切断部位の近くに位置する標的に結合する活性化抗体を生じる。本明細書において開示される活性化可能抗体は、例えば、CM中の部位を切断することができるプロテアーゼ、すなわちプロテアーゼが、処置部位または診断部位の標的含有組織において、非処置部位の組織において（例えば、健常組織において）よりも相対的に高いレベルで存在する場合、特定の用途を見いだす。いくつかの態様において、本開示のCMはまた、1つまたは複数の他のプロテアーゼによっても切断される。いくつかの態様において、それは、標的と共局在化し、インビボでCMの切断を担う1つまたは複数の他のプロテアーゼである。

10

## 【0335】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、ABが標的に対する結合からマスクされていないかまたはさもなくば阻害されていない場合に、非処置部位でのABの結合にさもなくば起因しうる毒性および/または有害副作用の低減を提供する。

## 【0336】

一般に、活性化可能抗体は、関心対象のABを選択すること、および、コンフォメーション的に束縛された時に、MMがABのマスキングまたはABのその標的に対する結合の低減を提供するように、活性化可能抗体の残りの部分を構築することによって設計することができる。構造設計基準は、この機能的特色を提供するように考慮に入れることができる。

20

## 【0337】

阻害されたコンフォメーション対阻害されていないコンフォメーションにおいて、標的結合について望ましいダイナミックレンジの切り換え可能な表現型を呈する活性化可能抗体が、提供される。ダイナミックレンジとは、一般に、(a) 第1のセットの条件下でのパラメータの最大検出レベルの、(b) 第2のセットの条件下でのそのパラメータの最小検出値に対する比を指す。例えば、活性化可能抗体の文脈において、ダイナミックレンジとは、(a) 活性化可能抗体のCMを切断することができる少なくとも1つのプロテアーゼの存在下での活性化可能抗体への標的タンパク質結合の最大検出レベルの、(b) プロテアーゼの非存在下での活性化可能抗体への標的タンパク質結合の最小検出レベルに対する比を指す。活性化可能抗体のダイナミックレンジは、活性化可能抗体切断作用物質（例えば、酵素）処置の解離定数の、活性化可能抗体切断作用物質処置の解離定数に対する比として算出することができる。活性化可能抗体のダイナミックレンジが大きければ大きいほど、活性化可能抗体の切り換え可能な表現型は良好である。相対的に高い（例えば、1よりも大きい）ダイナミックレンジ値を有する活性化可能抗体は、活性化可能抗体による標的タンパク質結合が、活性化可能抗体のCMを切断することができる切断作用物質（例えば、酵素）の存在下で、切断作用物質の非存在下よりも大きい程度まで起こる（例えば、優勢に起こる）ように、より望ましい切り換え表現型を呈する。

30

## 【0338】

活性化可能抗体は、様々な構造的配置で提供することができる。活性化可能抗体の例示的な式は、下記で提供される。AB、MM、およびCMのN末端からC末端への順序は活性化可能抗体内で逆であることができることが、特に企図される。CMおよびMMは、例えば、CMがMM内に含有されるように、アミノ酸配列において重複してもよいこともまた、特に企図される。

40

## 【0339】

例えば、活性化可能抗体は、以下の式によって表すことができる（アミノ（N）末端領域からカルボキシル（C）末端領域への順序）：

(MM)-(CM)-(AB)

(AB)-(CM)-(MM)

50

式中、MMはマスキング部分であり、CMは切断可能部分であり、かつABは抗体またはその断片である。MMおよびCMは、上記の式において別個の構成要素として示されているが、本明細書において開示されるすべての例示的な態様（式を含む）において、MMおよびCMのアミノ酸配列は、例えば、CMがMM内に完全にまたは部分的に含有されるように重複しようと企図されることに、注目されるべきである。加えて、上記の式は、活性化可能抗体要素のN末端またはC末端に位置づけられることができる追加的なアミノ酸配列を提供する。

#### 【0340】

ある特定の態様において、MMは、ABの天然の結合パートナーではない。いくつかの態様において、MMは、ABのいずれの天然の結合パートナーに対しても相同性を有さないか、または実質的に相同性を有さない。いくつかの態様において、MMの、ABのあらゆる天然の結合パートナーに対する類似性は、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または80%以下である。いくつかの態様において、MMの、ABのあらゆる天然の結合パートナーに対する同一性は、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または80%以下である。いくつかの態様において、MMの、ABのあらゆる天然の結合パートナーに対する同一性は、50%以下である。いくつかの態様において、MMの、ABのあらゆる天然の結合パートナーに対する同一性は、25%以下である。いくつかの態様において、MMの、ABのあらゆる天然の結合パートナーに対する同一性は、20%以下である。いくつかの態様において、MMの、ABのあらゆる天然の結合パートナーに対する同一性は、10%以下である。

#### 【0341】

多くの態様において、MM-CM接合部、CM-AB接合部、またはその両方のうちの1つまたは複数で可動性を提供するために、1つまたは複数のリンカー、例えばフレキシブルリンカーを、活性化可能抗体構築物中に挿入することが望ましい場合がある。例えば、AB、MM、および/またはCMは、望ましい可動性を提供するのに十分な数の残基（例えば、Gly、Ser、Asp、Asn、特にGlyおよびSer、とりわけGly）を含有しない場合がある。そのような際、そのような活性化可能抗体構築物の切り換え可能な表現型は、フレキシブルリンカーを提供するための1つまたは複数のアミノ酸の導入から恩恵を受ける場合がある。加えて、下記のように、活性化可能抗体がコンフォメーション的に束縛された構築物として提供される場合には、フレキシブルリンカーを、切断されていない活性化可能抗体における環状構造の形成および維持を促進するために機能的に挿入することができる。

#### 【0342】

例えば、ある特定の態様において、活性化可能抗体は、以下の式（下記の式は、N末端からC末端の方向、またはC末端からN末端の方向のいずれかでのアミノ酸配列を表す）のうちの1つを含むことができる：

(MM)-L1-(CM)-(AB)

(MM)-(CM)-L2-(AB)

(MM)-L1-(CM)-L2-(AB)

式中、MM、CM、およびABは上記で定義されたようであり；L1およびL2は、各々独立しており、任意で存在するかまたは欠如しており、少なくとも1つの可動性アミノ酸（例えば、Gly）を含む、同じかまたは異なるフレキシブルリンカーである。加えて、上記の式は、活性化可能抗体要素のN末端またはC末端に位置づけられることができる追加的なアミノ酸配列を提供する。例には、標的部分（例えば、標的組織中に存在する細胞の受容体に対するリガンド）および血清半減期延長部分（例えば、免疫グロブリン（例えば、IgG）または血清アルブミン（例えば、ヒト血清アルブミン（HAS））などの血清タンパク質に結合するポリペプチド）が含まれるが、それらに限定されない。

#### 【0343】

CMは、約 $0.001 \sim 1500 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ または少なくとも0.001、0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1、2.5、5、7.5、10、15、20、25、50、75、100、125、150、200、250、500、750、1000、1250、もしくは $1500 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ の速度で少なくとも1つのプロテアーゼによって特異的に切断される。いくつかの態様において、CMは、約 $100,000 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ の速度で特異的

に切断される。いくつかの態様において、CMは、約 $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ （すなわち、約 $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ ）の速度で特異的に切断される。

【0344】

酵素による特異的切断のために、酵素とCMとの間の接触がなされる。MMおよびCMにカップリングされたABを含む活性化可能抗体が、標的および十分な酵素活性の存在下にある場合に、CMは切断され得る。十分な酵素活性とは、CMと接触して切断をもたらす酵素の能力を指すことができる。酵素は、CMの付近にあってもよいが、他の細胞因子または酵素のタンパク質修飾のために切断できないことを、容易に想定することができる。

【0345】

本明細書に記載される組成物における使用に適しているリンカーは、一般に、修飾されたABまたは活性化可能抗体の可動性を提供して、標的に対するABの結合の阻害を促進するものである。そのようなリンカーは、一般に、フレキシブルリンカーと呼ばれる。好適なリンカーは、容易に選択することができ、様々な長さ、例えば、4アミノ酸～10アミノ酸、5アミノ酸～9アミノ酸、6アミノ酸～8アミノ酸、または7アミノ酸～8アミノ酸を含む、1アミノ酸（例えば、Gly）～20アミノ酸、2アミノ酸～15アミノ酸、3アミノ酸～12アミノ酸の好適ないずれかであることができ、長さが1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20アミノ酸であることができる。

【0346】

例示的なフレキシブルリンカーには、グリシンポリマー(G)<sub>n</sub>、グリシン-セリンポリマー（例えば、(GS)<sub>n</sub>、(GSGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO: 339) および(GGGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO: 340)（式中、nは少なくとも1の整数である）を含む）、グリシン-アラニンポリマー、アラニン-セリンポリマー、および当技術分野において公知である他のフレキシブルリンカーが含まれる。グリシンポリマーおよびグリシン-セリンポリマーは、相対的に構造化されておらず、そのため、構成要素間の中性のつながりとして働くことができる。グリシンは、互角のアラニンよりも有意に大きいphi-psi空間にアクセスし、より長い側鎖を有する残基よりもずっと制限されない（Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992)）。例示的なフレキシブルリンカーには、Gly-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO: 341), Gly-Gly-Ser-Gly-Gly (SEQ ID NO: 342),

Gly-Ser-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO: 343), Gly-Ser-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 344), Gly-Gly-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO: 345), Gly-Ser-Ser-Ser-Gly (SEQ ID NO: 346)

などが含まれるが、それらに限定されない。当業者は、リンカーが、フレキシブルリンカー、およびより可動性が低い構造を付与して望ましい活性化可能抗体構造を提供する1つまたは複数の部分を含むことができるように、活性化可能抗体の設計が、すべてまたは部分的に可動性であるリンカーを含みうることを認識しているであろう。

【0347】

本開示はまた、CD71に特異的に結合する抗体または抗体断片（AB）を含み、該ABが、該ABのその標的に結合する能力を減少させるマスキング部分（MM）にカップリングされている、活性化可能抗CD71抗体を含む組成物および方法も提供する。いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体は、プロテアーゼに対する基質である切断可能部分（CM）をさらに含む。本明細書で提供される組成物および方法は、活性化可能抗CD71抗体の活性（例えば、マスキング活性、活性化活性、または結合活性）を損なうことなく、AB中の1つまたは複数のシステイン残基に対する1つまたは複数の作用物質の付加を可能にする。いくつかの態様において、本明細書で提供される組成物および方法は、MM内の1つまたは複数のジスルフィド結合を低減させるかまたはさもなくば妨害することなく、AB中の1つまたは複数のシステイン残基に対する1つまたは複数の作用物質の付加を可能にする。本明細書で提供される組成物および方法は、1つまたは複数の作用物質、例えば、様々な治療用、診断用、および/または予防用作用物質のいずれかにコンジュゲートされている活性化可能抗CD71抗体を生じ、例えば、いくつかの態様においては、作用物質のいずれも活性化可能抗CD71抗体のMMにコンジュゲートされていない。本明細書で提供される組成物および方

法は、MMが、非切断状態において活性化可能抗体のABを効果的かつ効率的にマスクする能力を保持する、コンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体を生じる。本明細書で提供される組成物および方法は、活性化可能抗体がさらに活性化されている、すなわち、CMを切断することができるプロテアーゼの存在下で切断されている、コンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体を生じる。

#### 【0348】

活性化可能抗CD71抗体は、作用物質に対するコンジュゲーションの少なくとも1つの点を有するが、本明細書で提供される方法および組成物においては、すべてよりは少ない可能なコンジュゲーションの点が、作用物質に対するコンジュゲーションのために利用可能である。いくつかの態様において、1つまたは複数のコンジュゲーションの点は、ジスルフィド結合に關与する硫黄原子である。いくつかの態様において、1つまたは複数のコンジュゲーションの点は、鎖間ジスルフィド結合に關与する硫黄原子である。いくつかの態様において、1つまたは複数のコンジュゲーションの点は、鎖間スルフィド結合に關与する硫黄原子であるが、鎖内ジスルフィド結合に關与する硫黄原子ではない。いくつかの態様において、1つまたは複数のコンジュゲーションの点は、システインまたは硫黄原子を含有する他のアミノ酸残基の硫黄原子である。そのような残基は、抗体構造中に天然に存在してもよく、または、部位特異的変異誘発、化学変換、または非天然アミノ酸の誤取り込みによって抗体中に組み込まれることもできる。

#### 【0349】

AB中の1つまたは複数の鎖間ジスルフィド結合、およびMM中の1つまたは複数の鎖内ジスルフィド結合を有する活性化可能抗CD71抗体と、遊離チオールと反応する薬物とのコンジュゲートを調製する方法もまた提供される。方法は、一般に、活性化可能抗体中の鎖間ジスルフィド結合を、例えばTCEPなどの還元剤で部分的に還元する工程；および、遊離チオールと反応する薬物を、部分的に還元された活性化可能抗体にコンジュゲートする工程を含む。本明細書において使用される際、部分的還元という用語は、活性化可能抗CD71抗体を還元剤と接触させ、すべてよりは少ないジスルフィド結合、例えば、すべてよりは少ない可能なコンジュゲーションの部位が還元される状況を指す。いくつかの態様において、すべての可能なコンジュゲーションの部位の99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%未満、または5%未満が還元される。

#### 【0350】

さらに他の態様において、作用物質、例えば薬物を還元して活性化可能抗CD71抗体にコンジュゲートして、作用物質の配置において選択性を結果としてもたらす方法が提供される。方法は、一般に、活性化可能抗体のマスキング部分または他の非AB部分中のいずれのコンジュゲーション部位も還元されないように、活性化可能抗CD71抗体を還元剤で部分的に還元する工程、および、作用物質をAB中の鎖間チオールにコンジュゲートする工程を含む。コンジュゲーション部位は、作用物質の望ましい配置を可能にして、コンジュゲーションを望ましい部位で起こさせるように選択される。還元剤は、例えばTCEPである。例えば、還元剤の活性化可能抗体に対する比、インキュベーションの長さ、インキュベーション中の温度、還元反応溶液のpHなどのような還元反応条件は、MMが、非切断状態において活性化可能抗体のABを効果的かつ効率的にマスクする能力を保持する、コンジュゲートされた活性化可能抗体を生じる条件を特定することによって決定される。還元剤の活性化可能抗CD71抗体に対する比は、活性化可能抗体に応じて変動することになる。いくつかの態様において、還元剤の活性化可能抗CD71抗体に対する比は、約20:1~1:1、約10:1~1:1、約9:1~1:1、約8:1~1:1、約7:1~1:1、約6:1~1:1、約5:1~1:1、約4:1~1:1、約3:1~1:1、約2:1~1:1、約20:1~1:1.5、約10:1~1:1.5、約9:1~1:1.5、約8:1~1:1.5、約7:1~1:1.5、約6:1~1:1.5、約5:1~1:1.5、約4:1~1:1.5、約3:1~1:1.5、約2:1~1:1.5、約1.5:1~1:1.5、または約1:1~1:1.5の範囲であろう。いくつかの態様において、比は約5:1~1:1の範囲である。いくつかの態様において、比は約5:1~1.5:1の範囲である。いくつかの態様において、比は約4:1~

1:1の範囲である。いくつかの態様において、比は約4:1~1.5:1の範囲である。いくつかの態様において、比は約8:1~約1:1の範囲である。いくつかの態様において、比は約2.5:1~1:1の範囲である。

#### 【0351】

いくつかの態様において、活性化可能抗CD71抗体のAB中の鎖間ジスルフィド結合を還元し、作用物質、例えば薬物などのチオール含有作用物質を、結果として生じた鎖間チオールにコンジュゲートして作用物質をAB上に選択的に置く方法が提供される。方法は、一般に、ABを還元剤で部分的に還元して、活性化可能抗体中のすべての可能な鎖間チオールを形成させることなく、少なくとも2つの鎖間チオールを形成させる工程；および、部分的に還元されたABの鎖間チオールに作用物質をコンジュゲートする工程を含む。例えば、活性化可能抗体のABは、約37 で約1時間、還元剤：活性化可能抗体の望ましい比で部分的に還元される。いくつかの態様において、還元剤の活性化可能抗体に対する比は、約20:1~1:1、約10:1~1:1、約9:1~1:1、約8:1~1:1、約7:1~1:1、約6:1~1:1、約5:1~1:1、約4:1~1:1、約3:1~1:1、約2:1~1:1、約20:1~1:1.5、約10:1~1:1.5、約9:1~1:1.5、約8:1~1:1.5、約7:1~1:1.5、約6:1~1:1.5、約5:1~1:1.5、約4:1~1:1.5、約3:1~1:1.5、約2:1~1:1.5、約1.5:1~1:1.5、または約1:1~1:1.5の範囲であろう。いくつかの態様において、比は約5:1~1:1の範囲である。いくつかの態様において、比は約5:1~1.5:1の範囲である。いくつかの態様において、比は約4:1~1:1の範囲である。いくつかの態様において、比は約4:1~1.5:1の範囲である。いくつかの態様において、比は約8:1~約1:1の範囲である。いくつかの態様において、比は約2.5:1~1:1の範囲である。

10

20

#### 【0352】

チオール含有試薬は、例えば、システインまたはN-アセチルシステインであることができる。還元剤は、例えばTCEPであることができる。いくつかの態様において、還元された活性化可能抗体は、コンジュゲーションの前に、例えば、カラムクロマトグラフィー、透析、または透析濾過を用いて精製することができる。あるいは、還元された抗体は、部分的な還元の後、およびコンジュゲーションの前に精製されない。

#### 【0353】

本発明はまた、活性化可能抗体中の少なくとも1つの鎖間ジスルフィド結合が、活性化可能抗体中のいずれの鎖内ジスルフィド結合も妨害することなく還元剤で還元されている、部分的に還元された活性化可能抗CD71抗体も提供し、該活性化可能抗体は、CD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片（AB）と、非切断状態においてCD71標的に対する活性化可能抗体のABの結合を阻害するマスキング部分（MM）と、ABにカップリングされた切断可能部分（CM）とを含み、該CMは、プロテアーゼに対する基質として機能するポリペプチドである。いくつかの態様において、MMは、CMを介してABにカップリングされている。いくつかの態様において、活性化可能抗体の1つまたは複数の鎖内ジスルフィド結合は、還元剤によって妨害されない。いくつかの態様において、活性化可能抗体内のMMの1つまたは複数の鎖内ジスルフィド結合は、還元剤によって妨害されない。いくつかの態様において、非切断状態における活性化可能抗体は、以下のようなN末端からC末端への構造的配置を有する：MM-CM-ABまたはAB-CM-MM。いくつかの態様において、還元剤はTCEPである。

30

40

#### 【0354】

さらに他の態様において、活性化可能抗CD71抗体を還元する、および作用物質、例えば薬物をコンジュゲートさせる方法は、規定された数および位置のリジンおよび/またはシステイン残基を有する活性化可能抗CD71抗体を提供することによって、作用物質の配置において選択性をもたらす。いくつかの態様において、規定された数のリジンおよび/またはシステイン残基は、親抗体または活性化可能抗体のアミノ酸配列における対応する残基の数よりも多いか、または少ない。いくつかの態様において、規定された数のリジンおよび/またはシステイン残基は結果として、抗CD71抗体または活性化可能抗CD71抗体にコンジュゲート可能な作用物質等価物の数を規定しうる。いくつかの態様において、規定され

50

た数のリジンおよび/またはシステイン残基は結果として、部位特異的な様式で抗CD71抗体または活性化可能抗CD71抗体にコンジュゲート可能な作用物質等価物の数を規定しうる。いくつかの態様において、改変された活性化可能抗体は、部位特異的な様式で1つまたは複数の非天然アミノ酸で改変され、したがっていくつかの態様において、非天然アミノ酸の部位のみに作用物質のコンジュゲーションを制限する。いくつかの態様において、規定された数および位置のリジンおよび/またはシステイン残基を有する抗CD71抗体または活性化可能抗CD71抗体は、活性化可能抗体のマスキング部分または他の非AB部分におけるいかなるコンジュゲーション部位も還元されず、AB中の鎖間チオールに作用物質がコンジュゲートされるように、本明細書において論じられる還元剤で部分的に還元されることができる。

10

#### 【0355】

本開示はまた、活性化可能抗体中の少なくとも1つの鎖間ジスルフィド結合が、活性化可能抗体中のいずれの鎖内ジスルフィド結合も妨害することなく還元剤で還元されている、部分的に還元された活性化可能抗体も提供し、該活性化可能抗体は、標的、例えばCD71に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片（AB）と、非切断状態において標的に対する活性化可能抗体のABの結合を阻害するマスキング部分（MM）と、ABにカップリングされた切断可能部分（CM）とを含み、該CMは、少なくとも1つのプロテアーゼに対する基質として機能するポリペプチドである。いくつかの態様において、MMは、CMを介してABにカップリングされている。いくつかの態様において、活性化可能抗体の1つまたは複数の鎖内ジスルフィド結合は、還元剤によって妨害されない。いくつかの態様において、活性化可能抗体内のMMの1つまたは複数の鎖内ジスルフィド結合は、還元剤によって妨害されない。いくつかの態様において、非切断状態における活性化可能抗体は、N末端からC末端に向かって、以下のような構造的配置を有する：MM-CM-ABまたはAB-CM-MM。いくつかの態様において、還元剤はTCEPである。

20

#### 【0356】

いくつかの態様において、本明細書に記載される活性化可能抗体はまた、活性化可能抗体にコンジュゲートされた作用物質も含む。いくつかの態様において、コンジュゲートされた作用物質は、抗炎症性作用物質および/または抗新生物性作用物質などの治療用作用物質である。そのような態様において、例えば、炭水化物部分が活性化可能抗体中の抗体または抗原結合断片の抗原結合領域の外側に位置するいくつかの態様において、作用物質は、活性化可能抗体の炭水化物部分にコンジュゲートされる。いくつかの態様において、作用物質は、活性化可能抗体中の抗体または抗原結合断片のスルフィドリル基にコンジュゲートされる。

30

#### 【0357】

いくつかの態様において、作用物質は、毒素（例えば、細菌、真菌、植物、もしくは動物起源の酵素学的に活性を有する毒素、またはそれらの断片）などの細胞傷害性作用物質、または放射性同位体（すなわち、放射性コンジュゲート）である。

#### 【0358】

いくつかの態様において、作用物質は、例えば、標識または他のマーカーなどの検出可能部分である。例えば、作用物質は、放射標識されたアミノ酸、マークされたアビジン（例えば、光学的方法または熱量測定法によって検出することができる蛍光マーカーまたは酵素活性を含有するストレプトアビジン）によって検出することができる1つもしくは複数のビオチン化部分、1つもしくは複数の放射性同位体もしくは放射性核種、1つもしくは複数の蛍光標識、1つもしくは複数の酵素標識、および/または1つもしくは複数の化学発光作用物質であるか、またはそれらを含む。いくつかの態様において、検出可能部分は、スパーサー分子によって付加される。

40

#### 【0359】

本開示はまた、毒素（例えば、細菌、真菌、植物、もしくは動物起源の酵素学的に活性を有する毒素、またはそれらの断片）などの細胞傷害性作用物質、または放射性同位体（すなわち、放射性コンジュゲート）にコンジュゲートされた抗体を含むイムノコンジュゲ

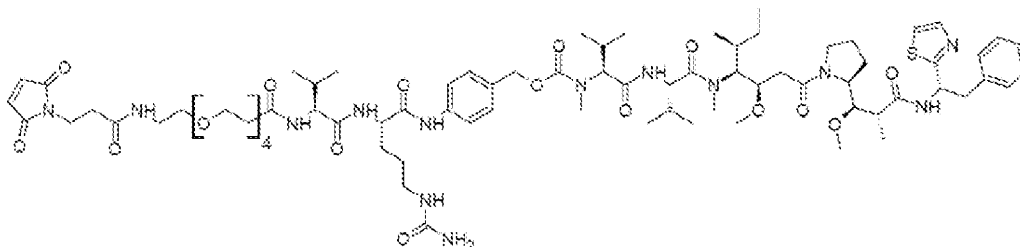
50

ートにも関係する。好適な細胞傷害性作用物質には、例えば、ドラスタチン類およびそれらの誘導体（例えば、アウリスタチンE、AFP、MMAF、MMAE、MMAD、DMAF、DMAE）が含まれる。例えば、作用物質は、モノメチルアウリスタチンE（MMAE）またはモノメチルアウリスタチンD（MMAD）である。いくつかの態様において、作用物質は、表5に列挙される群より選択される作用物質である。いくつかの態様において、作用物質はドラスタチンである。いくつかの態様において、作用物質はアウリスタチンまたはその誘導体である。いくつかの態様において、作用物質はアウリスタチンEまたはその誘導体である。いくつかの態様において、作用物質はモノメチルアウリスタチンE（MMAE）である。いくつかの態様において、作用物質はモノメチルアウリスタチンD（MMAD）である。いくつかの態様において、作用物質はメイタンシノイドまたはメイタンシノイド誘導体である。いくつかの態様において、作用物質はDM1またはDM4である。いくつかの態様において、作用物質はデュオカルマイシンまたはその誘導体である。いくつかの態様において、作用物質はカリケアマイシンまたはその誘導体である。いくつかの態様において、作用物質はピロロベンゾジアゼピンである。いくつかの態様において、作用物質はピロロベンゾジアゼピン二量体である。

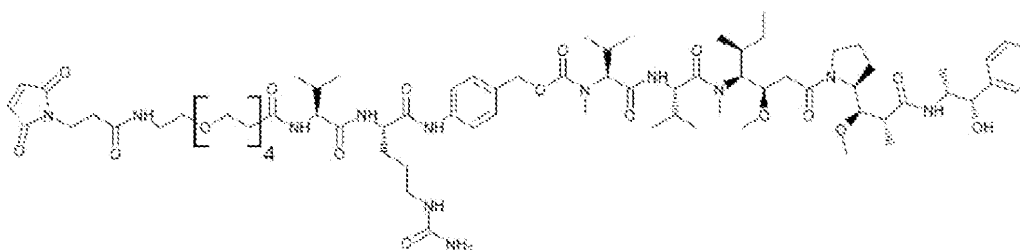
【 0 3 6 0 】

いくつかの態様において、作用物質は、マレイミドカプロイル-バリン-シトルリンリンカーまたはマレイミドPEG-バリン-シトルリンリンカーを用いてABに連結される。いくつかの態様において、作用物質は、マレイミドカプロイル-バリン-シトルリンリンカーを用いてABに連結される。いくつかの態様において、作用物質は、マレイミドPEG-バリン-シトルリンリンカーを用いてABに連結される。いくつかの態様において、作用物質は、マレイミドPEG-バリン-シトルリン-パラ-アミノベンジルオキシカルボニルリンカーを用いてAに連結されたモノメチルアウリスタチンD (MMAD) であり、このリンカーペイロード構築物は、本明細書において「vc-MMAD」と呼ばれる。いくつかの態様において、作用物質は、マレイミドPEG-バリン-シトルリン-パラ-アミノベンジルオキシカルボニルリンカーを用いてABに連結されたモノメチルアウリスタチンE (MMAE) であり、このリンカーペイロード構築物は、本明細書において「vc-MMAE」と呼ばれる。いくつかの態様において、作用物質は、マレイミドPEG-バリン-シトルリンリンカーを用いてABに連結される。いくつかの態様において、作用物質は、マレイミドビス-PEG-バリン-シトルリン-パラ-アミノベンジルオキシカルボニルリンカーを用いてABに連結されたモノメチルアウリスタチンD (MMAD) であり、このリンカーペイロード構築物は、本明細書において「PEG2-vc-MMAD」と呼ばれる。vc-MMAD、vc-MMAE、およびPEG2-vc-MMADの構造を下記に示す。

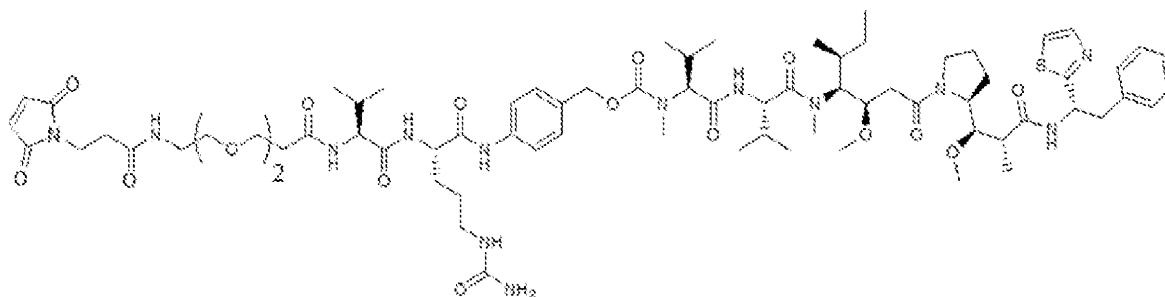
VC-MMAD :



VC-MMAE :



PEG2-vc-MMAD :



### 【0361】

本開示はまた、モノメチルアウリスタチンD (MMAD) ペイロードに連結された活性化可能抗体を含む、コンジュゲートされた活性化可能抗体も提供し、該活性化可能抗体は、標的に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片 (AB) と、非切断状態において標的に対する活性化可能抗体のABの結合を阻害するマスキング部分 (MM) と、ABにカップリングされた切断可能部分 (CM) とを含み、該CMは、少なくとも1つのMMPプロテアーゼに対する基質として機能するポリペプチドである。

10

### 【0362】

いくつかの態様において、MMADコンジュゲートされた活性化可能抗体は、作用物質をABに付加するためのいくつかの方法：(a) ABの炭水化物部分への付加、または(b) ABのスルフィド基への付加、または(c) ABのアミノ基への付加、または(d) ABのカルボキシル基への付加のうちのいずれかを用いてコンジュゲートすることができる。

20

### 【0363】

いくつかの態様において、MMADペイロードは、リンカーを介してABにコンジュゲートされる。いくつかの態様において、MMADペイロードは、リンカーを介してAB中のシステインにコンジュゲートされる。いくつかの態様において、MMADペイロードは、リンカーを介してAB中のリジンにコンジュゲートされる。いくつかの態様において、MMADペイロードは、リンカーを介して、本明細書において開示される残基などの、ABの別の残基にコンジュゲートされる。いくつかの態様において、リンカーはチオール含有リンカーである。いくつかの態様において、リンカーは切断可能なリンカーである。いくつかの態様において、リンカーは切断不可能なリンカーである。いくつかの態様において、リンカーは、表6および表7に示されるリンカーからなる群より選択される。いくつかの態様において、活性化可能抗体とMMADペイロードとは、マレイミドカプロイル-バリン-シトルリンリンカーを介して連結される。いくつかの態様において、活性化可能抗体とMMADペイロードとは、マレイミドPEG-バリン-シトルリンリンカーを介して連結される。いくつかの態様において、活性化可能抗体とMMADペイロードとは、マレイミドカプロイル-バリン-シトルリン-パラ-アミノベンジルオキシカルボニルリンカーを介して連結される。いくつかの態様において、活性化可能抗体とMMADペイロードとは、マレイミドPEG-バリン-シトルリン-パラ-アミノベンジルオキシカルボニルリンカーを介して連結される。いくつかの態様において、MMADペイロードは、本明細書において開示される部分的還元およびコンジュゲーション技術を用いてABにコンジュゲートされる。

30

### 【0364】

いくつかの態様において、本開示のリンカーのポリエチレングリコール (PEG) 構成要素は、2個のエチレングリコール単量体、3個のエチレングリコール単量体、4個のエチレングリコール単量体、5個のエチレングリコール単量体、6個のエチレングリコール単量体、7個のエチレングリコール単量体、8個のエチレングリコール単量体、9個のエチレングリコール単量体、または少なくとも10個のエチレングリコール単量体から形成される。本開示のいくつかの態様において、PEG構成要素は分岐型ポリマーである。本開示のいくつかの態様において、PEG構成要素は非分岐型ポリマーである。いくつかの態様において、PEGポリマー構成要素は、アミノ基もしくはその誘導体、カルボキシル基もしくはその誘導体、または、アミノ基もしくはその誘導体およびカルボキシル基もしくはその誘導体の両方で官能化されている。

40

50

## 【0365】

いくつかの態様において、本開示のリンカーのPEG構成要素は、アミノ-テトラ-エチレングリコール-カルボキシル基またはその誘導体である。いくつかの態様において、本開示のリンカーのPEG構成要素は、アミノ-トリ-エチレングリコール-カルボキシル基またはその誘導体である。いくつかの態様において、本開示のリンカーのPEG構成要素は、アミノ-ジ-エチレングリコール-カルボキシル基またはその誘導体である。いくつかの態様において、アミノ誘導体は、アミノ基と、それがコンジュゲートされるカルボキシル基との間のアミド結合の形成物である。いくつかの態様において、カルボキシル誘導体は、カルボキシル基と、それがコンジュゲートされるアミノ基との間のアミド結合の形成物である。いくつかの態様において、カルボキシル誘導体は、カルボキシル基と、それがコンジュゲートされるヒドロキシル基との間のエステル結合の形成物である。

10

## 【0366】

使用することができる酵素学的に活性を有する毒素およびそれらの断片には、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素A鎖（緑膿菌（*Pseudomonas aeruginosa*）由来）、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデシンA鎖、 $\alpha$ -サルシン、シナアブラギリ（*Aleurites fordii*）タンパク質、ジアンチンタンパク質、ヨウシュヤマゴボウ（*Phytolacca americana*）タンパク質（PAPI、PAPII、およびPAP-S）、ツルレイシ（*Momordica charantia*）阻害剤、クルシン、クロチン、サボンソウ（*Saponaaria officinalis*）阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン（mitogellin）、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、およびトリコセシキが含まれる。様々な放射性核種が、放射コンジュゲート抗体の生産のために利用可能である。例には、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{131}\text{In}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、および $^{186}\text{Re}$ が含まれる。

20

## 【0367】

抗体と細胞傷害性作用物質とのコンジュゲートは、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオール)プロピオナート（SPDP）、イミノチオラン（IT）、イミドエステル類の二官能性誘導体（ジメチルアジピミデートHCLなど）、活性エステル類（ジスクシンイミジルスベラートなど）、アルデヒド類（グルタルアルデヒドなど）、ビス-アジド化合物（ビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサジアミンなど）、ビス-ジアゾニウム誘導体（ビス-(p-ジアゾニウムベンゾイル)-エチレンジアミンなど）、ジイソシアナート類（トリエン2,6-ジイソシアナートなど）、およびビス活性フッ素化合物（1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼンなど）などの、様々な二官能性タンパク質カップリング剤を用いて作製される。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta et al., Science 238: 1098 (1987)に記載されているように調製することができる。炭素14で標識された1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミンペンタ酢酸（MX-DTPA）は、放射性ヌクレオチドの抗体へのコンジュゲーションのための例示的なキレート剤である。（第WO94/11026号を参照されたい。）

30

## 【0368】

表5は、本明細書に記載される開示において使用できる例示的な薬学的作用物質のいくつかを列挙するが、決して網羅的な一覧であるようには意味されない。

## 【0369】

（表5）コンジュゲーションのための例示的な薬学的作用物質

40

細胞傷害性作用物質

アウリスタチン類	ツルボスタチン	
アウリスタチンE	フェンスタチン類	
モノメチルアウリスタチン D (MMAD)	ヒドロキシフェンスタチン	
モノメチルアウリスタチン E (MMAE)	スポンジスタチン 5	
デスメチルアウリスタチン E (DMAE)	スポンジスタチン 7	
アウリスタチンF	ハリストチン 1	
モノメチルアウリスタチン F (MMAF)	ハリストチン 2	
デスメチルアウリスタチン F (DMAF)	ハリストチン 3	
アウリスタチン誘導体、例えば、それらのアミド	修飾ブリオスタチン類	
アウリスタチンチラミン	ハロコムスタチン類 (Halocomstatins)	10
アウリスタチンキノリン	ピロロベンゾイミダゾール類 (PBI)	
ドラスタチン類	シプロスタチン6	
ドラスタチン誘導体	ドキサリフォーム (Doxaliform)	
ドラスタチン16 DmJ	アントラサイクリン類似体	
ドラスタチン16 Dpv		
メイタンシノイド類、例えば DM-1; DM-4		
メイタンシノイド誘導体	セマドチン類似体 (CemCH2-SH)	
デュオカルマイシン	緑膿菌毒素A (PE38) バリエント	
デュオカルマイシン誘導体	緑膿菌毒素A (ZZ-PE38) バリエント	
$\alpha$ -アマニチン	ZJ-101	
アントラサイクリン類	OSW-1	20
ドキソルビシン	06-ベンジルグアニンの4-ニトロベンジル	
	オキシカルボニル誘導体	
ダウノルビシン	トポイソメラーゼ阻害剤	
ブリオスタチン類	ヘミアステルリン	
カンプトテシン	セファロタキシン	

カンプトテシン誘導体  
7-置換カンプトテシン  
10, 11-  
ジフルオロメチレンジオキシカンプトテシン  
コンプレタスタチン類  
デブプロモアブリシアトキシン

カハラリド-F  
ジスコデルモリド  
エクテイナシジン類

### 抗ウイルス薬

アシクロビル  
Vira A  
Symmetrel

### 抗真菌薬

ナイスタチン

### 追加的な抗新生物薬

アドリアマイシン  
Cerubidine  
ブレオマイシン  
Alkeran  
Velban  
Oncovin  
フルオロウラシル  
メトトレキサート  
チオテパ  
ビスアントレン  
Novantrone  
チオグアニン  
プロカラビジン  
シタラビン

### 抗細菌薬

アミノグリコシド類  
ストレプトマイシン  
ネオマイシン  
カナマイシン  
アミカシン  
ゲンタマイシン  
トブラマイシン  
ストレプトマイシンB  
スペクチノマイシン  
アンピシリン  
スルファニルアミド  
ポリミキシン  
クロラムフェニコール  
【 0 3 7 0 】

ホモハリングトニン  
ピロロベンゾジアゼピン二量体 (PBD)  
ピロロベンゾジアゼペン類  
官能化ピロロベンゾジアゼペン類  
官能化ピロロベンゾジアゼペン二量体

カリケアマイシン類  
ポドフィロトキシン類  
タキサン類  
ビンカアルカロイド類

### コンジュゲート可能な

### 検出試薬

フルオレセインおよびその誘導体  
フルオレセインイソチオシアナート (FITC)

### 放射性医薬品

<sup>125</sup>I  
<sup>131</sup>I  
<sup>89</sup>Zr  
<sup>111</sup>In  
<sup>123</sup>I  
<sup>131</sup>I  
<sup>99m</sup>Tc  
<sup>201</sup>Tl  
<sup>133</sup>Xe  
<sup>11</sup>C  
<sup>62</sup>Cu  
<sup>18</sup>F  
<sup>68</sup>Ga  
<sup>13</sup>N  
<sup>15</sup>O  
<sup>38</sup>K  
<sup>82</sup>Rb  
<sup>99m</sup>Tc (テクネチウム)

### 重金属

バリウム  
金  
白金

### 抗マイコプラズマ薬

タイロシン  
スペクチノマイシン

10

20

30

40

当業者は、多種多様の可能な部分を、本開示の結果として生じた抗体にカップリングで  
きることを認識しているであろう。(例えば、その全内容が参照により本明細書に組み入  
れられる"Conjugate Vaccines", Contributions to Microbiology and Immunology, J. M  
. Cruse and R. E. Lewis, Jr (eds), Carger Press, New York, (1989)を参照されたい

50

。)

【0371】

カップリングは、抗体および他の部分とそのそれぞれの活性を保持する限り、2つの分子を結合することになる任意の化学反応によって達成されることができる。この連結は、多くの化学的機構、例として、共有結合、親和性結合、インターカレーション、配位結合、および複合体化を含むことができる。しかし、いくつかの態様において、結合は共有結合である。共有結合は、既存の側鎖の直接縮合、または外部架橋分子の組み込みのいずれかによって成し遂げることができる。多くの二価または多価の連結剤が、本開示の抗体などのタンパク質分子を他の分子にカップリングするのに有用である。例えば、代表的なカップリング剤には、チオエステル類、カルボジイミド類、スクシンイミドエステル類、ジイソシアナート類、グルタルアルデヒド、ジアゾベンゼン類、およびヘキサメチレンジアミン類などの有機化合物が含まれることができる。この一覧は、当技術分野において公知である種々のクラスのカップリング剤を網羅するようには意図されないが、むしろ、より一般的なカップリング剤を例示する。(Killen and Lindstrom, Jour. Immun. 133:1335-2549 (1984); Jansen et al., Immunological Reviews 62:185-216 (1982)); および Vيتها et al., Science 238:1098 (1987)を参照されたい。)

10

【0372】

いくつかの態様において、本明細書で提供される組成物および方法に加えて、コンジュゲートされた活性化可能抗体はまた、活性化可能抗体配列に挿入されるかまたは別の方法で含まれる修飾アミノ酸配列を通して、部位特異的コンジュゲーションのために修飾することもできる。これらの修飾アミノ酸配列は、コンジュゲートされた活性化可能抗体内で、コンジュゲートされた作用物質の配置および/または投薬量の制御を可能にするように設計される。例えば、活性化可能抗体は、反応性チオール基を提供して、タンパク質のフォールディングおよびアセンブリに負の影響も及ぼさず、抗原結合も変更しない軽鎖および重鎖上の位置で、システイン置換を含むように作製することができる。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、コンジュゲーションに適している部位を提供するために、活性化可能抗体内に1つまたは複数の非天然アミノ酸残基を含むか、または別の方法で導入するように作製することができる。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、活性化可能抗体配列内に酵素学的に活性化可能なペプチド配列を含むか、または別の方法で導入するように作製することができる。

20

30

【0373】

好適なリンカーは、文献に記載されている。(例えば、MBS (M-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステルの使用を記載している、Ramakrishnan, S. et al., Cancer Res. 44:201-208 (1984)を参照されたい。)また、オリゴペプチドリinkerとして抗体にカップリングされるハロゲン化アセチルヒドラジド誘導体の使用を記載している、米国特許第5,030,719号も参照されたい。いくつかの態様において、好適なリンカーには、(i) EDC (1-エチル-3-(3-ジメチルアミノ-プロピル)カルボジイミドヒドロクロリド); (ii) SMPT (4-スクシンイミジルオキシカルボニル- -メチル- -(2-ピリジルジチオ)-トルエン) (Pierce Chem. Co., カタログ21558G); (iii) SPDP (スクシンイミジル-6[3-(2-ピリジルジチオ)プロピオンアミド]ヘキサノアート) (Pierce Chem. Co., カタログ番号21651G); (iv) スルホ-LC-SPDP (スルホスクシンイミジル6[3-(2-ピリジルジチオ)-プロピオンアミド]ヘキサノアート) (Pierce Chem. Co. カタログ番号2165-G); および (v) EDCにコンジュゲートされたスルホ-NHS (N-ヒドロキシスルホ-スクシンイミド; Pierce Chem. Co., カタログ番号24510)が含まれる。追加的なリンカーには、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-カルボキシラート)、スルホ-SMCC (スルホスクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシラート)、SPDB (N-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルジチオ)ブタノアート)、またはスルホ-SPDB (N-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルジチオ)-2-スルホブタノアート)が含まれるが、それらに限定されない。

40

【0374】

50

上記のリンカーは、様々な属性を有する構成要素を含有し、したがって、異なる物理化学的特性を有するコンジュゲートをもたらす。例えば、アルキルカルボキシラートのスルホ-NHSエステルは、芳香族カルボキシラートのスルホ-NHSエステルよりも安定である。NHS-エステルを含有するリンカーは、スルホ-NHSエステルよりも溶解度が低い。さらに、リンカー-SMPTは、立体的に妨げられたジスルフィド結合を含有し、安定性が増大したコンジュゲートを形成することができる。ジスルフィド連結は、一般に、インビトロで切断されるために他の連結よりも安定性が低く、利用可能なコンジュゲートがより少ない状態を結果としてもたらす。スルホ-NHSは、とりわけ、カルボジイミドカップリングの安定性を増強することができる。カルボジイミドカップリング（EDCなど）は、スルホ-NHSと共に使用される時、加水分解に対してカルボジイミドカップリング反応単独よりも耐性であるエステルを形成する。

10

#### 【0375】

いくつかの態様において、リンカーは切断可能である。いくつかの態様において、リンカーは切断不可能である。いくつかの態様において、2つ以上のリンカーが存在する。2つ以上のリンカーはすべて同じであり、すなわち、切断可能もしくは切断不可能であるか、または、2つ以上のリンカーは異なり、すなわち、少なくとも1つは切断可能および少なくとも1つは切断不可能である。

#### 【0376】

本開示は、作用物質をABに付加するためのいくつかの方法：（a）ABの炭水化物部分への付加、または（b）ABのスルフィド基への付加、または（c）ABのアミノ基への付加、または（d）ABのカルボキシレート基への付加を利用する。本開示によると、ABは、少なくとも2つの反応基、ABと反応する1つおよび作用物質と反応する1つを有する中間体リンカーを通して、作用物質に共有結合で付加されることができる。任意の適合性有機化合物を含みうるリンカーは、AB（または作用物質）との反応がABの反応性および選択性に有害な影響を及ぼさないように選択することができる。さらに、リンカーの作用物質への付加は、作用物質の活性を破壊しえない。酸化された抗体または酸化された抗体断片との反応に適しているリンカーには、一級アミン、二級アミン、ヒドラジン、ヒドラジド、ヒドロキシルアミン、フェニルヒドラジン、セミカルバジド、およびチオセミカルバジド基からなる群より選択されるアミンを含有するものが含まれる。そのような反応性官能基は、リンカーの構造の一部として存在してもよいし、または、そのような基を含有しないリンカーの好適な化学修飾によって導入されることができる。

20

30

#### 【0377】

本開示によると、還元されたABへの付加に適しているリンカーには、還元された抗体または断片のスルフィド基と反応することができる、ある特定の反応基を有するものが含まれる。そのような反応基には、反応性ハロアルキル基（例えば、ハロアセチル基を含む）、p-水銀安息香酸基、およびマイケル型付加反応が可能である基（例えば、マレイミド類およびMittra and Lawton, 1979, J. Amer. Chem. Soc. 101: 3097-3110により記載されているタイプの基を含む）が含まれるが、それらに限定されない。

#### 【0378】

本開示によると、酸化も還元もされていないAbへの付加に適しているリンカーには、Ab中の修飾されていないリジン残基に存在する一級アミノ基と反応することができる、ある特定の官能基を有するものが含まれる。そのような反応基には、NHSカルボン酸または炭酸エステル類、スルホ-NHSカルボン酸または炭酸エステル類、4-ニトロフェニルカルボン酸または炭酸エステル類、ペンタフルオロフェニルカルボン酸または炭酸エステル類、アシルイミダゾール類、イソシアナート類、およびイソチオシアナート類が含まれるが、それらに限定されない。

40

#### 【0379】

本開示によると、酸化も還元もされていないAbへの付加に適しているリンカーには、好適な試薬で活性化されている、Ab中のアスパラギン酸残基またはグルタミン酸残基に存在するカルボン酸基と反応することができる、ある特定の官能基を有するものが含まれる。

50

好適な活性化試薬には、NHSまたはスルホ-NHSが加えられているかまたは加えられていないEDC、および、カルボキサミド形成に利用される他の脱水剤が含まれる。これらの例において、好適なリンカー中に存在する官能基には、一級および二級アミン類、ヒドラジン類、ヒドロキシルアミン類、ならびにヒドラジド類が含まれることになる。

【0380】

作用物質は、リンカーがABに付加される前または後に、リンカーに付加されることができる。ある特定の適用において、リンカーが会合した作用物質から遊離しているAB-リンカー中間体を最初に生じることが望ましい場合がある。特定の適用に応じて、特異的な作用物質が、次いで、リンカーに共有結合で付加されてもよい。いくつかの態様において、ABは、MM、CM、および会合したリンカーに最初に付加され、次いで、コンジュゲーションの目的でリンカーに付加される。

10

【0381】

分岐型リンカー：具体的な態様において、作用物質の付加のための複数部位を有する分岐型リンカーが利用される。複数部位リンカーについては、ABへの単一の共有結合性付加が、数多くの部位で作用物質に結合することができるAB-リンカー中間体を結果としてもたらしことになる。部位は、アルデヒド基もしくはスルフヒドリル基、または作用物質が付加することができる任意の化学的単位であることができる。

【0382】

いくつかの態様において、より高い比活性（または作用物質のABに対するより高い比）は、AB上の多数の部位での単一位点リンカーの付加によって成し遂げることができる。この多数の部位は、2つの方法のいずれかによってAB中に導入されることができる。第1に、1つは、同じAB中に複数のアルデヒド基および/またはスルフヒドリル基を生成しうる。第2に、1つは、ABのアルデヒドまたはスルフヒドリルに、その後のリンカーへの付加のために複数の官能部位を有する「分岐型リンカー」を付加しうる。分岐型リンカーまたは複数部位リンカーの官能部位は、アルデヒド基もしくはスルフヒドリル基であることができ、または、リンカーが付加されることができる任意の化学的単位であることができる。さらにより高い比活性は、これらの2つのアプローチを組み合わせること、すなわち、AB上のいくつかの部位で複数部位リンカーを付加することによって得ることができる。

20

【0383】

切断可能なリンカー：u-プラスミノゲンアクチベーター、組織プラスミノゲンアクチベーター、トリプシン、プラスミン、またはタンパク質分解活性を有する別の酵素などであるがそれらに限定されない、補体系の酵素による切断を受けやすいペプチドリリンカーが、本開示の1つの態様において使用されることができる。本開示の1つの方法によると、作用物質は、補体による切断を受けやすいリンカーを介して付加される。抗体は、補体を活性化することができるクラスから選択される。したがって、抗体-作用物質コンジュゲートは、補体カスケードを活性化し、標的部位で作用物質を放出する。本開示の別の方法によると、作用物質は、u-プラスミノゲンアクチベーター、組織プラスミノゲンアクチベーター、プラスミン、またはトリプシンなどのタンパク質分解活性を有する酵素による切断を受けやすいリンカーを介して付加される。これらの切断可能なリンカーは、細胞外毒素、例えば、非限定的な例として、表5に示される細胞外毒素のいずれかを含む、コンジュゲートされた活性化可能抗体において有用である。

30

40

【0384】

切断可能なリンカー配列の非限定的な例を、表6において提供する。

【0385】

（表6）コンジュゲーションのための例示的なリンカー配列

## 切断可能配列のタイプ

## アミノ酸配列

プラスミン切断可能配列

プロウロキナーゼ	PRFKIIGG (SEQ ID NO: 615)
TGFβ	PRFRIIGG (SEQ ID NO: 616)
プラスミノゲン	SSRHRRALD (SEQ ID NO: 617)
スタフィロキナーゼ	RKSSIIIRMRDVVL (SEQ ID NO: 618)
	SSSFDKGKYKKGDDA (SEQ ID NO: 619)
	SSSFDKGKYKRGDDA (SEQ ID NO: 620)

第Xa因子切断可能配列

IEGR (SEQ ID NO: 621)

IDGR (SEQ ID NO: 622)

GGSIDGR (SEQ ID NO: 623)

10

MMP切断可能配列

ゲラチナーゼA PLGLWA (SEQ ID NO: 624)

コラゲナーゼ切断可能配列

子ウシ皮膚コラーゲン (α1(I)鎖)	GPQGIAGQ (SEQ ID NO: 625)
子ウシ皮膚コラーゲン (α2(I)鎖)	GPQGLLGA (SEQ ID NO: 626)
ウシ軟骨コラーゲン (α1(II)鎖)	GIAGQ (SEQ ID NO: 627)
ヒト肝臓コラーゲン (α1(III)鎖)	GPLGIAGI (SEQ ID NO: 628)
ヒトα <sub>2</sub> M	GPEGLRVG (SEQ ID NO: 629)
ヒトPZP	YGAGLGVV (SEQ ID NO: 630)
	AGLGVVER (SEQ ID NO: 631)
	AGLISST (SEQ ID NO: 632)
ラットα <sub>1</sub> M	EPQALAMS (SEQ ID NO: 633)
	QALAMSAI (SEQ ID NO: 634)
ラットα <sub>2</sub> M	AAYHLVSQ (SEQ ID NO: 635)
	MDAFLESS (SEQ ID NO: 636)
ラットα <sub>1</sub> I <sub>3</sub> (2J)	ESLPVVAV (SEQ ID NO: 637)
ラットα <sub>1</sub> I <sub>3</sub> (27J)	SAPAVESE (SEQ ID NO: 638)
ヒト線維芽細胞コラゲナーゼ	DVAQFVLT (SEQ ID NO: 639)
(自己分解性切断)	VAQFVLTE (SEQ ID NO: 640)
	AQFVLTEG (SEQ ID NO: 641)
	PVQPIGPQ (SEQ ID NO: 642)

20

30

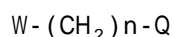
## 【 0 3 8 6 】

加えて、作用物質は、ジスルフィド結合（例えば、システイン分子上のジスルフィド結合）を介してABに付加されることができる。多くの腫瘍は、高レベルのグルタチオン（還元剤）を天然に放出するため、これは、ジスルフィド結合を還元して、送達の部位での作用物質のその後の放出を伴うことができる。いくつかの態様において、CMを修飾するであろう還元剤はまた、コンジュゲートされた活性化可能抗体のリンカーも修飾するであろう。

40

## 【 0 3 8 7 】

スパーサーおよび切断可能要素：いくつかの態様において、活性化可能抗体の作用物質とABとの間の間隔を最適化するような方式で、リンカーを構築することが必要でありうる。これは、以下の一般構造のリンカーの使用によって達成されることができる：



式中、

Wは--NH--CH<sub>2</sub>--または--CH<sub>2</sub>--のいずれかであり；

Qはアミノ酸、ペプチドであり；かつ

nは0～20の整数である。

## 【 0 3 8 8 】

50

いくつかの態様において、リンカーは、スペーサー要素および切断可能要素を含んでもよい。スペーサー要素は、切断可能要素が切断を担う酵素によりアクセス可能であるように、切断可能要素をABのコアから離れて位置づけるために働く。上記の分岐型リンカーのある特定のものは、スペーサー要素として働きうる。

#### 【0389】

この議論を通して、リンカーの作用物質への（またはスペーサー要素の切断可能要素への、または切断可能要素の作用物質への）付加は、特定の様式の付加または反応である必要はないことが理解されるべきである。好適な安定性および生物学的適合性の産物を提供する任意の反応が、受け入れられる。

#### 【0390】

血清補体およびリンカーの選択：本開示の1つの方法によると、作用物質の放出が望ましい時、補体を活性化することができるクラスの抗体であるABが使用される。結果として生じたコンジュゲートは、抗原を結合する能力、および補体カスケードを活性化する能力の両方を保持する。したがって、本開示のこの態様によると、作用物質は、切断可能なリンカーまたは切断可能要素の1つの末端に接合され、リンカー基のもう1つの末端は、AB上の特定の部位に付加される。例えば、作用物質がヒドロキシ基またはアミノ基を有する場合は、ペプチド、アミノ酸、または他の適するように選択されたリンカーのカルボキシ末端に、それぞれ、エステル結合またはアミド結合を介して付加されることができる。例えば、そのような作用物質は、カルボジイミド反応を介してリンカーペプチドに付加されることができる。作用物質が、リンカーへの付加に干渉するであろう官能基を含有する場合は、これらの干渉する官能基を、付加の前に遮断し、ひとたび産物コンジュゲートまたは中間体が作製されたら脱遮断することができる。リンカーの反対の末端またはアミノ末端を、次いで、直接、または、補体を活性化することができるABに対する結合のためのさらなる修飾後のいずれかに使用する。

#### 【0391】

リンカー（またはリンカーのスペーサー要素）は、任意の望ましい長さであることができる、その1つの末端は、活性化可能抗体のAB上の特定の部位に共有結合で付加させることができる。リンカーまたはスペーサー要素のもう1つの末端は、アミノ酸またはペプチドリンカーに付加されることができる。

#### 【0392】

したがって、これらのコンジュゲートが補体の存在下で抗原に結合する時、作用物質をリンカーに付加するアミド結合またはエステル結合が切断され、作用物質のその活性型での放出を結果としてもたらすことになる。これらのコンジュゲートは、対象に投与される時、標的部位での作用物質の送達および放出を達成することになり、表5に提示されるがそれらに限定されない、薬学的作用物質、抗生物質、代謝拮抗物質、抗増殖作用物質などのインビボ送達に特に有効である。

#### 【0393】

補体活性化を伴わない放出のためのリンカー：標的化送達のさらに別の適用において、補体カスケードの活性化は最終的に標的細胞を溶解することになるため、補体活性化を伴わない作用物質の送達望ましい。そのため、このアプローチは、標的細胞を殺傷することなく作用物質の送達および放出が達成されるべきである場合に有用である。ホルモン、酵素、コルチコステロイド、神経伝達物質、遺伝子または酵素などの細胞媒介物質の標的細胞への送達望ましい時、そのようなことが目標である。これらのコンジュゲートは、血清プロテアーゼによる切断を少々受けやすいリンカーを介して、補体を活性化することができないABに作用物質を付加することによって調製されることができる。このコンジュゲートが個体に投与される時、作用物質の切断はゆっくり起こることになるが、抗原-抗体複合体は急速に形成し、したがって標的部位での化合物の放出を結果としてもたらすことになる。

#### 【0394】

生化学的クロスリンカー：いくつかの態様において、活性化可能抗体は、ある特定の生

10

20

30

40

50

化学的クロスリンカーを用いて1つまたは複数の治療用作用物質にコンジュゲートされることができる。架橋試薬は、2つの異なる分子の官能基を結びつける分子架橋を形成する。2つの異なるタンパク質を段階的様式で連結するために、望ましくないホモポリマー形成を排除するヘテロ二官能性クロスリンカーを使用することができる。

# 【 0 3 9 5 】

リソソームプロテアーゼによって切断可能であるペプチジルリンカー、例えば、Val-Cit、Val-Ala、または他のジペプチドもまた有用である。加えて、リソソームの低pH環境で切断可能である酸に不安定なリンカー、例えば、ビスシアリルエーテルを使用することができる。他の好適なリンカーには、カテプシンに不安定な基質、特に酸性pHで最適な機能を示すものが含まれる。

10

# 【 0 3 9 6 】

例示的なヘテロ二官能性クロスリンカーを、表7に参照として載せる。

# 【 0 3 9 7 】

(表7) 例示的なヘテロ二官能性クロスリンカー

ヘテロ二官能性クロスリンカー			
リンカー	反応する対象	利点および適用	架橋後の スペーサーアームの 長さ (オングストローム)
SMPT	一級アミン スルフヒドリル	より大きな安定性	11.2 Å
SPDP	一級アミン スルフヒドリル	チオール化 切断可能な架橋	6.8 Å
LC-SPDP	一級アミン スルフヒドリル	スペーサーアームの伸長	15.6 Å
スルホ-LC-SPDP	一級アミン スルフヒドリル	エキステンダースペーサーアーム 水溶性	15.6 Å
SMCC	一級アミン スルフヒドリル	安定なマレイミド反応基	11.6 Å
スルホ-SMCC	一級アミン	酵素 - 抗体コンジュゲーション ハプテン-担体タンパク質 コンジュゲーション 安定なマレイミド反応基	11.6 Å
	スルフヒドリル	水溶性 酵素 - 抗体コンジュゲーション	
MBS	一級アミン スルフヒドリル	酵素 - 抗体コンジュゲーション ハプテン-担体タンパク質 コンジュゲーション	9.9 Å
スルホ-MBS	一級アミン スルフヒドリル	水溶性	9.9 Å
SIAB	一級アミン スルフヒドリル	酵素 - 抗体コンジュゲーション	10.6 Å
スルホ-SIAB	一級アミン スルフヒドリル	水溶性	10.6 Å
SMPB	一級アミン スルフヒドリル	スペーサーアームの伸長 酵素 - 抗体コンジュゲーション	14.5 Å
スルホ-SMPB	一級アミン スルフヒドリル	スペーサーアームの伸長 水溶性	14.5 Å
EDE/スルホ-NHS	一級アミン カルボキシル基	ハプテン - 担体コンジュゲーション	0
ABH	炭水化物 非選択的	糖類と反応する	11.9 Å

20

30

40

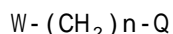
# 【 0 3 9 8 】

50

切断不可能なリンカーまたは直接付加：本開示のいくつかの態様において、コンジュゲートを、作用物質が標的に送達されるが放出されないように設計することができる。これは、直接または切断不可能なリンカーを介してのいずれかで、作用物質をABに付加することによって達成できる。

#### 【0399】

これらの切断不可能なリンカーには、アミノ酸、ペプチド、D-アミノ酸、または、本明細書に記載される方法によるABへの付加においてその後利用することができる官能基を含むように改変されることができる他の有機化合物が含まれる。そのような有機リンカーについての一般式は、



であることができ、

式中、

Wは--NH--CH<sub>2</sub>--または--CH<sub>2</sub>--のいずれかであり；

Qはアミノ酸、ペプチドであり；かつ

nは0～20の整数である。

10

#### 【0400】

切断不可能なコンジュゲート：いくつかの態様において、化合物は、補体を活性化しないABに付加されることができる。補体活性化ができないABを使用する時、この付加は、活性化された補体による切断を受けやすいリンカーを用いて、または、活性化された補体による切断を受けやすすくないリンカーを用いて達成されることができる。

20

#### 【0401】

本明細書において開示される抗体はまた、イムノリボソームとして製剤化することもできる。抗体を含有するリボソームは、Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); ならびに米国特許第4,485,045号および第4,544,545号に記載されているものなどの、当技術分野において公知である方法によって調製される。増強された循環時間を有するリボソームは、米国特許第5,013,556号において開示されている。

#### 【0402】

特に有用なリボソームは、ホスファチジルコリン、コレステロール、およびPEG誘導体化ホスファチジルエタノールアミン(PEG-PE)を含む脂質組成で、逆相蒸発法によって生成することができる。リボソームは、望ましい直径を有するリボソームを生じるように規定された孔サイズのフィルターを通して押し出し成形される。本開示の抗体のFab'断片は、ジスルフィド相互交換反応を介して、Martin et al., J. Biol. Chem., 257: 286-288 (1982)に記載されているように、リボソームにコンジュゲートすることができる。

30

#### 【0403】

##### 定義

特に別の定義がなければ、本開示に関連して用いられる科学および技術的用語は、当業者によって一般的に理解される意味を有するものとする。「1つの(a)」実体または「1つの(an)」実体という用語は、その実体の1つまたは複数をいう。例えば、1つの化合物(a compound)は、1つまたは複数の化合物(one or more compounds)をいう。したがって、「1つの(a)」、「1つの(an)」、「1つまたは複数の(one or more)」および「少なくとも1つの(at least one)」という用語は、互換的に用いることができる。さらに、文脈に別段の定めがない限り、単数形の実体は複数形を含むものとし、複数形の実体は単数形を含むものとする。一般に、本明細書において記述される細胞および組織培養、分子生物学、ならびにタンパク質およびオリゴまたはポリヌクレオチド化学およびハイブリダイゼーションに関連して利用される命名法や、それらの技法は、当技術分野において周知で、一般的に用いられるものである。組み換えDNA、オリゴヌクレオチド合成、ならびに組織培養および形質転換(例えば、エレクトロポレーション、リポフェクション)のために標準的な技法が用いられる。酵素反応および精製技法は、製造業者の仕様書にしたがって、または当技術分野において一般的に行われるように、または本明細書において記述されるように行わ

40

50

れる。前述の技法および手順は一般に、当技術分野において周知の従来の方法にしたがって、および本明細書の全体にわたって引用され論じられている種々の一般的なおよびより具体的な参考文献に記述されているように行われる。例えば、Sambrook et al. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))を参照されたい。本明細書において記述される分析化学、合成有機化学、ならびに医化学および薬化学に関連して利用される命名法、ならびにそれらの実験手順および技法は、当技術分野において周知で、一般的に用いられるものである。化学合成、化学分析、薬学的調製、処方、ならびに患者への送達および患者の処置のために標準的な技法が用いられる。

#### 【0404】

本開示にしたがって利用される場合、以下の用語は、別段の指示がない限り、以下の意味を有すると理解されるものとする。

#### 【0405】

本明細書において用いられる場合、「抗体」という用語は、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン(Ig)分子の免疫学的に活性な部分、すなわち、抗原に特異的に結合する(抗原と免疫反応する)抗原結合部位を含む分子をいう。「特異的に結合する」または「～と免疫反応する」または「免疫特異的に結合する」とは、抗体が所望の抗原の1つもしくは複数の抗原性決定基と反応し、その他のポリペプチドとは反応しないか、またはかなり低い親和性( $K_d > 10^{-6}$ )で結合することを意味する。抗体には、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ドメイン抗体、単鎖、FabおよびF(ab')<sub>2</sub>断片、scFv、なら

#### 【0406】

抗体の基本構造単位は、四量体を含むことが知られている。各四量体は、各対が1本の「軽」鎖(約25 kDa)および1本の「重」鎖(約50～70 kDa)を有する、ポリペプチド鎖の2つの同一の対で構成される。各鎖のアミノ末端部分は、抗原認識を主に担う約100～110個またはそれ以上のアミノ酸の可変領域を含む。各鎖のカルボキシ末端部分は、エフェクター機能を主に担う定常領域を定義する。一般的に、ヒトから得られる抗体分子は、分子に存在する重鎖の性質が互いに異なるIgG、IgM、IgA、IgEおよびIgDのクラスのいずれかに関連する。あるクラスはIgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>などのような、サブクラスも同様に有する。さらに、ヒトでは、軽鎖はカッパ鎖またはラムダ鎖であることができる。

#### 【0407】

本明細書において用いられる「モノクローナル抗体」(mAb)または「モノクローナル抗体組成物」という用語は、固有の軽鎖遺伝子産物および固有の重鎖遺伝子産物からなる抗体分子の1つの分子種のみを含む抗体分子集団をいう。特に、モノクローナル抗体の相補性決定領域(CDR)は、その集団の全ての分子において同一である。MAbは、抗原に対する固有の結合親和性によって特徴付けられる特定の抗原エピトープと免疫反応することができる抗原結合部位を含む。

#### 【0408】

「抗原結合部位」または「結合部分」という用語は、抗原結合に關与する免疫グロブリン分子の部分を含む。抗原結合部位は、重(「H」)鎖および軽(「L」)鎖のN末端可変(「V」)領域のアミノ酸残基によって形成される。「超可変領域」といわれる、重鎖および軽鎖のV領域内の3つの高度に多様な伸長部が、「フレームワーク領域」または「FR」として知られるいっそう保存された隣接伸長部の間に挿入される。このように、「FR」という用語は、免疫グロブリンの超可変領域の間に、および超可変領域に隣接して天然に見出されるアミノ酸配列をいう。抗体分子において、軽鎖の3つの超可変領域および重鎖の3つの超可変領域は、三次元空間で互に関連して配置されて、抗原結合表面を形成する。抗原結合表面は、結合した抗原の三次元表面と相補的であり、重鎖および軽鎖の各々の3つの超可変領域は、「相補性決定領域」または「CDR」といわれる。各ドメインに対するアミノ酸の割付は、Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991))、またはChothia & Lesk J. Mol. B

10

20

30

40

50

iol. 196:901-917 (1987), Chothia et al. Nature 342:878-883 (1989)の定義に従う。

【0409】

本明細書において用いられる場合、「エピトープ」という用語は、免疫グロブリン、sc FvまたはT細胞受容体に特異的に結合することができる任意のタンパク質決定基を含む。

「エピトープ」という用語は、免疫グロブリンまたはT細胞受容体に特異的に結合することができる任意のタンパク質決定基を含む。エピトープ決定基は通常、アミノ酸または糖側鎖のような分子の化学的に活性な表面官能基からなり、通常、特異的な三次元構造特徴、ならびに特異的な電荷特徴を有する。例えば、抗体は、ポリペプチドのN末端ペプチドまたはC末端ペプチドに対して作製されることができる。抗体は、解離定数が $1\mu\text{M}$ 以下；いくつかの態様では $100\text{ nM}$ 以下およびいくつかの態様では $10\text{ nM}$ 以下である場合に抗原に特異的に結合すると言われる。

10

【0410】

本明細書において用いられる場合、「特異的結合」、「免疫学的な結合」および「免疫学的な結合特性」という用語は、免疫グロブリン分子と、免疫グロブリン分子が特異的である抗原との間に起こるタイプの非共有結合性相互作用をいう。免疫学的な結合相互作用の強度または親和性は、相互作用の解離定数( $K_d$ )に関して表現することができ、ここで $K_d$ が小さいほど親和性が大きくなることを表す。選択されたポリペプチドの免疫学的な結合特性は、当技術分野において周知の方法を用いて定量することができる。そのような1つの方法では、抗原結合部位/抗原複合体の形成および解離の速度を測定する段階を伴い、ここでそれらの速度は複合体パートナーの濃度、相互作用の親和性、および両方向の速度に等しく影響を及ぼす幾何学的パラメータに依存する。したがって、濃度ならびに実際の結合速度および解離速度の計算により「結合速度(on rate)定数」( $K_{on}$ )および「解離速度(off rate)定数」( $K_{off}$ )の両方を決定することができる(Nature 361:186-87 (1993)を参照のこと)。 $K_{off}/K_{on}$ の比率は、親和性に関連しない全てのパラメータの削除を可能にし、解離定数 $K_d$ に等しい(一般的には、Davies et al. (1990) Annual Rev Biochem 59:439-473を参照のこと)。本開示の抗体は、放射性リガンド結合アッセイ法または当業者に公知の類似のアッセイ法のようなアッセイにより測定された場合に、結合定数( $K_d$ )が $1\mu\text{M}$ 以下、いくつかの態様では $100\text{ nM}$ 以下、いくつかの態様では $10\text{ nM}$ 以下、およびいくつかの態様では $100\text{ pM}$ 以下～約 $1\text{ pM}$ であれば、標的に特異的に結合すると言われる。

20

【0411】

本明細書において用いられる「単離(された)ポリヌクレオチド」という用語は、ゲノム、cDNA、もしくは合成由来のポリヌクレオチドまたはそのいくつかの組み合わせを意味するものとし、その起源によって「単離(された)ポリヌクレオチド」は、(1)「単離(された)ポリヌクレオチド」が天然において見出されるポリヌクレオチドの全部または一部に結び付いていない、(2)天然において連結されていないポリヌクレオチドに機能的に連結されている、または(3)より大きい配列の一部として天然において存在しない。本開示によるポリヌクレオチドは、本明細書において示される重鎖免疫グロブリン分子をコードする核酸分子、および本明細書において示される軽鎖免疫グロブリン分子をコードする核酸分子を含む。

30

【0412】

本明細書において言及される「単離(された)タンパク質」という用語は、cDNA、組み換えRNAもしくは合成由来のタンパク質、またはそのいくつかの組み合わせを意味し、その由来または起源によって「単離(された)タンパク質」は、(1)天然において見出されるタンパク質に結び付いていない、(2)同じ起源の他のタンパク質を含まない、例えば、マウスタンパク質を含まない、(3)異なる種からの細胞によって発現される、または(4)天然において存在しない。

40

【0413】

「ポリペプチド」という用語は本明細書において一般的な用語として用いられ、ポリペプチド配列の本来のタンパク質、断片または類似体をいう。ゆえに、本来のタンパク質断片および類似体は、ポリペプチド属の種である。本開示によるポリペプチドは、本明細書

50

において示される重鎖免疫グロブリン分子および本明細書において示される軽鎖免疫グロブリン分子、ならびに重鎖免疫グロブリン分子と、カッパ軽鎖免疫グロブリン分子のような軽鎖免疫グロブリン分子とを含む組み合わせ、およびその逆によって形成される抗体分子、ならびにその断片および類似体を含む。

#### 【0414】

本明細書において物体に適用される場合に用いられる「天然に存在する」という用語は、天然において物体を見出すことができるという事実をいう。例えば、天然の供給源から単離することができる生物(ウイルスを含む)に存在し、かつ研究室において人為的にまたはそれ以外の方法で意図的に修飾されていないポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列は、天然に存在する。

10

#### 【0415】

本明細書において用いられる「機能的に連結された」という用語は、そのように記述された構成要素の位置がその意図される方法でそれらを機能させる関係にあることをいう。コード配列に「機能的に連結された」制御配列は、コード配列の発現が、制御配列と適合性の条件下で達成されるようにライゲーションされる。

#### 【0416】

本明細書において用いられる「制御配列」という用語は、それらがライゲーションされるコード配列の発現およびプロセッシングを達成するために必要であるポリヌクレオチド配列をいう。そのような制御配列の性質は、原核生物では宿主生物に応じて異なり、そのような制御配列は一般に、真核生物ではプロモーター、リボソーム結合部位および転写終結配列を含み、一般に、そのような制御配列はプロモーターおよび転写終結配列を含む。「制御配列」という用語は、少なくとも、発現およびプロセッシングにとって存在が不可欠な全ての構成要素を含むことが意図され、同様に存在が有利となる追加の構成要素、例えばリーダー配列および融合パートナー配列を含むことができる。本明細書において言及される「ポリヌクレオチド」という用語は、リボヌクレオチドもしくはデオキシヌクレオチドのいずれかの、長さが少なくとも10塩基のヌクレオチドまたはいずれかのタイプのヌクレオチドの修飾型を意味する。この用語は、DNAの一本鎖型および二本鎖型を含む。

20

#### 【0417】

本明細書において言及されるオリゴヌクレオチドという用語は、天然に存在するヌクレオチド、ならびに天然に存在するおよび天然に存在しないオリゴヌクレオチド結合によってともに連結された修飾ヌクレオチドを含む。オリゴヌクレオチドは、200塩基またはそれ未満の長さを一般的に含むポリヌクレオチドサブセットである。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、長さが10~60塩基であり、いくつかの態様において、長さが12、13、14、15、16、17、18、19、または20~40塩基である。オリゴヌクレオチドは通常、例えばプローブの場合、一本鎖であるが、例えば遺伝子変異体の構築に用いる場合には、オリゴヌクレオチドは二本鎖であってもよい。本開示のオリゴヌクレオチドは、センスまたはアンチセンスオリゴヌクレオチドのいずれかである。

30

#### 【0418】

本明細書において言及される「天然に存在するヌクレオチド」という用語は、デオキシリボヌクレオチドおよびリボヌクレオチドを含む。本明細書において言及される「修飾ヌクレオチド」という用語は、修飾されたまたは置換された糖基などを有するヌクレオチドを含む。本明細書において言及される「オリゴヌクレオチド結合」という用語は、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホロセロエート、ホスホロジセロエート、ホスホロアニロチオエート、ホスホラニラデート、ホスホロンミデート(phosphoronomidate)などのようなオリゴヌクレオチド結合を含む。例えば、LaPlanche et al. Nucl. Acids Res. 14:9081 (1986); Stec et al. J. Am. Chem. Soc. 106:6077 (1984); Stein et al. Nucl. Acids Res. 16:3209 (1988); Zon et al. Anti Cancer Drug Design 6:539 (1991); Zon et al. Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, pp. 87-108 (F. Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England (1991)); Stec et al. 米国特許第5,151,510号; Uhlmann and Peyman Chemical Reviews 90:543 (1990)を参照

40

50

されたい。オリゴヌクレオチドは、所望なら、検出用の標識を含むことができる。

#### 【0419】

本明細書において用いられる場合、20種類の通常アミノ酸およびその略語は、慣例的用法に従う。Immunology - A Synthesis (2nd Edition, E.S. Golub and D.R. Green, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991))を参照されたい。20種類の通常アミノ酸の立体異性体(例えば、D-アミノ酸)、非天然アミノ酸、例えば、 $\beta$ -二置換アミノ酸、N-アルキルアミノ酸、乳酸、および他の非通常アミノ酸も同様に、本開示のポリペプチドに適した成分でありうる。非通常アミノ酸の例としては、4-ヒドロキシプロリン、 $\gamma$ -カルボキシグルタメート、 $\epsilon$ -N,N,N-トリメチルリジン、 $\epsilon$ -N-アセチルリジン、O-ホスホセリン、N-アセチルセリン、N-ホルミルメチオニン、3-メチルヒスチジン、5-ヒドロキシリジン、 $\epsilon$ -N-メチルアルギニン、ならびに他の類似のアミノ酸およびイミノ酸(例えば、4-ヒドロキシプロリン)が挙げられる。本明細書において用いられるポリペプチドの表記において、標準的な用法および慣例にしたがって、左手方向はアミノ末端方向であり、右手方向はカルボキシ末端方向である。

10

#### 【0420】

同様に、特別の定めのない限り、一本鎖ポリヌクレオチド配列の左手末端は5'末端であり、二本鎖ポリヌクレオチド配列の左手方向は、5'方向といわれる。新生RNA転写産物の5'から3'への付加の方向は転写方向といわれ、RNAと同じ配列を有し、RNA転写産物の5'末端に対して5'側にあるDNA鎖上の配列領域は「上流配列」といわれ、RNAと同じ配列を有し、RNA転写産物の3'末端に対して3'側にあるDNA鎖上の配列領域は「下流配列」といわれる。

20

#### 【0421】

ポリペプチドに適用される場合、「実質的な同一性」という用語は、2つのペプチド配列が、例えばプログラムGAPまたはBESTFITなどにより、デフォルトのギャップ重みを用いて最適に整列された場合に、少なくとも80%の配列同一性、いくつかの態様において、少なくとも90%の配列同一性、いくつかの態様において、少なくとも95%の配列同一性、およびいくつかの態様において、少なくとも99%の配列同一性を共有することを意味する。

#### 【0422】

いくつかの態様において、同一でない残基の位置は、保存的アミノ酸置換によって異なる。

30

#### 【0423】

本明細書において論じられるように、抗体または免疫グロブリン分子のアミノ酸配列の軽微な変化は、アミノ酸配列の変化が、少なくとも75%、いくつかの態様において、少なくとも80%、90%、95%、およびいくつかの態様において99%を維持する限り、本開示によって包含されると企図される。特に、保存的アミノ酸交換が企図される。保存的交換は、その側鎖が関連するアミノ酸のファミリー内で行われるものである。遺伝的にコードされるアミノ酸は一般に、以下のファミリーに分けられる：(1) 酸性アミノ酸はアスパラギン酸塩、グルタミン酸塩であり；(2) 塩基性アミノ酸はリジン、アルギニン、ヒスチジンであり；(3) 非極性アミノ酸はアラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファンであり、および(4) 非荷電極性アミノ酸はグリシン、アスパラギン、グルタミン、システイン、セリン、トレオニン、チロシンである。親水性アミノ酸には、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸塩、グルタミン、グルタミン酸塩、ヒスチジン、リジン、セリンおよびトレオニンが含まれる。疎水性アミノ酸には、アラニン、システイン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、トリプトファン、チロシンおよびバリンが含まれる。他のアミノ酸ファミリーには、(i) 脂肪族ヒドロキシファミリーであるセリンおよびトレオニン；(ii) アミド含有ファミリーであるアスパラギンおよびグルタミン；(iii) 脂肪族ファミリーであるアラニン、バリン、ロイシンおよびイソロイシン；ならびに(iv) 芳香族ファミリーであるフェニルアラニン、トリプトファンおよびチロシンが含まれる。例えば、ロイシンとイソロイシンまたはバリンとの、アスパラギン酸塩とグルタミン酸塩との、トレオニンとセ

40

50

リンとの単独交換、またはアミノ酸と構造的に関連するアミノ酸との同類交換は、特に交換にはフレームワーク部位内のアミノ酸が含まれない場合、結果的に得られる分子の結合または特性に大きな影響を及ぼさないと予想することは妥当である。アミノ酸の変化によって機能的ペプチドが得られるかどうかは、ポリペプチド誘導体の特異的活性をアッセイすることにより容易に判定することができる。アッセイ法は、本明細書において詳細に記述される。当業者は、抗体または免疫グロブリン分子の断片または類似体を容易に調製することができる。断片または類似体の好適なアミノ末端およびカルボキシ末端は、機能的ドメインの境界付近に存在する。構造的および機能的ドメインは、公共または専用の配列データベースとのヌクレオチドおよび/またはアミノ酸配列データの比較によって同定することができる。いくつかの態様において、コンピュータ化比較法を用いて、既知構造および/または機能の他のタンパク質に存在する配列モチーフまたは予測されるタンパク質コンフォメーションドメインを同定する。既知の三次元構造に折り畳まれるタンパク質配列を同定する方法は、公知である。Bowie et al. Science 253: 164 (1991)。このように、前述の例は、本開示によって構造的および機能的ドメインを定義するために使用できる配列モチーフおよび構造的コンフォメーションを当業者が認識できることを実証する。

10

#### 【0424】

好適なアミノ酸置換は、(1) タンパク質分解に対する感受性を低減させる、(2) 酸化に対する感受性を低減させる、(3) タンパク質複合体を形成するための結合親和性を变化させる、(4) 結合親和性を变化させる、および(5) そのような類似体の他の物理化学的または機能的特性を付与または改変するものである。類似体は、天然に存在するペプチド配列以外の配列の様々なムテインを含むことができる。例えば、1つまたは複数のアミノ酸置換(例えば、保存的アミノ酸置換)が、天然に存在する配列において(例えば、分子間接触を形成するドメイン外のポリペプチドの部分において)行われることができる。保存的アミノ酸置換は、親配列の構造的特徴を実質的に変化させてはならない(例えば、交換アミノ酸は、親配列に存在するらせんを切断させる傾向も、親配列を特徴付ける他のタイプの二次構造を崩壊させる傾向もあってはならない)。当技術分野で認識されるポリペプチドの二次および三次構造の例はProteins, Structures and Molecular Principles (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); Introduction to Protein Structure (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); およびThornton et al. Nature 354: 105 (1991)に記述されている。

20

30

#### 【0425】

本明細書において用いられる「ポリペプチド断片」という用語は、アミノ末端および/またはカルボキシ末端欠失および/または1つもしくは複数の内部欠失を有するが、しかし残りのアミノ酸配列は、例えば、完全長cDNA配列から推定される天然配列における対応する位置と同一であるポリペプチドをいう。断片は、典型的には、少なくとも5、6、8または10アミノ酸長であり、いくつかの態様において、少なくとも14アミノ酸長であり、いくつかの態様において、少なくとも20アミノ酸長であり、通常は、少なくとも50アミノ酸長であり、およびいくつかの態様において、少なくとも70アミノ酸長である。本明細書において用いられる「類似体」という用語は、推定されたアミノ酸配列の部分と実質的な同一性を有し、かつ好適な結合条件下で、標的への特異的結合を有する少なくとも25アミノ酸のセグメントで構成されるポリペプチドをいう。典型的には、ポリペプチド類似体は、天然に存在する配列に関して保存的アミノ酸置換(または付加もしくは欠失)を含む。類似体は、典型的には、少なくとも20アミノ酸長、いくつかの態様において、少なくとも50アミノ酸長またはそれ以上であり、完全長の天然ポリペプチドと同じくらい長いことも多い。

40

#### 【0426】

「作用物質」という用語は、本明細書において、化学化合物、化学化合物の混合物、生物学的高分子、または生物学的材料から作製された抽出物を示すために用いられる。

#### 【0427】

本明細書において用いられる場合、「標識」または「標識された」という用語は、例えば、放射性標識アミノ酸の組み入れ、またはマーキングされたアビジン(例えば、光学的

50

方法もしくは熱量測定法によって検出できる蛍光マーカ－もしくは酵素活性を含むストレプトアビジン)によって検出できるビオチニル部分のポリペプチドへの結合による、検出可能なマーカ－の組み入れをいう。ある特定の状況では、標識またはマーカ－は治療的であることもできる。ポリペプチドおよび糖タンパク質を標識する様々な方法が当技術分野において公知であり、使用可能である。ポリペプチドの標識の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されることはない：放射性同位体または放射性核種(例えば、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ )、蛍光標識(例えば、FITC、ローダミン、ランタニド蛍光体)、酵素標識(例えば西洋ワサビペルオキシダーゼ、p-ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ)、化学発光物質、ビオチニル基、二次レポーターによって認識される所定のポリペプチドエピトープ(例えばロイシンジッパー対配列、二次抗体の結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ)。いくつかの態様において、潜在的な立体障害を低減させるために、様々な長さのスペーサーアームによって標識が結合される。本明細書において用いられる「薬学的作用物質(pharmaceutical agent)または薬物」という用語は、患者に適切に投与された場合に、所望の治療効果を誘導することができる化学化合物または組成物をいう。

10

#### 【0428】

本明細書における他の化学用語は、The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (Parker, S., Ed., McGraw-Hill, San Francisco (1985))によって例証されるように、当技術分野における慣例的用法にしたがって用いられる。

#### 【0429】

本明細書において用いられる場合、「実質的に純粋な」とは、目的種が、存在する優勢な種である(すなわち、モルに基づいて、組成物中の他の任意の個々の種より豊富に存在する)ことを意味し、いくつかの態様において、実質的に精製された画分は、目的種が、存在する全ての高分子種の少なくとも約50パーセント(モルに基づいて)を構成する組成物である。

20

#### 【0430】

一般的に、実質的に純粋な組成物は、組成物中に存在する全ての高分子種の約80%超、いくつかの態様において、約85%、90%、95%および99%超を構成するであろう。いくつかの態様において、目的種は、組成物が単一の高分子種から本質的になる、本質的な均一性となるまで精製される(通常の検出法によって組成物中に夾雑種を検出することができない)。

30

#### 【0431】

患者という用語には、ヒトおよび獣医学の対象が含まれる。

#### 【0432】

本開示の抗体および/または活性化可能抗体は、所定の標的、例えばヒトCD71のようなヒト標的タンパク質に特異的に結合する。本明細書において記述される抗体および/または活性化可能抗体と同じエピトープに結合する抗体および/または活性化可能抗体も本開示に含まれる。本開示にはまた、CD71、例えばヒトCD71に対する結合について、本明細書において記述される抗CD71抗体および/または抗CD71活性化可能抗体と競合する、抗体および/または抗体活性化可能抗体も含まれる。本開示にはまた、CD71、例えばヒトCD71に対する結合について本明細書において記述される抗CD71抗体および/または抗CD71活性化可能抗体と交差競合する、抗体および/または抗体活性化可能抗体も含まれる。

40

#### 【0433】

モノクローナル抗体(例えば、マウスモノクローナル抗体またはヒト化抗体)が、本明細書において記述される方法において用いられるモノクローナル抗体と同じ特異性を有するかどうかを、前者が後者を標的に結合させないようにするかどうかを確かめることにより、過度の実験なしに、判定することが可能であることを当業者は認識するであろう。試験されているモノクローナル抗体が、本開示のモノクローナル抗体による結合の減少によって示されるように、本開示のモノクローナル抗体と競合するなら、この2つのモノクローナル抗体は、同じ、または密接に関連するエピトープに結合する。モノクローナル抗体が

50

本開示のモノクローナル抗体の特異性を有するかどうかを判定するための別の方法は、本開示のモノクローナル抗体を標的とプレインキュベートし、次に試験されているモノクローナル抗体を添加して、試験されているモノクローナル抗体は標的に結合するその能力が阻害されるかを判定することである。試験されているモノクローナル抗体が阻害されるなら、恐らく、それは本開示のモノクローナル抗体と同じ、または機能的に等価な、エピトープ特異性を有する。

#### 【0434】

##### 多重特異性活性化可能抗体

本開示はまた、多重特異性抗CD71活性化可能抗体を提供する。本明細書において提供される多重特異性活性化可能抗体は、CD71および少なくとも1つまたは複数の異なる抗原またはエピトープを認識し、かつ多重特異性抗体の少なくとも1つの抗原結合ドメインまたはエピトープ結合ドメインに連結された少なくとも1つのマスキング部分(MM)を含む多重特異性抗体であり、MMのカップリングによって、抗原結合ドメインまたはエピトープ結合ドメインのその標的に結合する能力が低減される。いくつかの態様において、MMは、少なくとも1つのプロテアーゼの基質として機能する切断可能部分(CM)を介して、多重特異性抗体の抗原結合ドメインまたはエピトープ結合ドメインにカップリングされている。本明細書において提供される活性化可能な多重特異性抗体は、循環血中で安定であり、意図された治療部位および/または診断部位で活性化されるが、しかし正常な、すなわち健全な組織では活性化されず、活性化されると、対応する非修飾多重特異性抗体に少なくとも匹敵する標的への結合を示す。

#### 【0435】

いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体は、免疫エフェクター細胞に係合するようにデザインされ、本明細書において免疫エフェクター細胞係合性の多重特異性活性化可能抗体ともいわれる。いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体は、白血球に係合するようにデザインされ、本明細書において白血球係合性の多重特異性活性化可能抗体ともいわれる。いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体は、T細胞に係合するようにデザインされ、本明細書においてT細胞係合性の多重特異性活性化可能抗体ともいわれる。いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体は、白血球上、例えばT細胞上、ナチュラルキラー(NK)細胞上、骨髄単核細胞上、マクロファージ上、および/または別の免疫エフェクター細胞上の表面抗原に係合する。いくつかの態様において、免疫エフェクター細胞は白血球である。いくつかの態様において、免疫エフェクター細胞はT細胞である。いくつかの態様において、免疫エフェクター細胞はNK細胞である。いくつかの態様において、免疫エフェクター細胞は骨髄単核細胞のような、単核細胞である。いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体は、2つ以上の標的および/または2つ以上のエピトープと結合するかまたはそうでなければ相互作用するようにデザインされ、本明細書において多抗原標的性の活性化可能抗体ともいわれる。本明細書において用いられる場合、「標的」および「抗原」という用語は互換的に用いられる。

#### 【0436】

いくつかの態様において、本開示の免疫エフェクター細胞係合性の多重特異性活性化可能抗体は、CD71に結合するターゲティング抗体またはその抗原結合断片、および免疫エフェクター細胞係合性の抗体またはその抗原結合部分を含み、ここで該ターゲティング抗体もしくはその抗原結合断片および/または免疫エフェクター細胞係合性の抗体もしくはその抗原結合部分の少なくとも1つがマスクされている。いくつかの態様において、免疫エフェクター細胞係合性の抗体またはその抗原結合断片は、第1の免疫エフェクター細胞係合性の標的に結合する第1の抗体またはその抗原結合断片(AB1)を含み、ここでAB1はマスキング部分(MM1)に、MM1のカップリングが第1の標的に結合するAB1の能力を低減させるように結合されている。いくつかの態様において、ターゲティング抗体またはその抗原結合断片は、CD71に結合する第2の抗体またはその抗原結合断片(AB2)を含む第2の抗体またはその断片を含み、ここでAB2はマスキング部分(MM2)に、MM2のカップリングがCD71に結合するAB2の能力を低減させるように結合されている。いくつかの態様において、免疫エフ

エクター細胞係合性の抗体またはその抗原結合断片は、第1の免疫エフェクター細胞係合性の標的に結合する第1の抗体またはその抗原結合断片(AB1)を含み、ここでAB1はマスキング部分(MM1)に、MM1のカップリングが第1の標的に結合するAB1の能力を低減させるように結合され、かつターゲティング抗体またはその抗原結合断片は、CD71に結合する第2の抗体またはその抗原結合断片(AB2)を含む第2の抗体またはその断片を含み、ここでAB2はマスキング部分(MM2)に、MM2のカップリングがCD71に結合するAB2の能力を低減させるように結合されている。いくつかの態様において、非免疫エフェクター細胞係合性の抗体は、がんターゲティング抗体である。いくつかの態様において、非免疫細胞エフェクター抗体はIgGである。いくつかの態様において、免疫エフェクター細胞係合性の抗体はscFvである。いくつかの態様において、CD71ターゲティング抗体(例えば、非免疫細胞エフェクター抗体)はIgGであり、かつ免疫エフェクター細胞係合性の抗体はscFvである。いくつかの態様において、免疫エフェクター細胞は白血球である。いくつかの態様において、免疫エフェクター細胞はT細胞である。いくつかの態様において、免疫エフェクター細胞はNK細胞である。いくつかの態様において、免疫エフェクター細胞は骨髄単核細胞である。

10

20

30

40

50

#### 【0437】

いくつかの態様において、本開示のT細胞係合性の多重特異性活性化可能抗体は、CD71ターゲティング抗体またはその抗原結合断片およびT細胞係合性の抗体またはその抗原結合部分を含み、ここでCD71ターゲティング抗体もしくはその抗原結合断片および/またはT細胞係合性の抗体もしくはその抗原結合部分の少なくとも1つがマスクされている。いくつかの態様において、T細胞係合性の抗体またはその抗原結合断片は、第1のT細胞係合性の標的に結合する第1の抗体またはその抗原結合断片(AB1)を含み、ここでAB1はマスキング部分(MM1)に、MM1のカップリングが第1の標的に結合するAB1の能力を低減させるように結合されている。いくつかの態様において、ターゲティング抗体またはその抗原結合断片は、CD71に結合する第2の抗体またはその抗原結合断片(AB2)を含む第2の抗体またはその断片を含み、ここでAB2はマスキング部分(MM2)に、MM2のカップリングがCD71に結合するAB2の能力を低減させるように結合されている。いくつかの態様において、T細胞係合性の抗体またはその抗原結合断片は、第1のT細胞係合性の標的に結合する第1の抗体またはその抗原結合断片(AB1)を含み、ここでAB1はマスキング部分(MM1)に、MM1のカップリングが第1の標的に結合するAB1の能力を低減させるように結合され、かつターゲティング抗体またはその抗原結合断片は、CD71に結合する第2の抗体またはその抗原結合断片(AB2)を含む第2の抗体またはその断片を含み、ここでAB2はマスキング部分(MM2)に、MM2のカップリングがCD71に結合するAB2の能力を低減させるように結合されている。

#### 【0438】

免疫エフェクター細胞係合性の多重特異性活性化可能抗体のいくつかの態様において、1つの抗原はCD71であり、別の抗原は、典型的には、T細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞、骨髄単核細胞、マクロファージ、および/または限定されるものではないが、B7-H4、BTLA、CD3、CD4、CD8、CD16a、CD25、CD27、CD28、CD32、CD56、CD137、CTLA-4、GITR、HVEM、ICOS、LAG3、NKG2D、OX40、PD1、TIGIT、TIM3もしくはVISTAのような、他の免疫エフェクター細胞の表面上に存在する刺激性または阻害性の受容体である。いくつかの態様において、抗原は、T細胞またはNK細胞の表面上に存在する刺激性受容体であり；そのような刺激性受容体の例としては、CD3、CD27、CD28、CD137 (4-1BBともいわれる)、GITR、HVEM、ICOS、NKG2DおよびOX40が挙げられるが、これらに限定されることはない。いくつかの態様において、抗原は、T細胞の表面上に存在する阻害性受容体であり；そのような阻害性受容体の例としては、BTLA、CTLA-4、LAG3、PD1、TIGIT、TIM3およびNK発現KIRが挙げられるが、これらに限定されることはない。T細胞表面抗原に特異性を付与する抗体ドメインはまた、限定されるものではないが、B7-1、B7-2、B7H3、PDL1、PDL2またはTNFSF9のような、T細胞受容体、NK細胞受容体、マクロファージ受容体、および/または他の免疫エフェクター細胞受容体に結合するリガンドまたはリガンドドメインによって置換されうる。

#### 【0439】

いくつかの態様において、T細胞係合性の多重特異性活性化可能抗体は、抗CD3イプシロン(CD3ε、本明細書においてCD3εおよびCD3ともいわれる) scFvならびにターゲティング抗体またはその抗原結合断片を含み、ここで抗CD3ε scFvおよび/またはターゲティング抗体もしくはその抗原結合部分の少なくとも1つがマスクされている。いくつかの態様において、CD3ε scFvは、CD3ε に結合する第1の抗体またはその抗原結合断片(AB1)を含み、ここでAB1はマスク部分(MM1)に、MM1のカップリングがCD3ε に結合するAB1の能力を低減させるように結合されている。いくつかの態様において、ターゲティング抗体またはその抗原結合断片は、CD71に結合する第2の抗体またはその抗原結合断片(AB2)を含む第2の抗体またはその断片を含み、ここでAB2はマスク部分(MM2)に、MM2のカップリングがCD71に結合するAB2の能力を低減させるように結合されている。いくつかの態様において、CD3ε scFvは、CD3ε に結合する第1の抗体またはその抗原結合断片(AB1)を含み、ここでAB1はマスク部分(MM1)に、MM1のカップリングがCD3ε に結合するAB1の能力を低減させるように結合され、かつターゲティング抗体またはその抗原結合断片は、CD71に結合する第2の抗体またはその抗原結合断片(AB2)を含む第2の抗体またはその断片を含み、ここでAB2はマスク部分(MM2)に、MM2のカップリングがCD71に結合するAB2の能力を低減させるように結合されている。

10

#### 【0440】

いくつかの態様において、多抗原ターゲティング抗体および/または多抗原ターゲティング活性化可能抗体は、少なくとも、第1の標的および/または第1のエピトープに結合する第1の抗体またはその抗原結合断片、ならびに第2の標的および/または第2のエピトープに結合する第2の抗体またはその抗原結合断片を含む。いくつかの態様において、多抗原ターゲティング抗体および/または多抗原ターゲティング活性化可能抗体は、2つまたはそれ以上の異なる標的に結合する。いくつかの態様において、多抗原ターゲティング抗体および/または多抗原ターゲティング活性化可能抗体は、同じ標的上の2つまたはそれ以上の異なるエピトープに結合する。いくつかの態様において、多抗原ターゲティング抗体および/または多抗原ターゲティング活性化可能抗体は、2つまたはそれ以上の異なる標的および同じ標的上の2つまたはそれ以上の異なるエピトープの組み合わせに結合する。

20

#### 【0441】

いくつかの態様において、IgGを含む多重特異性活性化可能抗体は、IgG可変ドメインがマスクされている。いくつかの態様において、scFvを含む多重特異性活性化可能抗体は、scFvドメインがマスクされている。いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体は、複数のIgG可変ドメインおよび複数のscFvドメインの両方を有し、ここでIgG可変ドメインの少なくとも1つがマスク部分にカップリングされている。いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体は、複数のIgG可変ドメインおよび複数のscFvドメインの両方を有し、ここでscFvドメインの少なくとも1つがマスク部分にカップリングされている。いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体は、複数のIgG可変ドメインおよび複数のscFvドメインの両方を有し、ここでIgG可変ドメインの少なくとも1つがマスク部分にカップリングされ、かつscFvドメインの少なくとも1つがマスク部分にカップリングされている。いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体は、複数のIgG可変ドメインおよび複数のscFvドメインの両方を有し、ここでIgG可変ドメインおよびscFvドメインの各々が、それ自体のマスク部分にカップリングされている。いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体の1つの抗体ドメインは標的抗原に対する特異性を有し、別の抗体ドメインはT細胞表面抗原に対する特異性を有する。いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体の1つの抗体ドメインは標的抗原に対する特異性を有し、別の抗体ドメインは別の標的抗原に対する特異性を有する。いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体の1つの抗体ドメインは標的抗原のエピトープに対する特異性を有し、別の抗体ドメインは該標的抗原の別のエピトープに対する特異性を有する。

30

40

#### 【0442】

多重特異性活性化可能抗体において、scFvは、IgG活性化可能抗体の重鎖のカルボキシ

50

ル末端に、IgG活性化可能抗体の軽鎖のカルボキシル末端に、またはIgG活性化可能抗体の重鎖および軽鎖の両方のカルボキシル末端に融合することができる。多重特異性活性化可能抗体において、scFvは、IgG活性化可能抗体の重鎖のアミノ末端に、IgG活性化可能抗体の軽鎖のアミノ末端に、またはIgG活性化可能抗体の重鎖および軽鎖の両方のアミノ末端に融合することができる。多重特異性活性化可能抗体において、scFvは、IgG活性化可能抗体の1つまたは複数のカルボキシル末端および1つまたは複数のアミノ末端の任意の組み合わせに融合することができる。いくつかの態様において、切断可能部分(CM)に連結されたマスキング部分(MM)は、IgGの抗原結合ドメインに結合され、それをマスクする。いくつかの態様において、切断可能部分(CM)に連結されたマスキング部分(MM)は、少なくとも1つのscFvの抗原結合ドメインに結合され、それをマスクする。いくつかの態様において、切断可能部分(CM)に連結されたマスキング部分(MM)は、IgGの抗原結合ドメインに結合され、それをマスクし、かつ切断可能部分(CM)に連結されたマスキング部分(MM)は、少なくとも1つのscFvの抗原結合ドメインに結合され、それをマスクする。

10

20

30

40

50

# 【 0 4 4 3 】

本開示は、以下を含むがそれらに限定されない、多重特異性活性化可能抗体の構造の例を提供する：

(VL-CL)<sub>2</sub>:(VH-CH1-CH2-

CH3-L4-VH\*-L3-VL\*-L2-CM-L1-MM)<sub>2</sub>; (VL-CL)<sub>2</sub>:(VH-CH1-CH2-CH3-L4-VL\*-L3-VH\*-L2-CM-L1-MM)<sub>2</sub>; (MM-L1-CM-L2-VL-CL)<sub>2</sub>:(VH-CH1-CH2-CH3-L4-VH\*-L3-VL\*)<sub>2</sub>; (MM-L1-CM-L2-VL-CL)<sub>2</sub>:(VH-CH1-CH2-CH3-L4-VL\*-L3-VH\*)<sub>2</sub>; (VL-CL)<sub>2</sub>:(MM-L1-CM-L2-VL\*-L3-VH\*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (VL-CL)<sub>2</sub>:(MM-L1-CM-L2-VH\*-L3-VL\*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (MM-L1-CM-L2-VL-CL)<sub>2</sub>:(VL\*-L3-VH\*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (MM-L1-CM-L2-VL-CL)<sub>2</sub>:(VH\*-L3-VL\*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (VL-CL-L4-VH\*-L3-VL\*-L2-CM-L1-MM)<sub>2</sub>:(VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (VL-CL-L4-VL\*-L3-VH\*-L2-CM-L1-MM)<sub>2</sub>:(VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (MM-L1-CM-L2-VL\*-L3-VH\*-L4-VL-CL)<sub>2</sub>:(VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (MM-L1-CM-L2-VH\*-L3-VL\*-L4-VL-CL)<sub>2</sub>:(VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (VL-CL-L4-VH\*-L3-VL\*-L2-CM-L1-MM)<sub>2</sub>:(MM-L1-CM-L2-VL\*-L3-VH\*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (VL-CL-L4-VH\*-L3-VL\*-L2-CM-L1-MM)<sub>2</sub>:(MM-L1-CM-L2-VL\*-L3-VH\*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (VL-CL-L4-VL\*-L3-VH\*-L2-CM-L1-MM)<sub>2</sub>:(MM-L1-CM-L2-VH\*-L3-VL\*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (VL-CL-L4-VH\*-L3-VL\*)<sub>2</sub>:(MM-L1-CM-L2-VL\*-L3-VH\*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (VL-CL-L4-VH\*-L3-VL\*)<sub>2</sub>:(MM-L1-CM-L2-VH\*-L3-VL\*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (VL-CL-L4-VL\*-L3-VH\*)<sub>2</sub>:(MM-L1-CM-L2-VL\*-L3-VH\*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (VL-CL-L4-VL\*-L3-VH\*)<sub>2</sub>:(MM-L1-CM-L2-VH\*-L3-VL\*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (VL-CL-L4-VH\*-L3-VL\*-L2-CM-L1-MM)<sub>2</sub>:(VL\*-L3-VH\*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (VL-CL-L4-VH\*-L3-VL\*-L2-CM-L1-MM)<sub>2</sub>:(VH\*-L3-VL\*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; (VL-CL-L4-VL\*-L3-VH\*-L2-CM-L1-MM)<sub>2</sub>:(VL\*-L3-VH\*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>; または (VL-CL-L4-VL\*-L3-VH\*-L2-CM-L1-MM)<sub>2</sub>:(VH\*-L3-VL\*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)<sub>2</sub>

上記構造中：VLおよびVHは、IgGに含まれる、第1の特異性の軽鎖および重鎖可変ドメインを表し；VL\*およびVH\*は、scFvに含まれる、第2の特異性の可変ドメインを表し；L1は、マスキング部分(MM)と切断可能部分(CM)とをつなぐリンカーペプチドであり；L2は、切

断可能部分(CM)と抗体とをつなぐリンカーペプチドであり；L3は、scFvの可変ドメイン間をつなぐリンカーペプチドであり；L4は、第1の特異性の抗体を第2の特異性の抗体につなぐリンカーペプチドであり；CLは軽鎖定常ドメインであり；ならびにCH1、CH2、CH3は重鎖定常ドメインである。第1および第2の特異性は、任意の抗原またはエピトープに対して向けられることができる。

#### 【0444】

T細胞系合性の多重特異性活性化可能抗体のいくつかの態様において、1つの抗原はCD71であり、別の抗原は、典型的には、T細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞、骨髄単核細胞、マクロファージ、および/または限定されるものではないが、B7-H4、BTLA、CD3、CD4、CD8、CD16a、CD25、CD27、CD28、CD32、CD56、CD137 (TNFRSF9ともいわれる)、CTLA-4、GITR、HVEM、ICOS、LAG3、NKG2D、OX40、PD-1、TIGIT、TIM3もしくはVISTAのような、他の免疫エフェクター細胞の表面上に存在する刺激性(本明細書において活性化ともいわれる)または阻害性の受容体である。T細胞表面抗原に特異性を付与する抗体ドメインはまた、T細胞受容体、NK細胞受容体、マクロファージ受容体、および/または他の免疫エフェクター細胞受容体に結合するリガンドまたはリガンドドメインによって置換されうる。

10

#### 【0445】

いくつかの態様において、ターゲティング抗体は、本明細書において開示される抗CD71抗体である。いくつかの態様において、ターゲティング抗体は、活性化可能抗体の形態であることができる。いくつかの態様において、scFvはPro-scFvの形態であることができる(例えば、WO 2009/025846、WO 2010/081173を参照のこと)。

20

#### 【0446】

いくつかの態様において、scFvは、CD3 の結合に特異的であり、CD3 に結合する抗体またはその断片、例えばCH2527、FN18、H2C、OKT3、2C11、UCHT1またはV9を含むか、またはそれらに由来する。いくつかの態様において、scFvは、CTLA-4 (本明細書においてCTLAおよびCTLA4ともいわれる)の結合に特異的である。

#### 【0447】

いくつかの態様において、抗CTLA-4 scFvは、アミノ酸配列：  
GGSGGGSGSGSGSGSGSGSGSGGGEIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ  
QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGGSSPLTF  
GGGTKVEIKRSGGSTITSYNVYYTKLSSSGTQVQLVQTGGGVVQPGRSLRLSCAASGSTFS  
SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT  
AVYYCATNSLYWYFDLWGRGTLTVSSAS (SEQ ID NO: 643)  
を含む。

30

#### 【0448】

いくつかの態様において、抗CTLA-4 scFvは、SEQ ID NO: 643のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一であるアミノ酸配列を含む。

#### 【0449】

いくつかの態様において、抗CD3 scFvは、アミノ酸配列：  
GGSGGGSGSGSGSGSGSGSGSGGQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVK  
QRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTDTKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARY  
YDDHYCLDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSQIVLTQSPAIMSASPGKVTMTCSAS  
SSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSSYSLTISGMEAEDAATYYC  
QQWSSNPFTFGSGTKLEINR (SEQ ID NO: 644)  
を含む。

40

#### 【0450】

いくつかの態様において、抗CD3 scFvは、SEQ ID NO: 644のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一であるアミノ

50

酸配列を含む。

【0451】

いくつかの態様において、scFvは、1つもしくは複数のT細胞、1つもしくは複数のNK細胞および/または1つもしくは複数のマクロファージの結合に特異的である。いくつかの態様において、scFvは、B7-H4、BTLA、CD3、CD4、CD8、CD16a、CD25、CD27、CD28、CD32、CD56、CD137、CTLA-4、GITR、HVEM、ICOS、LAG3、NKG2D、OX40、PD-1、TIGIT、TIM3またはVISTAからなる群より選択される標的の結合に特異的である。

【0452】

いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体には、ABにコンジュゲートされた作用物質も含まれる。いくつかの態様において、作用物質は治療用作用物質である。いくつかの態様において、作用物質は抗新生物性作用物質である。いくつかの態様において、作用物質は毒素またはその断片である。いくつかの態様において、作用物質はリンカーを介して多重特異性活性化可能抗体にコンジュゲートされる。いくつかの態様において、作用物質は切断可能なリンカーを介してABにコンジュゲートされる。いくつかの態様において、リンカーは切断不可能なリンカーである。いくつかの態様において、作用物質は微小管阻害物質である。いくつかの態様において、作用物質は、DNAアルキル化剤もしくはDNAインターカレーターのような核酸損傷性作用物質、または他のDNA損傷性作用物質である。いくつかの態様において、リンカーは切断可能なリンカーである。いくつかの態様において、作用物質は、表5に列挙される群から選択される作用物質である。いくつかの態様において、作用物質はドラスタチンである。いくつかの態様において、作用物質はアウリスタチンまたはその誘導体である。いくつかの態様において、作用物質はアウリスタチンEまたはその誘導体である。いくつかの態様において、作用物質はモノメチルアウリスタチンE (MMAE)である。いくつかの態様において、作用物質はモノメチルアウリスタチンD (MMAD)である。いくつかの態様において、作用物質はメイタンシノイドまたはメイタンシノイド誘導体である。いくつかの態様において、作用物質はDM1またはDM4である。いくつかの態様において、作用物質はデュオカルマイシンまたはその誘導体である。いくつかの態様において、作用物質はカリケアマイシンまたはその誘導体である。いくつかの態様において、作用物質はピロロベンゾジアゼピンである。いくつかの態様において、作用物質はピロロベンゾジアゼピン二量体である。

【0453】

いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体はまた、検出可能部分も含む。いくつかの態様において、検出可能部分は診断用作用物質である。

【0454】

いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体は、天然には、1つまたは複数のジスルフィド結合を含む。いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体は、1つまたは複数のジスルフィド結合を含むように操作することができる。

【0455】

本開示はまた、本明細書において記述される多重特異性活性化可能抗体をコードする単離された核酸分子、およびこれらの単離された核酸配列を含むベクターを提供する。本開示は、活性化可能抗体の発現をもたらす条件下で、そのような核酸分子を含む細胞を培養することによって、多重特異性活性化可能抗体を産生する方法を提供する。いくつかの態様において、細胞はそのようなベクターを含む。

【0456】

本開示はまた、(a) 多重特異性活性化可能抗体の発現をもたらす条件下で、多重特異性活性化可能抗体をコードする核酸構築体を含む細胞を培養すること、および(b) 多重特異性活性化可能抗体を回収することによって、本開示の多重特異性活性化可能抗体を製造する方法を提供する。好適なAB、MMおよび/またはCMは、本明細書において開示されるAB、MMおよび/またはCMのいずれかを含む。

【0457】

本開示はまた、少なくとも、第1の標的または第1のエピトープに特異的に結合する第1

の抗体またはその抗原結合断片(AB1)および第2の標的または第2のエピトープに特異的に結合する第2の抗体またはその抗原結合断片(AB2)を含む多重特異性活性化可能抗体および/または多重特異性活性化可能抗体組成物を提供し、ここで少なくともAB1はマスキング部分(MM1)に、MM1のカップリングがAB1のその標的に結合する能力を低減させるようにカップリングされているか、またはそれ以外の方法で結合されている。いくつかの態様において、MM1は、プロテアーゼ、例えば対象における処置部位または診断部位でAB1の標的と共同在化されているプロテアーゼの基質を含む第1の切断可能部分(CM1)配列を介してAB1にカップリングされている。本明細書において提供される多重特異性活性化可能抗体は、循環血中で安定であり、意図された治療部位および/または診断部位で活性化されるが、しかし正常な、すなわち健全な組織では活性化されず、活性化されると、対応する非修飾多重特異性抗体に少なくとも匹敵するAB1の標的への結合を示す。好適なAB、MMおよび/またはCMは、本明細書において開示されるAB、MMおよび/またはCMのいずれかを含む。

10

20

30

40

50

#### 【0458】

本開示はまた、少なくとも、標的に特異的に結合する第1の抗体または抗体断片(AB1)および第2の抗体または抗体断片(AB2)を含む多重特異性活性化可能抗体を含む組成物および方法を提供し、ここで少なくとも多重特異性活性化可能抗体における第1のABは、AB1のその標的に結合する能力を低下させるマスキング部分(MM1)にカップリングされている。いくつかの態様において、各ABは、各標的に対するその対応するABの能力を低下させるMMにカップリングされている。例えば、二重特異性の活性化可能抗体の態様において、AB1は、AB1のその標的に結合する能力を低下させる第1のマスキング部分(MM1)にカップリングされており、AB2は、AB2のその標的に結合する能力を低下させる第2のマスキング部分(MM2)にカップリングされている。いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体は3つ以上のAB領域を含み；そのような態様において、多重特異性活性化可能抗体における各ABについて、AB1は、AB1のその標的に結合する能力を低下させる第1のマスキング部分(MM1)にカップリングされており、AB2は、AB2のその標的に結合する能力を低下させる第2のマスキング部分(MM2)にカップリングされており、AB3は、AB3のその標的に結合する能力を低下させる第3のマスキング部分(MM3)にカップリングされている、などである。好適なAB、MMおよび/またはCMは、本明細書において開示されるAB、MMおよび/またはCMのいずれかを含む。

#### 【0459】

いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体は、プロテアーゼの基質である少なくとも1つの切断可能部分(CM)をさらに含み、ここでCMがMMをABに連結している。例えば、いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体は、少なくとも、標的に特異的に結合する第1の抗体または抗体断片(AB1)および第2の抗体または抗体断片(AB2)を含み、ここで少なくとも多重特異性活性化可能抗体における第1のABは、AB1のその標的に結合する能力を低下させるマスキング部分(MM1)に第1の切断可能部分(CM1)を介してカップリングされている。いくつかの二重特異性の活性化可能抗体の態様において、AB1はMM1にCM1を介してカップリングされており、AB2は、AB2のその標的に結合する能力を低下させる第2のマスキング部分(MM2)に第2の切断可能部分(CM2)を介してカップリングされている。いくつかの態様において、多重特異性活性化可能抗体は3つ以上のAB領域を含み；これらの態様のいくつかにおいて、多重特異性活性化可能抗体における各ABについて、AB1はMM1にCM1を介してカップリングされており、AB2はMM2にCM2を介してカップリングされており、AB3は、AB3のその標的に結合する能力を低下させる第3のマスキング部分(MM3)に第3の切断可能部分(CM3)を介してカップリングされている、などである。好適なAB、MMおよび/またはCMは、本明細書において開示されるAB、MMおよび/またはCMのいずれかを含む。

#### 【0460】

#### 非結合性立体部分または非結合性立体部分の結合パートナーを有する活性化可能抗体

本開示はまた、非結合性立体部分(NB)または非結合性立体部分の結合パートナー(BP)を含む活性化可能抗体を提供し、ここでBPが、活性化可能抗体にNBを動員するか、またはそれ以外の方法で誘引する。本明細書において提供される活性化可能抗体には、例えば、非

結合性立体部分(NB)、切断可能なリンカー(CL)および標的に結合する抗体または抗体断片(AB)を含む活性化可能抗体；非結合性立体部分の結合パートナー(BP)、CLおよびABを含む活性化可能抗体；ならびにNBが動員されたBP、CLおよび標的に結合するABを含む活性化可能抗体が含まれる。NBが活性化可能抗体のCLおよびABに共有結合しているか、または活性化可能抗体のCLおよびABに共有結合しているBPとの相互作用により結び付いている活性化可能抗体は、本明細書において「NBを含有する活性化可能抗体」といわれる。活性化可能または切り替え可能とは、活性化可能抗体が阻害された状態、マスクされた状態、または非切断状態(なわち、第1のコンフォメーション)にある場合、活性化可能抗体が標的に対する結合の第1レベルを示し、活性化可能抗体が阻害されていない状態、マスクされていない状態、および/または切断状態(すなわち、第2のコンフォメーション、すなわち、活性化抗体)にある場合は、標的に対する結合の第2レベルを示し、ここで標的結合の第2レベルが標的結合の第1レベルよりも大きいことを意味する。活性化可能抗体組成物は、従来の抗体治療法と比べて、増大された生物学的利用能およびさらに好ましい生体内分布を示すことができる。

10

#### 【0461】

いくつかの態様において、活性化可能抗体は、ABが非処置部位および/または非診断部位への結合からマスクされていないかまたはそれ以外の方法で阻害されていない場合に、そのような部位への結合によって活性化可能抗体でない場合に生じうる毒性および/または有害な副作用の低減をもたらす。

20

#### 【0462】

非結合性立体部分(NB)を含む抗CD71活性化可能抗体は、PCT公開番号WO 2013/192546に記載された方法を用いて作製することができ、その内容は参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

#### 【0463】

抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体およびコンジュゲートされた活性化可能抗体の使用

本開示による治療実体の投与は、改善された移入、送達、寛容などを提供するように製剤に組み入れられる、好適な担体、賦形剤および他の作用物質とともに投与されることが理解されよう。全薬剤師に公知の処方集：Remington's Pharmaceutical Sciences (15th ed, Mack Publishing Company, Easton, PA (1975))、特にその中の、Blaug, Seymourによる第87章において多数の適切な製剤を見出すことができる。これらの製剤には、例えば、粉末、ペースト、軟膏、ゼリー、ワックス、油、脂質、脂質(陽イオンまたは陰イオン性)含有小胞(リポフェクチン(商標)のような)、DNAコンジュゲート、無水吸収ペースト、水中油型および油中水型乳剤、乳剤カーボワックス(様々な分子量のポリエチレングリコール)、半固体ゲル、およびカーボワックスを含有する半固体混合物が含まれる。前述の混合物のいずれも、製剤中の活性成分が製剤によって不活性化されず、製剤が投与経路と生理学的に適合性かつ認容性である限り、本開示による処置および治療において適切でありうる。薬剤師には周知の製剤、賦形剤および担体に関するさらなる情報については、Baldrick P. 「Pharmaceutical excipient development: the need for preclinical guidance.」 Regul. Toxicol Pharmacol. 32(2):210-8 (2000), Wang W. 「Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals.」 Int. J. Pharm. 203(1-2): 1-60 (2000), Charman WN 「Lipids, lipophilic drugs, and oral drug delivery-some emerging concepts.」 J Pharm Sci.89(8):967-78 (2000), Powell et al. 「Compendium of excipients for parenteral formulations」 PDA J Pharm Sci Technol. 52:238-311 (1998) およびその中の引用文献も参照されたい。

30

40

#### 【0464】

非限定的な例として、抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体のような、抗CD71抗体および/または活性化可能な抗CD71抗体を含む、本開示の治療用製剤は、異常な標的発現および/または活性に関連する疾患または障害を予防、処置またはそれ以外の方法で改善するために用いられる。例

50

えば、抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体を含む、本開示の治療用製剤は、がんまたは他の新生物状態、炎症、炎症性障害、および/または自己免疫疾患を処置またはそれ以外の方法で改善するために用いられる。いくつかの態様において、がんは、標的が発現される固形腫瘍または血液悪性腫瘍である。いくつかの態様において、がんは、標的が発現される固形腫瘍である。いくつかの態様において、がんは、標的が発現される血液悪性腫瘍である。いくつかの態様において、標的は実質上(例えば、がん、臓器または組織の機能を行うことが多い臓器または組織の部分中)に発現される。いくつかの態様において、標的は細胞、組織または臓器上に発現される。いくつかの態様において、標的は間質(すなわち、細胞、組織または臓器の結合支持骨格)上に発現される。いくつかの態様において、標的は骨芽細胞上に発現される。いくつかの態様において、標的は内皮(血管系)上に発現される。いくつかの態様において、標的はがん幹細胞上に発現される。いくつかの態様において、抗体および/または活性化可能抗体がコンジュゲートされた作用物質は、微小管障害物質である。いくつかの態様において、抗体および/または活性化可能抗体がコンジュゲートされた作用物質は、核酸損傷性作用物質である。

10

#### 【0465】

予防、改善または処置の有効性は、例えば、異常な標的発現および/または活性のような、標的発現および/または活性に関連する疾患または障害を診断または処置するための任意の公知の方法に関連して判定される。対象の生存時間を延長させるか、またはそうでなければ対象における標的発現および/もしくは活性、例えば異常な標的発現および/もしくは活性に関連する疾患または障害の進行を遅らせることにより、抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体が臨床的利益をもたらすことが示唆される。

20

#### 【0466】

抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体は、薬学的組成物の形態で投与することができる。そのような組成物の調製に関する原理および考察、ならびに成分の選択における指針は、例えば、Remington : The Science And Practice Of Pharmacy 19th ed. (Alfonso R. Gennaro, et al., editors) Mack Pub. Co., Easton, Pa. : 1995; Drug Absorption Enhancement: Concepts, Possibilities, Limitations, And Trends, Harwood Academic Publishers, Langhorne, Pa., 1994; およびPeptide And Protein Drug Delivery (Advances In Parenteral Sciences, Vol. 4), 1991, M. Dekker, New Yorkにおいて提供されている。

30

#### 【0467】

抗体断片が用いられるいくつかの態様において、標的タンパク質の結合ドメインに特異的に結合する最小の断片が選択される。例えば、抗体の可変領域配列に基づいて、標的タンパク質配列に結合する能力を保持するペプチド分子をデザインすることができる。そのようなペプチドは、化学的に合成することができ、および/または組み換えDNA技術によって産生することができる。(例えば、Marasco et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7889-7893 (1993)を参照されたい)。製剤は、処置される特定の適応症に対し必要に応じて2つ以上の活性化化合物、例えば、いくつかの態様において、互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を有するものを含有することもできる。いくつかの態様において、またはさらに、組成物は、例えば、細胞傷害剤、サイトカイン、化学療法剤または成長阻害剤のような、その機能を増強する作用物質を含むことができる。そのような分子は、意図された目的に有効な量で組み合わせて適切に存在する。

40

#### 【0468】

活性成分はまた、例えば、コアセルベーション技術によってまたは界面重合化によって調製されたマイクロカプセル、例えば、コロイド薬物送達系(例えば、リボソーム、アルブミンミクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子、およびナノカプセル)において、またはマクロエマルジョンにおいて、それぞれヒドロキシメチルセルロースまたはゼラチンマイクロカプセルおよびポリ(メチルメタクリレート)マイクロカプセルに閉じ込め

50

ることができる。

【0469】

インビボ投与のために用いられる製剤は無菌でなければならない。これは、滅菌ろ過膜によるろ過によって容易に達成される。

【0470】

徐放性調製物を調製することができる。徐放性調製物の好適な例としては、マトリックスが、成型された物品、例えばフィルムまたはマイクロカプセルの形状である、抗体を含有する固体疎水性重合体の半透過性マトリックスが挙げられる。徐放性マトリックスの例としては、ポリエステル、ヒドロゲル(例えば、ポリ(2-ヒドロキシエチル-メタクリレート)、またはポリ(ビニルアルコール))、ポリラクチド(米国特許第3,773,919号)、L-グルタミン酸とエチル-L-グルタメートの共重合体、非分解性エチレン酢酸ビニル、LUPRON DEPOT(商標)のような分解性の乳酸-グリコール酸共重合体(乳酸-グリコール酸共重合体および酢酸ロイプロリドで構成される注射可能なミクロスフェア)、ならびにポリ-D-(-)-3-ヒドロキシ酪酸が挙げられる。エチレン酢酸ビニルおよび乳酸-グリコール酸のような重合体は、100日を超える分子の放出を可能にするが、ある特定のヒドロゲルは、タンパク質をより短い期間放出する。

【0471】

いくつかの態様において、抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体は、検出可能な標識を含む。無傷の抗体またはその断片(例えば、Fab、scFvまたはF(ab)<sub>2</sub>)が用いられる。プローブまたは抗体に関して「標識された」という用語は、検出可能な物質をプローブまたは抗体にカップリングさせる(すなわち、物理的に連結させる)ことによるプローブまたは抗体の直接的標識、および直接的に標識されている別の試薬との反応性によるプローブまたは抗体の間接的標識を包含することが意図される。間接的標識の例としては、蛍光的に標識された二次抗体を用いる一次抗体の検出、および蛍光的に標識されたストレプトアビジンによって検出できるようにビオチンを用いたDNAプローブの末端標識が挙げられる。「生体サンプル」という用語は、対象から単離された組織、細胞および生体液、ならびに対象内に存在する組織、細胞および液体を含むことが意図される。それゆえ、血液、および血清、血漿、またはリンパ液を含む血液の画分または成分は「生体サンプル」という用語の用法内に含まれる。すなわち、本開示の検出法を用いて、インビトロおよびインビボで生体サンプル中の被分析物mRNA、タンパク質またはゲノムDNAを検出することができる。例えば、被分析物mRNAの検出のためのインビトロ技法には、ノザンハイブリダイゼーションおよびインサイチュハイブリダイゼーションが含まれる。被分析物タンパク質の検出のためのインビトロ技法には、酵素免疫測定法(ELISA)、ウエスタンブロット、免疫沈降、免疫化学的染色、および免疫蛍光が含まれる。被分析物ゲノムDNAの検出のためのインビトロ技法には、サザンハイブリダイゼーションが含まれる。免疫アッセイ法を行うための手順は、例えば、「ELISA: Theory and Practice: Methods in Molecular Biology」, Vol. 42, J. R. Crowther (Ed.) Human Press, Totowa, NJ, 1995; 「Immunoassay」, E. Diamandis and T. Christopoulos, Academic Press, Inc., San Diego, CA, 1996; および「Practice and Theory of Enzyme Immunoassays」, P. Tijssen, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1985に記述されている。さらに、被分析物タンパク質の検出のためのインビボ技法は、標識された抗被分析物タンパク質抗体を対象に導入する段階を含む。例えば、標準的な撮像技法によって対象における存在および位置を検出できる放射性マーカーで、抗体を標識することができる。

【0472】

本開示の抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体は、種々の診断および予防製剤においても有用である。1つの態様において、抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体は、上記の障害の1つまたは複数を発症する危険性のある患者に投与される。上記の障害の1つまたは複数に対する患者または臓器の素因は、遺伝

子型マーカー、血清学的マーカーまたは生化学的マーカーを用いて判定することができる。

【0473】

本開示のいくつかの態様において、抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体は、上記の障害の1つまたは複数に関連する臨床的適応症と診断されたヒト個体に投与される。診断時に、抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体は、臨床的適応症の影響を緩和するか、または反転させるために投与される。

【0474】

本開示の抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体はまた、患者サンプル中の標的の検出において有用であり、したがって診断薬として有用である。例えば、本開示の、抗体および/または活性化可能抗体、ならびにそれらのコンジュゲートバージョンは、患者サンプルにおける標的レベルを検出するためにインビトロアッセイ法、例えばELISAにおいて用いられる。

10

【0475】

1つの態様において、本開示の抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体は、固体支持体(例えば、マイクロタイタプレートウェル)上に固定化される。固定化された抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体は、試験サンプル中に存在しうる任意の標的の捕捉抗体として働く。固定化された抗体および/もしくは活性化可能抗体、ならびに/またはそれらのコンジュゲートバージョンを患者サンプルと接触させる前に、固体支持体をすすぎ、乳タンパク質またはアルブミンのようなブロッキング剤で処理して被分析物の非特異的吸着を防ぐ。

20

【0476】

引き続き、抗原を含有するのではないかと疑われる試験サンプルを用いて、または標準の抗原量を含有する溶液を用いてウェルを処理する。そのようなサンプルは、例えば、病態の診断になると考えられる循環血中抗原レベルを有するのではないかと疑われる対象由来の血清サンプルである。試験サンプルまたは標準物質をすすいだ後、固体支持体を、検出可能に標識されている二次抗体で処理する。標識された二次抗体は、検出用抗体として働く。検出可能な標識のレベルを測定し、標準サンプルから作成した標準曲線との比較によって試験サンプル中の標的抗原の濃度を判定する。

30

【0477】

インビトロ診断アッセイ法において、本開示の抗体および活性化可能抗体、ならびにそれらのコンジュゲートバージョンを用いて得られた結果に基づき、標的抗原の発現レベルに基づいて対象において疾患を病期分類することが可能であるものと理解されよう。所与の疾患について、血液のサンプルは、疾患進行の様々な段階にあると診断された対象から、および/または疾患の治療的処置における様々な時点で採取される。進行または治療の各段階について統計的に有意な結果を提供するサンプルの集団を用いて、各段階に特徴的であるとみなされうる抗原の濃度の範囲が指定される。

40

【0478】

抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体はまた、診断方法および/または撮像方法において用いることもできる。いくつかの態様において、そのような方法はインビトロの方法である。いくつかの態様において、そのような方法はインビボの方法である。いくつかの態様において、そのような方法はインサイチューの方法である。いくつかの態様において、そのような方法はエクスピボの方法である。例えば、酵素的に切断可能なCMを有する活性化可能抗体を用いて、CMを切断することができる酵素の有無を検出することができる。そのような活性化可能抗体は、診断法において用いることができ、これには、所与の宿主生物の所与の細胞または組織において活性化された抗体(すなわち、活性化可能抗体の切断から生じる抗体)の、測定された蓄積による酵素活性(または、いくつかの態様において、ジスルフィド結合の還

50

元をもたらすことができるものなどの増大した還元電位の環境)のインビボでの検出(例えば、定性的または定量的)が含まれる。活性化された抗体のそのような蓄積からは、組織が酵素活性(またはCMの性質に依って増大した還元電位)を発現することだけでなく、活性化された抗体が結合する標的を組織が発現することも示唆される。

#### 【0479】

例えば、CMは、腫瘍の部位、生物学的に限定された部位(例えば、膿瘍中、臓器中などのような)におけるウイルス感染または細菌感染の部位などで見出される少なくとも1つのプロテアーゼの基質であるように選択することができる。ABは、標的抗原に結合することができる。本明細書において開示される方法、または適切な場合には、当業者によく知られている方法を用いて、検出可能な標識(例えば、蛍光標識または放射性標識または放射性追跡子)をABまたは抗体および/もしくは活性化可能抗体の他の領域にコンジュゲートさせることができる。好適な検出可能な標識は、上記のスクリーニング方法の文脈において論じられており、さらなる具体的な例が以下に提供されている。関心対象の疾患組織において活性が上昇する少なくとも1つのプロテアーゼとともに、疾患状態のタンパク質またはペプチドに特異的なABを用いることにより、活性化可能抗体は、CM特異的な酵素が検出可能なレベルで存在しない、もしくは疾患組織におけるよりも低いレベルで存在するか、または不活性である(例えば、酵素前駆体の形態にあるもしくは阻害物質との複合体の状態にある)組織と比べて、疾患組織への結合速度の増大を示すであろう。小さなタンパク質およびペプチドが腎臓ろ過システムによって血液から迅速に除去されるため、およびCMに特異的な酵素が検出可能なレベルで存在しない(または、非疾患組織ではより低いレベルで存在するか、もしくは不活性なコンフォメーションで存在する)ため、疾患組織における活性化された抗体の蓄積は、非疾患組織と比べて増大する。

#### 【0480】

別の例では、活性化可能抗体を用いて、サンプル中の切断作用物質の有無を検出することができる。例えば、活性化可能抗体が酵素による切断を受けやすいCMを含む場合、活性化可能抗体を用いて、サンプル中の酵素の存在を(定性的または定量的に)検出することができる。別の例では、活性化可能抗体が還元剤による切断を受けやすいCMを含む場合、活性化可能抗体を用いて、サンプルにおける還元条件の存在を(定性的または定量的に)検出することができる。これらの方法における分析を容易にするために、活性化可能抗体を検出可能に標識することができ、支持体(例えば、スライドまたはビーズのような固体支持体)に結合させることができる。検出可能な標識は、活性化可能抗体の、切断後に放出されない部分に配置することができ、例えば、検出可能な標識は、切断が行われるまで検出できない消光された蛍光標識または他の標識であることができる。アッセイ法は、例えば、固定化された検出可能に標識された活性化可能抗体を、切断が行われるのに十分な時間、酵素および/または還元剤を含有するのではないかと疑われるサンプルと接触させ、次に洗浄して過剰なサンプルおよび夾雑物を除去することによって行うことができる。次に、サンプル中の切断作用物質(例えば、酵素または還元剤)の有無を、サンプルと接触させる前の活性化可能抗体の検出可能なシグナルの変化、例えば、サンプル中の切断作用物質による活性化可能抗体の切断に起因する検出可能なシグナルの存在および/または増加によって評価する。

#### 【0481】

そのような検出方法は、切断時に活性化可能抗体のABに結合できる標的の有無の検出を同様に提供するように適合させることができる。したがって、アッセイ法は、切断作用物質の有無および関心対象の標的の有無を評価するように適合させることができる。切断作用物質の有無は、上記のように活性化可能抗体の、検出可能な標識の存在および/または増加によって検出することができ、標的の有無は、例えば検出可能に標識された抗標的抗体の使用による、標的-AB複合体の検出によって検出することができる。

#### 【0482】

活性化可能抗体はまた、例えばプロテアーゼ切断、および特定の標的への結合による、活性化可能抗体活性化の検証のためのインサイチュー撮像において有用である。インサイ

10

20

30

40

50

チュー撮像は、細胞培養または組織切片のような生体サンプルにおけるタンパク質分解活性および標的の局在確認を可能にする技法である。この技法を用いて、検出可能な標識(例えば、蛍光標識)の存在に基づき、所与の標的への結合およびタンパク質分解活性の両方を確認することが可能である。

#### 【0483】

これらの技法は、疾患部位(例えば腫瘍組織)または健常組織に由来するどんな凍結細胞または組織でも有用である。これらの技法はまた、新鮮な細胞または組織サンプルでも有用である。

#### 【0484】

これらの技法においては、活性化可能抗体は検出可能な標識で標識される。検出可能な標識は、蛍光色素(例えばフルオロフォア、フルオレセインイソチオシアネート(FITC)、ローダミンイソチオシアネート(TRITC)、Alexa Fluor (登録商標)標識)、近赤外(NIR)色素(例えば、Qdot(登録商標)ナノクリスタル)、コロイド金属、ハプテン、放射性マーカー、ピオチンおよびストレプトアビジンのような増幅試薬、または酵素(例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼ)であることができる。

#### 【0485】

標識された活性化可能抗体とともにインキュベートされたサンプル中の標識の検出は、サンプルが標的を含み、活性化可能抗体のCMに特異的なプロテアーゼを含有することを示す。いくつかの態様において、本明細書において記述されるものなどの広域プロテアーゼ阻害剤を用いることにより、および/またはプロテアーゼに特異的な作用物質、例えば、プロテアーゼのマトリプターゼに特異的であり、マトリプターゼのタンパク質分解活性を阻害する、A11のような抗体を用いることにより、プロテアーゼの存在を確認することができる；例えば、2010年11月11日付で刊行された国際公開番号WO 2010/129609を参照されたい。活性化可能抗体のCMに特異的なプロテアーゼを同定するために、本明細書において記述されるものなどの広域プロテアーゼ阻害剤を用いる、および/またはより選択的な阻害剤を用いることによる同じ手法を用いることができる。いくつかの態様において、標的の存在は標的に特異的な作用物質、例えば、別の抗体を用いて確認することができ、または検出可能な標識は非標識の標的と競合させることができる。いくつかの態様において、標識された二次抗体またはより複雑な検出系による検出とともに、標識されていない活性化可能抗体を用いることができる。

#### 【0486】

同様の技法はまた、対象、例えば、ヒトを含む哺乳動物における蛍光シグナルの検出から、疾患部位が標的を含み、かつ活性化可能抗体のCMに特異的なプロテアーゼを含むことが示唆される、インビボ撮像にも有用である。

#### 【0487】

これらの技法はまた、活性化可能抗体におけるプロテアーゼ特異的CMに基づく、種々の細胞、組織および生物におけるプロテアーゼ活性を検出、同定、または特性を明らかにするためのキットにおいておよび/または試薬として有用である。

#### 【0488】

本開示は、種々の診断上および/または予防上の適用において抗体および/または活性化可能抗体を用いる方法を提供する。例えば、本開示は、以下によって対象またはサンプルにおける切断作用物質および関心対象の標的の有無を検出する方法を提供する：(i) 活性化可能抗体と対象またはサンプルを接触させる段階であって、活性化可能抗体が、マスキング部分(MM)と、切断作用物質、例えばプロテアーゼにより切断される切断可能部分(CM)と、関心対象の標的に特異的に結合する抗原結合ドメインまたはその断片(AB)とを含み、ここで、切断されていない非活性化状態にある活性化可能抗体が、N末端からC末端に向かって、MM-CM-ABまたはAB-CM-MMのような構造的配置を含み；(a) MMは、標的に対するABの結合を阻害するペプチドであり、かつMMは、天然に存在するABの結合パートナーのアミノ酸配列を持たずかつ天然のABの結合パートナーの修飾型ではなく；および(b) 切断されていない非活性化状態において、MMは、標的に対するABの特異的結合に干渉し、かつ、切断

された活性化状態では、MMは、標的に対するABの特異的結合に干渉も競合もしない、前記段階；ならびに(ii) 対象またはサンプルにおける活性化された活性化可能抗体のレベルを測定する段階であって、対象またはサンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出可能なレベルから、切断作用物質および標的が対象またはサンプル中に存在することが示唆され、かつ、対象またはサンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出不能なレベルから、切断作用物質、標的、もしくは切断作用物質と標的の両方が対象もしくはサンプル中に存在しないおよび/または十分に存在しないことが示唆される、前記段階。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、治療作用物質がコンジュゲートされている活性化可能抗体である。いくつかの態様において、活性化可能抗体は作用物質にコンジュゲートされていない。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、検出可能な標識を含む。いくつかの態様において、検出可能な標識はABに配置される。いくつかの態様において、対象またはサンプルにおける活性化可能抗体のレベルを測定する段階は、活性化された抗体に特異的に結合する二次試薬であって、検出可能な標識を含む該試薬を用いて達成される。いくつかの態様において、二次試薬は、検出可能な標識を含む抗体である。

10

20

30

40

50

#### 【0489】

本開示はまた、以下によって対象またはサンプルにおける切断作用物質の有無を検出する方法を提供する：(i) 関心対象の標的、例えば、標的の存在下において活性化可能抗体と対象またはサンプルを接触させる段階であって、活性化可能抗体が、マスキング部分(MM)と、切断作用物質、例えばプロテアーゼにより切断される切断可能部分(CM)と、関心対象の標的に特異的に結合する抗原結合ドメインまたはその断片(AB)とを含み、ここで、切断されていない非活性化状態にある活性化可能抗体が、N末端からC末端に向かって、MM-CM-ABまたはAB-CM-MMのような構造的配置を含み；(a) MMは、標的に対するABの結合を阻害するペプチドであり、かつMMは、天然に存在するAB結合パートナーのアミノ酸配列を持たずかつ天然のAB結合パートナーの修飾型ではなく；および(b) 切断されていない非活性化状態において、MMは、標的に対するABの特異的結合に干渉し、かつ、切断された活性化状態では、MMは、標的に対するABの特異的結合に干渉も競合もしない、前記段階；ならびに(ii) 対象またはサンプルにおける活性化された活性化可能抗体のレベルを測定する段階であって、対象またはサンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出可能なレベルから、切断作用物質が対象またはサンプル中に存在することが示唆され、かつ、対象またはサンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出不能なレベルから、切断作用物質が対象もしくはサンプル中に存在しないおよび/または十分に存在しないことが示唆される、前記段階。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、治療作用物質がコンジュゲートされている活性化可能抗体である。いくつかの態様において、活性化可能抗体は作用物質にコンジュゲートされていない。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、検出可能な標識を含む。いくつかの態様において、検出可能な標識はABに配置される。いくつかの態様において、対象またはサンプルにおける活性化可能抗体のレベルを測定する段階は、活性化された抗体に特異的に結合する二次試薬であって、検出可能な標識を含む該試薬を用いて達成される。いくつかの態様において、二次試薬は、検出可能な標識を含む抗体である。

#### 【0490】

本開示はまた、対象またはサンプルにおける切断作用物質および標的の有無を検出する方法で用いるためのキットであって、少なくとも、マスキング部分(MM)と、切断作用物質、例えばプロテアーゼにより切断される切断可能部分(CM)と、関心対象の標的に特異的に結合する抗原結合ドメインまたはその断片(AB)とを含む活性化可能抗体を含むキットを提供し、ここで、切断されていない非活性化状態にある活性化可能抗体は、N末端からC末端に向かって、MM-CM-ABまたはAB-CM-MMのような構造的配置を含み；(a) MMは、標的に対するABの結合を阻害するペプチドであり、かつ、MMは、天然に存在するAB結合パートナーのアミノ酸配列を持たずかつ天然のAB結合パートナーの修飾型ではなく；および(b) 切断されていない非活性化状態において、MMは、標的に対するABの特異的結合に干渉し、かつ、切断された活性化状態では、MMは、標的に対するABの特異的結合に干渉も競合もしない；

ならびに(ii) 対象またはサンプルにおける活性化された活性化可能抗体のレベルを測定する段階であって、対象またはサンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出可能なレベルから、切断作用物質が対象またはサンプル中に存在することが示唆され、かつ、対象またはサンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出不能なレベルから、切断作用物質が対象もしくはサンプル中に存在しないおよび/または十分に存在しないことが示唆される、前記段階。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、治療用作用物質がコンジュゲートされている活性化可能抗体である。いくつかの態様において、活性化可能抗体は作用物質にコンジュゲートされていない。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、検出可能な標識を含む。いくつかの態様において、検出可能な標識はABに配置される。いくつかの態様において、対象またはサンプルにおける活性化可能抗体のレベルを測定する段階は、活性化された抗体に特異的に結合する二次試薬であって、検出可能な標識を含む該試薬を用いて達成される。いくつかの態様において、二次試薬は、検出可能な標識を含む抗体である。

10

20

30

40

50

#### 【0491】

本開示はまた、以下によって対象またはサンプルにおける切断作用物質の有無を検出する方法を提供する：(i) 活性化可能抗体と対象またはサンプルを接触させる段階であって、活性化可能抗体が、マスキング部分(MM)と、切断作用物質、例えばプロテアーゼにより切断される切断可能部分(CM)と、標的に特異的に結合する抗原結合ドメイン(AB)と、検出可能な標識とを含み、ここで、切断されていない非活性化状態にある活性化可能抗体が、N末端からC末端に向かって、MM-CM-ABまたはAB-CM-MMのような構造的配置を含み；MMが、標的に対するABの結合を阻害するペプチドであり、かつMMが、天然に存在するAB結合パートナーのアミノ酸配列を持たずかつ天然のAB結合パートナーの修飾型ではなく；切断されていない非活性化状態において、MMが、標的に対するABの特異的結合に干渉し、かつ、切断された活性化状態では、MMが、標的に対するABの特異的結合に干渉も競合もしない；かつ、検出可能な標識が、活性化可能抗体の、CMの切断後に放出される部分に配置される、前記段階；ならびに(ii) 対象またはサンプルにおける検出可能な標識のレベルを測定する段階であって、対象またはサンプルにおける検出可能な標識の検出可能なレベルから、切断作用物質が対象もしくはサンプル中に存在しないおよび/または十分に存在しないことが示唆され、かつ、対象またはサンプルにおける検出可能な標識の検出不能なレベルから、切断作用物質が対象またはサンプル中に存在することが示唆される、前記段階。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、治療用作用物質がコンジュゲートされている活性化可能抗体である。いくつかの態様において、活性化可能抗体は作用物質にコンジュゲートされていない。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、検出可能な標識を含む。いくつかの態様において、検出可能な標識はABに配置される。いくつかの態様において、対象またはサンプルにおける活性化可能抗体のレベルを測定する段階は、活性化された抗体に特異的に結合する二次試薬であって、検出可能な標識を含む該試薬を用いて達成される。いくつかの態様において、二次試薬は、検出可能な標識を含む抗体である。

#### 【0492】

本開示はまた、対象またはサンプルにおける切断作用物質および標的の有無を検出する方法で用いるためのキットであって、少なくとも、対象または生体サンプルと接触させるのに用いるための本明細書において記述される活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体(例えば、治療用作用物質がコンジュゲートされている活性化可能抗体)ならびに対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体のレベルを検出するための手段を含む該キットを提供し、ここで、対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出可能なレベルから、切断作用物質および標的が対象または生体サンプル中に存在することが示唆され、かつ、対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出不能なレベルから、切断作用物質、標的、もしくは切断作用物質と標的の両方が対象もしくは生体サンプル中に存在しないおよび/または十分に存在せず、したがって活性化可能抗体の標的結合および/またはプロテアーゼ切断を、対象または生体サンプルにおいて

検出することができないことが示唆される。

【0493】

本開示はまた、(i) 標的の存在下において活性化可能抗体と対象または生体サンプルを接触させること、および(ii) 対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体のレベルを測定することによって、対象またはサンプルにおける切断作用物質の有無を検出する方法を提供し、ここで、対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出可能なレベルから、切断作用物質が対象または生体サンプル中に存在することが示唆され、かつ、対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出不能なレベルから、切断作用物質が対象もしくは生体サンプル中に検出可能なレベルで存在しないおよび/または十分に存在せず、したがって活性化可能抗体のプロテアーゼ切断を、対象または生体サンプルにおいて検出することができないことが示唆される。そのような活性化可能抗体は、マスキング部分(MM)と、切断作用物質、例えばプロテアーゼにより切断される切断可能部分(CM)と、標的に特異的に結合する抗原結合ドメインまたはその断片(AB)とを含み、ここで、切断されていない(すなわち非活性化)状態にある活性化可能抗体は、N末端からC末端に向かって、MM-CM-ABまたはAB-CM-MMのような構造的配置を含み；(a) MMは、標的に対するABの結合を阻害するペプチドであり、かつMMは、天然に存在するAB結合パートナーのアミノ酸配列を持たず；および(b) 非切断状態において、活性化可能抗体のMMは、標的に対するABの特異的結合に干渉し、かつ、切断された(すなわち、活性化)状態では、活性化可能抗体のMMは、標的に対するABの特異的結合に干渉も競合もしない。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、治療用作用物質がコンジュゲートされている活性化可能抗体である。いくつかの態様において、活性化可能抗体は作用物質にコンジュゲートされていない。いくつかの態様において、検出可能な標識は、マスキング部分に結合される。いくつかの態様において、検出可能な標識は、プロテアーゼ切断部位に対してN末端側の切断可能部分に結合される。いくつかの態様において、ABの単一の抗原結合部位がマスクされる。本開示の抗体が少なくとも2つの抗原結合部位を有するいくつかの態様において、少なくとも1つの抗原結合部位がマスクされ、かつ少なくとも1つの抗原結合部位がマスクされない。いくつかの態様において、全ての抗原結合部位がマスクされる。いくつかの態様において、測定する段階は、検出可能な標識を含む二次試薬の使用を含む。

【0494】

本開示はまた、対象またはサンプルにおける切断作用物質および標的の有無を検出する方法で用いるためのキットであって、少なくとも、標的の存在下において活性化可能抗体と対象または生体サンプルを接触させかつ対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体のレベルを測定するのに用いるための、本明細書において記述される活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体を含む該キットを提供し、ここで、対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出可能なレベルから、切断作用物質が対象または生体サンプル中に存在することが示唆され、かつ、対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出不能なレベルから、切断作用物質が対象もしくは生体サンプル中に検出可能なレベルで存在しないおよび/または十分に存在せず、したがって活性化可能抗体のプロテアーゼ切断を、対象または生体サンプルにおいて検出することができないことが示唆される。そのような活性化可能抗体は、マスキング部分(MM)と、切断作用物質、例えばプロテアーゼにより切断される切断可能部分(CM)と、標的に特異的に結合する抗原結合ドメインまたはその断片(AB)とを含み、ここで、切断されていない(すなわち非活性化)状態にある活性化可能抗体は、N末端からC末端に向かって、MM-CM-ABまたはAB-CM-MMのような構造的配置を含み；(a) MMは、標的に対するABの結合を阻害するペプチドであり、かつMMは、天然に存在するAB結合パートナーのアミノ酸配列を持たず；および(b) 非切断状態において、活性化可能抗体のMMは、標的に対するABの特異的結合に干渉し、かつ、切断された(すなわち、活性化)状態では、活性化可能抗体のMMは、標的に対するABの特異的結合に干渉も競合もしない。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、治療用作用物質がコンジュゲートされている活性化可能抗

体である。いくつかの態様において、活性化可能抗体は作用物質にコンジュゲートされていない。いくつかの態様において、検出可能な標識は、マスキング部分に結合される。いくつかの態様において、検出可能な標識は、プロテアーゼ切断部位に対してN末端側の切断可能部分に結合される。いくつかの態様において、ABの単一の抗原結合部位がマスクされる。本開示の抗体が少なくとも2つの抗原結合部位を有するいくつかの態様において、少なくとも1つの抗原結合部位がマスクされ、かつ少なくとも1つの抗原結合部位がマスクされない。いくつかの態様において、全ての抗原結合部位がマスクされる。いくつかの態様において、測定する段階は、検出可能な標識を含む二次試薬の使用を含む。

#### 【0495】

本開示はまた、対象またはサンプルにおける切断作用物質の有無を検出する方法で用いるためのキットであって、少なくとも、対象または生体サンプルと接触させるのに用いるための本明細書において記述される活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体ならびに対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体のレベルを検出するための手段を含む該キットを提供し、ここで、活性化可能抗体は、活性化可能抗体の、CMの切断後に放出される部分に配置される検出可能な標識を含み、ここで、対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出可能なレベルから、切断作用物質が対象もしくは生体サンプル中に存在せずおよび/または十分に存在せず、したがって活性化可能抗体の標的結合および/またはプロテアーゼ切断を、対象または生体サンプルにおいて検出できないことが示唆され、かつ、対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出不能なレベルから、切断作用物質が対象または生体サンプル中に検出可能なレベルで存在することが示唆される。

#### 【0496】

本開示は、(i) 活性化可能抗体と対象または生体サンプルを接触させることであって、活性化可能抗体が、活性化可能抗体の、CMの切断後に放出される部分に配置される検出可能な標識を含む、前記接触、および(ii) 対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体のレベルを測定することによって、対象またはサンプルにおける切断作用物質および標的の有無を検出する方法を提供し、ここで、対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出可能なレベルから、切断作用物質、標的、もしくは切断作用物質と標的の両方が対象または生体サンプル中に存在せずおよび/または十分に存在せず、したがって活性化可能抗体の標的結合および/またはプロテアーゼ切断を、対象または生体サンプルにおいて検出できないことが示唆され、かつ、対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出可能なレベルの低減から、切断作用物質および標的が対象または生体サンプル中に存在することが示唆される。検出可能な標識のレベルの低減は、例えば、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%および/または約100%の低減である。そのような活性化可能抗体は、マスキング部分(MM)と、切断作用物質により切断される切断可能部分(CM)と、標的に特異的に結合する抗原結合ドメインまたはその断片(AB)とを含み、ここで、切断されていない(すなわち非活性化)状態にある活性化可能抗体は、N末端からC末端に向かって、MM-CM-ABまたはAB-CM-MMのような構造的配置を含み；(a) MMは、標的に対するABの結合を阻害するペプチドであり、かつMMは、天然に存在するAB結合パートナーのアミノ酸配列を持たず；および(b) 非切断状態において、活性化可能抗体のMMは、標的に対するABの特異的結合に干渉し、かつ切断された(すなわち、活性化)状態では、活性化可能抗体のMMは、標的に対するABの特異的結合に干渉も競合もしない。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、治療作用物質がコンジュゲートされている活性化可能抗体である。いくつかの態様において、活性化可能抗体は作用物質にコンジュゲートされていない。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、検出可能な標識を含む。いくつかの態様において、検出可能な標識はABに配置される。いくつかの態様において、対象またはサンプルにおける活性化可能抗体のレベルを測定する段階は、活性化された抗体に特異的に結合する二次試薬であって、検出可能な標識を含

10

20

30

40

50

む該試薬を用いて達成される。いくつかの態様において、二次試薬は、検出可能な標識を含む抗体である。

【0497】

本開示はまた、対象またはサンプルにおける切断作用物質および標的の有無を検出する方法で用いるためのキットであって、少なくとも、対象または生体サンプルと接触させるのに用いるための本明細書において記述される活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体ならびに対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体のレベルを検出するための手段を含む該キットを提供し、ここで、対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出可能なレベルから、切断作用物質、標的、もしくは切断作用物質と標的の両方が対象もしくは生体サンプル中に存在せずおよび/または十分に存在せず、したがって活性化可能抗体の標的結合および/またはプロテアーゼ切断を、対象または生体サンプルにおいて検出できないことが示唆され、かつ、対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出可能なレベルの低減から、切断作用物質および標的が対象または生体サンプル中に存在することが示唆される。検出可能な標識のレベルの低減は、例えば、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%および/または約100%の低減である。

10

【0498】

本開示はまた、(i) 活性化可能抗体と対象または生体サンプルを接触させることであって、活性化可能抗体が、活性化可能抗体の、CMの切断後に放出される部分に配置される検出可能な標識を含む、前記接触；および(ii) 対象または生体サンプルにおける検出可能な標識のレベルを測定することによって、対象またはサンプルにおける切断作用物質の有無を検出する方法を提供し、ここで、対象または生体サンプルにおける検出可能な標識の検出可能なレベルから、切断作用物質が対象または生体サンプル中に検出可能なレベルで存在せずおよび/または十分に存在せず、したがって活性化可能抗体のプロテアーゼ切断を、対象または生体サンプルにおいて検出できないことが示唆され、かつ、対象または生体サンプルにおける検出可能な標識の検出可能なレベルの低減から、切断作用物質が対象または生体サンプル中に存在することが示唆される。検出可能な標識のレベルの低減は、例えば、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%および/または約100%の低減である。そのような活性化可能抗体は、マスキング部分(MM)と、切断作用物質により切断される切断可能部分(CM)と、標的に特異的に結合する抗原結合ドメインまたはその断片(AB)とを含み、ここで、切断されていない(すなわち非活性化)状態にある活性化可能抗体は、N末端からC末端に向かって、MM-CM-ABまたはAB-CM-MMのような構造的配置を含み；(a) MMは、標的に対するABの結合を阻害するペプチドであり、かつMMは、天然に存在するAB結合パートナーのアミノ酸配列を持たず；および(b) 非切断状態において、活性化可能抗体のMMは、標的に対するABの特異的結合に干渉し、かつ切断された(すなわち、活性化)状態では、活性化可能抗体のMMは、標的へのABの特異的結合に干渉も競合もしない。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、治療作用物質がコンジュゲートされている活性化可能抗体である。いくつかの態様において、活性化可能抗体は作用物質にコンジュゲートされていない。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、検出可能な標識を含む。いくつかの態様において、検出可能な標識はABに配置される。いくつかの態様において、対象またはサンプルにおける活性化可能抗体のレベルを測定する段階は、活性化された抗体に特異的に結合する二次試薬であって、検出可能な標識を含む該試薬を用いて達成される。いくつかの態様において、二次試薬は、検出可能な標識を含む抗体である。

20

30

40

【0499】

本開示はまた、対象またはサンプルにおける関心対象の切断作用物質の有無を検出する方法で用いるためのキットであって、少なくとも、対象または生体サンプルと接触させるのに用いるための本明細書において記述される活性化可能抗体および/またはコンジュゲ

50

ートされた活性化可能抗体ならびに対象または生体サンプルにおける活性化された活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体のレベルを検出するための手段を含む該キットを提供し、ここで、活性化可能抗体が、活性化可能抗体の、CMの切断後に放出される部分に配置される検出可能な標識を含み、ここで対象または生体サンプルにおける検出可能な標識の検出可能なレベルから、切断作用物質、標的、もしくは切断作用物質と標的の両方が対象もしくは生体サンプル中に存在せずおよび/または十分に存在せず、したがって活性化可能抗体の標的結合および/またはプロテアーゼ切断を、対象または生体サンプルにおいて検出できないことが示唆され、かつ、対象または生体サンプルにおける検出可能な標識の検出可能なレベルの低減から、切断作用物質および標的が対象または生体サンプル中に存在することが示唆される。検出可能な標識のレベルの低減は、例えば、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%および/または約100%の低減である。

10

#### 【0500】

これらの方法およびキットのいくつかの態様において、活性化可能抗体は検出可能な標識を含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、検出可能な標識は、造影剤、コントラスト剤、酵素、蛍光標識、発色団、色素、1つもしくは複数の金属イオン、またはリガンドに基づく標識を含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、造影剤は放射性同位体を含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、放射性同位体はインジウムまたはテクネチウムである。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、コントラスト剤は、ヨウ素、ガドリニウムまたは酸化鉄を含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、酵素は、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、または -ガラクトシダーゼを含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、蛍光標識は黄色蛍光タンパク質(YFP)、シアン蛍光タンパク質(CFP)、緑色蛍光タンパク質(GFP)、修飾赤色蛍光タンパク質(mRFP)、赤色蛍光タンパク質tdimer2 (RFP tdimer2)、HCREDまたはユーロピウム誘導体を含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、発光標識はN-メチルアクリジウム誘導体を含む。これらの方法のいくつかの態様において、標識は、Alex Fluor(登録商標)680またはAlexa Fluor(登録商標)750のような、Alexa Fluor(登録商標)標識を含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、リガンドに基づく標識は、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジンまたは1つもしくは複数のハプテンを含む。

20

30

#### 【0501】

これらの方法およびキットのいくつかの態様において、対象は哺乳動物である。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、対象はヒトである。いくつかの態様において、対象は、非ヒト霊長類、伴侶動物(例えば、ネコ、イヌ、ウマ)、家畜、作業動物、または動物園の動物のような、非ヒト哺乳動物である。いくつかの態様において、対象はげっ歯類である。

#### 【0502】

これらの方法のいくつかの態様において、本方法はインビボの方法である。これらの方法のいくつかの態様において、本方法はインサイチューの方法である。これらの方法のいくつかの態様において、本方法はエクスピボの方法である。これらの方法のいくつかの態様において、本方法はインピトロの方法である。

40

#### 【0503】

いくつかの態様において、インサイチュー撮像および/またはインビボ撮像は、どの患者を処置するかを同定する方法において有用である。例えば、インサイチュー撮像では、活性化可能抗体を用いて患者サンプルをスクリーニングし、適切なプロテアーゼおよび標的を適切な位置、例えば腫瘍部位に有する患者を同定する。

#### 【0504】

いくつかの態様において、本開示の活性化可能抗体での処置に適した患者集団を同定するかまたはそうでなければ精緻化するためにインサイチュー撮像が用いられる。例えば、

50

試験されている活性化可能抗体の切断可能部分(CM)における基質を切断するプロテアーゼおよび標的(例えば、標的)の両方の検査で陽性となる(例えば、疾患部位に活性化された抗体を蓄積させる)患者は、そのようなCMを含むそのような活性化可能抗体による処置に適した候補として同定される。同様に、これらの方法を用いて試験されている活性化可能抗体中のCMにおける基質を切断するプロテアーゼおよび標的(例えば、標的)の一方または両方の検査で陰性となる患者は、別の治療形態に適した候補として同定されうる。いくつかの態様において、第1の活性化可能抗体に関する検査で陰性となるそのような患者は、処置に適した活性化可能抗体(例えば、疾患の部位で患者により切断されるCMを含む活性化可能抗体)が同定されるまで、異なるCMを含む他の活性化可能抗体で試験することができる。いくつかの態様において、患者にその後、患者が試験で陽性となった活性化可能抗体の治療的有効量が投与される。

10

#### 【0505】

いくつかの態様において、本開示の活性化可能抗体での処置に適した患者集団を同定するかまたはそうでなければ精緻化するためにインビボ撮像が用いられる。例えば、試験されている活性化可能抗体の切断可能部分(CM)における基質を切断するプロテアーゼおよび標的(例えば、標的)の両方の検査で陽性となる(例えば、疾患部位に活性化された抗体を蓄積させる)患者は、そのようなCMを含むそのような活性化可能抗体による処置に適した候補として同定される。同様に、検査で陰性となる患者は、別の治療形態に適した候補として同定されうる。いくつかの態様において、第1の活性化可能抗体に関する検査で陰性となるそのような患者は、処置に適した活性化可能抗体(例えば、疾患の部位で患者により切断されるCMを含む活性化可能抗体)が同定されるまで、異なるCMを含む他の活性化可能抗体で試験することができる。いくつかの態様において、患者にその後、患者が試験で陽性となった活性化可能抗体の治療的有効量が投与される。

20

#### 【0506】

本方法およびキットのいくつかの態様において、本開示の活性化可能抗体での処置に適した患者集団を同定するかまたはそうでなければ精緻化するために本方法またはキットが用いられる。例えば、これらの方法において試験されている活性化可能抗体の切断可能部分(CM)における基質を切断するプロテアーゼおよび標的(例えば、標的)の両方の検査で陽性となる患者は、そのようなCMを含むそのような活性化可能抗体による処置に適した候補として同定される。同様に、これらの方法を用いて試験されている活性化可能抗体中のCMにおける基質を切断するプロテアーゼおよび標的(例えば、標的)の両方の検査で陰性となる患者は、別の治療形態に適した候補として同定されうる。いくつかの態様において、そのような患者は、処置に適した活性化可能抗体(例えば、疾患の部位で患者により切断されるCMを含む活性化可能抗体)が同定されるまで他の活性化可能抗体で試験することができる。いくつかの態様において、標的(例えば、標的)の一方の検査で陰性となる患者は、そのようなCMを含むそのような活性化可能抗体による処置に適した候補として同定される。いくつかの態様において、標的(例えば、標的)の一方の検査で陰性となる患者は、そのようなCMを含むそのような活性化可能抗体による処置に適した候補ではないとして同定される。いくつかの態様において、そのような患者は、処置に適した活性化可能抗体(例えば、疾患の部位で患者により切断されるCMを含む活性化可能抗体)が同定されるまで他の活性化可能抗体で試験することができる。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、治療用作用物質がコンジュゲートされている活性化可能抗体である。いくつかの態様において、活性化可能抗体は作用物質にコンジュゲートされていない。いくつかの態様において、活性化可能抗体は、検出可能な標識を含む。いくつかの態様において、検出可能な標識はABに配置される。いくつかの態様において、対象またはサンプルにおける活性化可能抗体のレベルを測定する段階は、活性化された抗体に特異的に結合する二次試薬であって、検出可能な標識を含む該試薬を用いて達成される。いくつかの態様において、二次試薬は、検出可能な標識を含む抗体である。

30

40

#### 【0507】

いくつかの態様において、本開示の抗標的活性化可能抗体および/またはコンジュゲ

50

トされた活性化可能抗体(例えば、治療作用物質がコンジュゲートされている活性化可能抗体)での処置に適した患者集団を同定しまたはそうでなければ精緻化し、引き続いてその活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体を、その必要のある対象に投与することによる処置を行うために方法またはキットが用いられる。例えば、これらの方法において試験されている活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体の切断可能部分(CM)における基質を切断するプロテアーゼおよび標的(例えば、標的)の両方の検査で陽性となる患者は、そのようなCMを含むそのような抗体および/またはそのようなコンジュゲートされた活性化可能抗体による処置に適した候補として同定され、患者にその後、試験された活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体の治療的有効量が投与される。同様に、これらの方法を用いて試験されている活性化可能抗体中のCMにおける基質を切断するプロテアーゼおよび標的(例えば、標的)の一方または両方の検査で陰性となる患者は、別の治療形態に適した候補として同定されうる。いくつかの態様において、そのような患者は、処置に適した抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体(例えば、疾患の部位で患者により切断されるCMを含む活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体)が同定されるまで他の抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体で試験することができる。いくつかの態様において、患者にその後、患者が試験で陽性となった活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体の治療的有効量が投与される。

#### 【0508】

これらの方法およびキットのいくつかの態様において、MMは、約4~40アミノ酸の長さを有するペプチドである。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、活性化可能抗体は、MMとCMとの間に位置しているリンカーペプチドを含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、活性化可能抗体は、ABとCMとの間に位置しているリンカーペプチドを含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、活性化可能抗体は、第1のリンカーペプチド(L1)および第2のリンカーペプチド(L2)を含み、第1のリンカーペプチドはMMとCMとの間に位置し、かつ第2のリンカーペプチドはABとCMとの間に位置している。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、L1およびL2の各々は、長さが約1~20アミノ酸のペプチドであり、L1およびL2の各々は同じリンカーである必要はない。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、L1およびL2の一方または両方は、グリシン-セリン重合体を含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、L1およびL2の少なくとも一方は、(GS)<sub>n</sub>、(GSGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO: 339)および(GGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO: 340)からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、ここでnは少なくとも1の整数である。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、L1およびL2の少なくとも一方は、式(GGS)<sub>n</sub>を有するアミノ酸配列を含み、ここでnは少なくとも1の整数である。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、L1およびL2の少なくとも一方は、

Gly-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO: 341, Gly-Gly-Ser-Gly-Gly (SEQ ID

NO: 342), Gly-Ser-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO: 343, Gly-Ser-Gly-Gly-Gly (SEQ ID

NO: 344), Gly-Gly-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO: 345), および Gly-Ser-Ser-Ser-Gly (SEQ ID

NO: 346)

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

#### 【0509】

これらの方法およびキットのいくつかの態様において、ABは、本明細書において提示される交差反応性抗体配列から選択される抗体または抗体断片配列を含む。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、ABはFab断片、scFvまたは単鎖抗体(scAb)を含む。

#### 【0510】

これらの方法およびキットのいくつかの態様において、切断作用物質は、対象またはサンプル中に標的とともに共局在化されるプロテアーゼであり、CMは、プロテアーゼの基質

として機能するポリペプチドであり、ここでプロテアーゼは、活性化可能抗体がプロテアーゼに曝露される場合に活性化可能抗体中のCMを切断する。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、CMは、長さが15アミノ酸までのポリペプチドである。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、CMはABのN末端にカップリングされる。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、CMはABのC末端にカップリングされる。これらの方法およびキットのいくつかの態様において、CMは、ABのVL鎖のN末端にカップリングされる。

【0511】

本開示の抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体は、診断および予防製剤において用いられる。1つの態様において、活性化可能抗体は、前述の炎症、炎症性障害、がんまたは他の障害の1つまたは複数を発症する危険性のある患者に投与される。

10

【0512】

前述の障害の1つまたは複数に対する患者または臓器の素因は、遺伝子型マーカー、血清学的マーカーまたは生化学的マーカーを用いて判定することができる。

【0513】

本開示のいくつかの態様において、抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体は、前述の障害の1つまたは複数に関連する臨床的適応症と診断されたヒト個体に投与される。診断時に、抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体が、臨床的適応症の影響を緩和するか、または反転させるために投与される。

20

【0514】

本開示の抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体はまた、患者サンプル中の標的の検出においても有用であり、したがって診断薬として有用である。例えば、本開示の抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体は、患者サンプルにおける標的レベルを検出するためにインビトロアッセイ法、例えばELISAにおいて用いられる。

【0515】

1つの態様において、本開示の抗体および/または活性化可能抗体は、固体支持体(例えば、マイクロタイタープレートのウェル)上に固定化される。固定化された抗体および/または活性化可能抗体は、試験サンプル中に存在しうる任意の標的の捕捉抗体として働く。固定化された抗体および/または活性化可能抗体を患者サンプルと接触させる前に、固体支持体をすすぎ、乳タンパク質またはアルブミンのようなブロッキング剤で処理して被分析物の非特異的吸着を防ぐ。

30

【0516】

引き続き、抗原を含有するのではないかと疑われる試験サンプルを用いて、または標準の抗原量を含有する溶液を用いてウェルを処理する。そのようなサンプルは、例えば、病態の診断になると考えられる循環血中抗原のレベルを有するのではないかと疑われる対象由来の血清サンプルである。試験サンプルまたは標準物質をすすいだ後、固体支持体を、検出可能に標識されている二次抗体で処理する。標識された二次抗体は、検出用抗体として働く。検出可能な標識のレベルを測定し、標準サンプルから作成した標準曲線との比較によって試験サンプル中の標的抗原の濃度を判定する。

40

【0517】

インビトロ診断アッセイ法において、本開示の抗体および/または活性化可能抗体を用いて得られた結果に基づき、標的抗原の発現レベルに基づいて対象において疾患を病期分類することが可能であるものと理解されよう。所与の疾患について、血液のサンプルは、疾患進行の様々な段階にあると診断された対象から、および/または疾患の治療的処置における様々な時点で採取される。進行または治療の各段階について統計的に有意な結果を提供するサンプルの集団を用いて、各段階に特徴的であるとみなされうる抗原の濃度の範

50

囲が指定される。

【0518】

抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体はまた、診断方法および/または撮像方法において用いることもできる。いくつかの態様において、そのような方法はインビトロの方法である。いくつかの態様において、そのような方法はインビボの方法である。いくつかの態様において、そのような方法はインサイチューの方法である。いくつかの態様において、そのような方法はエクスピボの方法である。例えば、酵素的に切断可能なCMを有する活性化可能抗体を用いて、CMを切断することができる酵素の有無を検出することができる。そのような活性化可能抗体は、診断法において用いることができ、これには、所与の宿主生物の所与の細胞または組織において活性化された抗体(すなわち、活性化可能抗体の切断から生じる抗体)の、測定された蓄積による酵素活性(または、いくつかの態様において、ジスルフィド結合の還元をもたらすことができるものなどの増大した還元電位の環境)のインビボでの検出(例えば、定性的または定量的)が含まれうる。活性化された抗体のそのような蓄積からは、組織が酵素活性(またはCMの性質に依って増大した還元電位)を発現することだけでなく、活性化された抗体が結合する標的を組織が発現することも示唆される。

10

【0519】

例えば、CMは、腫瘍の部位、生物学的に限定された部位(例えば、膿瘍中、臓器中などのような)におけるウイルス感染または細菌感染の部位などで見出されるプロテアーゼのプロテアーゼ基質であるように選択することができる。ABは、標的抗原に結合することができる。当業者によく知られている方法を用いて、検出可能な標識(例えば、蛍光標識または放射性標識または放射性追跡子)をABまたは活性化可能抗体の他の領域にコンジュゲートさせることができる。好適な検出可能な標識は、上記のスクリーニング方法の文脈において論じられており、さらなる具体的な例が以下に提供されている。関心対象の疾患組織において活性が上昇するプロテアーゼとともに、疾患状態のタンパク質またはペプチドに特異的なABを用いることにより、活性化可能抗体は、CM特異的な酵素が検出可能なレベルで存在しない、もしくは疾患組織におけるよりも低いレベルで存在するか、または不活性である(例えば、酵素前駆体の形態にあるもしくは阻害物質との複合体の状態にある)組織と比べて、疾患組織への結合速度の増大を示すであろう。小さなタンパク質およびペプチドが腎臓ろ過システムによって血液から迅速に除去されるため、およびCMに特異的な酵素が検出可能なレベルで存在しない(または非疾患組織ではより低いレベルで存在するか、もしくは不活性なコンフォメーションで存在する)ので、疾患組織における活性化された抗体の蓄積は、非疾患組織と比べて増大する。

20

30

【0520】

別の例では、活性化可能抗体を用いて、サンプル中の切断作用物質の有無を検出することができる。例えば、活性化可能抗体が酵素による切断を受けやすいCMを含む場合、活性化可能抗体を用いて、サンプル中の酵素の存在を(定性的または定量的に)検出することができる。別の例では、活性化可能抗体が還元剤による切断を受けやすいCMを含む場合、活性化可能抗体を用いて、サンプルにおける還元条件の存在を(定性的または定量的に)検出することができる。これらの方法における分析を容易にするために、活性化可能抗体を検出可能に標識することができ、支持体(例えば、スライドまたはビーズのような固体支持体)に結合させることができる。検出可能な標識は、活性化可能抗体の、切断後に放出されない部分に配置することができ、例えば、検出可能な標識は、切断が行われるまで検出できない消光された蛍光標識または他の標識であることができる。アッセイ法は、例えば、固定化された検出可能に標識された活性化可能抗体を、切断が行われるのに十分な時間、酵素および/または還元剤を含有するのではないかと疑われるサンプルと接触させ、次に洗浄して過剰なサンプルおよび夾雑物を除去することによって行うことができる。次に、サンプル中の切断作用物質(例えば、酵素または還元剤)の有無を、サンプルと接触させる前の活性化可能抗体の検出可能なシグナルの変化、例えば、サンプル中の切断作用物質による活性化可能抗体の切断に起因する検出可能なシグナルの存在および/または増加に

40

50

よって評価する。

【0521】

そのような検出方法は、切断時に活性化可能抗体のABに結合できる標的の有無の検出を同様に提供するように適合させることができる。したがって、アッセイ法は、切断作用物質の有無および関心対象の標的の有無を評価するように適合させることができる。切断作用物質の有無は、上記のように活性化可能抗体の、検出可能な標識の存在および/または増加によって検出することができ、標的の有無は、例えば検出可能に標識された抗標的抗体の使用による、標的-AB複合体の検出によって検出することができる。

【0522】

活性化可能抗体はまた、例えばプロテアーゼ切断、および特定の標的への結合による、活性化可能抗体活性化の検証のためのインサイチュー撮像においても有用である。インサイチュー撮像は、細胞培養または組織切片のような生体サンプルにおけるタンパク質分解活性および標的の局在確認を可能にする技法である。この技法を用いて、検出可能な標識(例えば、蛍光標識)の存在に基づき、所与の標的への結合およびタンパク質分解活性の両方を確認することが可能である。

【0523】

これらの技法は、疾患部位(例えば腫瘍組織)または健常組織に由来するどんな凍結細胞または組織でも有用である。これらの技法はまた、新鮮な細胞または組織サンプルでも有用である。

【0524】

これらの技法においては、活性化可能抗体は検出可能な標識で標識される。検出可能な標識は、蛍光色素(例えばフルオレセインイソチオシアネート(FITC)、ローダミンイソチオシアネート(TRITC)、近赤外(NIR)色素(例えば、Qdot(登録商標)ナノクリスタル)、コロイド金属、ハプテン、放射性マーカー、ビオチンおよびストレプトアビジンのような増幅試薬、または酵素(例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼ)であることができる。

【0525】

標識された活性化可能抗体とともにインキュベートされたサンプル中の標識の検出は、サンプルが標的を含み、活性化可能抗体のCMに特異的なプロテアーゼを含有することを示す。いくつかの態様において、本明細書において記述されるものなどの広域プロテアーゼ阻害剤を用いることにより、および/またはプロテアーゼに特異的な作用物質、例えば、プロテアーゼのマトリプターゼに特異的であり、マトリプターゼのタンパク質分解活性を阻害する、A11のような抗体を用いることにより、プロテアーゼの存在を確認することができる; 例えば、2010年11月11日付で刊行された国際公開番号WO 2010/129609を参照されたい。活性化可能抗体のCMに特異的なプロテアーゼまたはプロテアーゼのクラスを同定するために、本明細書において記述されるものなどの広域プロテアーゼ阻害剤を用いる、および/またはより選択的な阻害剤を用いることによる同じ手法を用いることができる。いくつかの態様において、標的の存在は標的に特異的な作用物質、例えば、別の抗体を用いて確認することができ、または検出可能な標識は非標識の標的と競合させることができる。いくつかの態様において、標識された二次抗体またはより複雑な検出系による検出とともに、標識されていない活性化可能抗体を用いることができる。

【0526】

同様の技法はまた、対象、例えば、ヒトを含む哺乳動物における蛍光シグナルの検出から、疾患部位が標的を含み、かつ活性化可能抗体のCMに特異的なプロテアーゼを含むことが示唆される、インビボ撮像にも有用である。

【0527】

これらの技法はまた、活性化可能抗体におけるプロテアーゼ特異的CMに基づく種々の細胞、組織および生物におけるプロテアーゼ活性を検出、同定、または特性を明らかにするためのキットにおいておよび/または試薬として有用である。

【0528】

10

20

30

40

50

いくつかの態様において、インサイチュー撮像および/またはインビボ撮像は、どの患者を処置するかを同定する方法において有用である。例えば、インサイチュー撮像では、活性化可能抗体を用いて患者サンプルをスクリーニングし、適切なプロテアーゼおよび標的を適切な位置、例えば腫瘍部位に有する患者を同定する。

#### 【0529】

いくつかの態様において、本開示の活性化可能抗体での処置に適した患者集団を同定するかまたはそうでなければ精緻化するためにインサイチュー撮像が用いられる。例えば、試験されている活性化可能抗体の切断可能部分(CM)における基質を切断するプロテアーゼおよび標的の両方の検査で陽性となる(例えば、疾患部位に活性化された抗体を蓄積させる)患者は、そのようなCMを含むそのような活性化可能抗体による処置に適した候補として同定される。同様に、これらの方法を用いて試験されている活性化可能抗体中のCMにおける基質を切断するプロテアーゼおよび標的の一方または両方の検査で陰性となる患者は、別の治療形態に適した(すなわち、試験されている活性化可能抗体での処置に適していない)候補として同定される。いくつかの態様において、第1の活性化可能抗体に関する検査で陰性となるそのような患者は、処置に適した活性化可能抗体(例えば、疾患の部位で患者により切断されるCMを含む活性化可能抗体)が同定されるまで、異なるCMを含む他の活性化可能抗体で試験することができる。

10

#### 【0530】

いくつかの態様において、本開示の活性化可能抗体での処置に適した患者集団を同定するかまたはそうでなければ精緻化するためにインビボ撮像が用いられる。例えば、試験されている活性化可能抗体の切断可能部分(CM)における基質を切断するプロテアーゼおよび標的の両方の検査で陽性となる(例えば、疾患部位に活性化された抗体を蓄積させる)患者は、そのようなCMを含むそのような活性化可能抗体による処置に適した候補として同定される。同様に、検査で陰性となる患者は、別の治療形態に適した(すなわち、試験されている活性化可能抗体での処置に適していない)候補として同定される。いくつかの態様において、第1の活性化可能抗体に関する検査で陰性となるそのような患者は、処置に適した活性化可能抗体(例えば、疾患の部位で患者により切断されるCMを含む活性化可能抗体)が同定されるまで、異なるCMを含む他の活性化可能抗体で試験することができる。

20

#### 【0531】

#### 薬学的組成物

本開示の抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体(本明細書において「活性化化合物」ともいわれる)、ならびにその誘導体、断片、類似体および相同体は、投与に適した薬学的組成物に組み入れることができる。そのような組成物は、典型的には、抗体、コンジュゲートされた抗体、活性化可能抗体および/またはコンジュゲートされた活性化可能抗体ならびに薬学的に許容される担体を含む。本明細書において用いられる場合、「薬学的に許容される担体」という用語は、薬学的投与に適合する任意のおよび全ての溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などを含むことが意図される。好適な担体は、参照により本明細書に組み入れられる、この分野における標準的な参考テキストであるRemington's Pharmaceutical Sciencesの最新版に記述されている。そのような担体または希釈剤の好適な例としては、水、生理食塩水、リンゲル溶液、デキストロース溶液、および5%ヒト血清アルブミンが挙げられるが、これらに限定されることはない。リポソームおよび固定油のような非水性媒体が用いられてもよい。薬学的に活性な物質のためのそのような媒質および剤の使用は、当技術分野において周知である。任意の従来の媒質または剤が活性化化合物と不適合である場合を除いて、組成物におけるその使用が企図される。補充性の活性化化合物を組成物に組み入れることもできる。

30

40

#### 【0532】

本開示の薬学的組成物は、その意図される投与経路に適合するように処方される。投与経路の例としては非経口、例えば、静脈内、皮内、皮下、経口(例えば、吸入)、経皮(すなわち、局所)、経粘膜および直腸投与が挙げられる。非経口、皮内、または皮下適用に

50

用いられる溶液または懸濁液は、以下の成分：注射用水、生理食塩水溶液、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒のような滅菌希釈剤；ベンジルアルコールまたはメチルパラベンのような抗菌剤；アスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウムのような抗酸化剤；エチレンジアミン四酢酸(EDTA)のようなキレート剤；酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩のような緩衝液、および塩化ナトリウムまたはデキストロースのような張度調整剤を含むことができる。pHは、塩酸または水酸化ナトリウムのような、酸または塩基で調節することができる。非経口調製物は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または複数回投与バイアルに封入することができる。

#### 【0533】

注射可能な用途に適した薬学的組成物は、滅菌水溶液(水溶性の場合)または滅菌分散液および注射可能な滅菌溶液または滅菌分散液の即時調製用の滅菌粉末を含む。静脈内投与の場合、好適な担体としては、生理食塩水、静菌水、Cremophor EL (商標) (BASF, Parsippany, N.J.)またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)が挙げられる。いかなる場合でも、この組成物は無菌でなければならず、容易に注射できる程度に流動性とするべきである。これは製造および保存の条件下で安定でなければならず、これは細菌および真菌などの微生物の汚染作用に対して保護されなければならない。この担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール(例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど)、およびその好適な混合物を含む溶媒または分散媒とすることができる。その適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングの使用により、分散液の場合には必要とされる粒径の維持によりおよび界面活性剤の使用により維持することができる。微生物の作用からの保護はさまざまな抗菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどにより達成することができる。いくつかの態様において、等張剤、例えば、糖類、マンニトール、ソルビトールなどの多価アルコール、塩化ナトリウムを組成物の中を含めることが望ましいであろう。注射可能な組成物の持続的吸収は、吸収を遅延させる作用物質、例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンを組成物の中を含めることにより実現することができる。

#### 【0534】

注射可能な滅菌溶液は、必要とされる量の活性化化合物を適切な溶媒中に、必要に応じて、上記に列挙した成分の一つまたは組み合わせとともに組み入れ、続けてる過滅菌を行うことによって調製することができる。一般に、分散液は活性化化合物を、基本的な分散媒および上記に列挙したものから必要とされるその他の成分を含む滅菌媒体の中に組み入れることによって調製される。注射可能な滅菌溶液の調製用の滅菌粉末の場合、調製の方法は、活性成分に加えて所望とされる付加的な任意の成分の粉末を予め滅菌ろ過したその溶液からもたらす真空乾燥法および凍結乾燥法である。

#### 【0535】

経口用組成物は一般に、不活性希釈剤または食用担体を含む。それらはゼラチンカプセルの中に封入され、または錠剤に圧縮されることができる。治療的な経口投与を目的に、活性化化合物を賦形剤とともに組み入れて、錠剤、トローチ、またはカプセルの形態で使用する。経口用組成物はうがい薬として用いるために液体担体を使用して調製することもでき、この場合、液体担体中の化合物は経口的に適用され、かつこれで口をすすぎ(swished)、かつ嚥下されまたは嚥下される。薬学的に適合する結合剤および/または補助物質を、組成物の一部として含めることができる。この錠剤、丸剤、カプセル、トローチなどは、以下の成分のいずれかまたは似通った性質の化合物を含むことができる：微結晶性セルロース、トラガカントゴムもしくはゼラチンのような結合剤；でんぶんもしくはラクトースのような賦形剤、アルギン酸、Primogel、もしくはとうもろこしでんぶんの崩壊剤；ステアリン酸マグネシウムもしくはSterotesのような滑沢剤；コロイド状二酸化ケイ素のような流動促進剤；スクロースもしくはサッカリンのような甘味剤；またはペパーミント、サリチル酸メチル、もしくはオレンジ風味のような香料添加剤。

#### 【0536】

吸入による投与の場合、化合物は、適した噴射剤、例えば、二酸化炭素のようなガスを含有する加圧容器もしくは分注機、または噴霧器からエアロゾルスプレイの形態で送達される。

【0537】

全身投与を経粘膜的または経皮的な手段によるものとすることもできる。経粘膜投与または経皮投与の場合、浸透される障壁に適した浸透剤が処方物の中に用いられる。そのような浸透剤は一般に当技術分野において公知であり、例えば、経粘膜投与の場合、界面活性剤、胆汁塩、およびフシジン酸誘導体を含む。経粘膜投与は鼻腔用スプレイまたは坐剤の使用により達成することができる。経皮投与の場合、活性化合物は当技術分野において一般に公知であるように軟膏剤、膏薬、ゲル、またはクリームの中に処方される。

10

【0538】

化合物はまた、直腸送達のために坐剤(例えば、ココアバターおよび他のグリセリドのような従来の坐剤基剤を用いて)または停留浣腸の形態で調製することもできる。

【0539】

1つの態様において、活性化合物はインプラントおよびマイクロカプセル化した送達系を含めて、制御放出処方物のような、体内からの迅速除去から化合物を防御する担体とともに調製される。エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸のような、生体分解・生体適合性高分子を用いることができる。そのような処方物の調製方法は当業者には明らかであろう。その材料はAlza社およびNova Pharmaceuticals社から商業的に入手することもできる。リボソーム懸濁液(ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体によって感染細胞を標的とするリボソームを含めて)を薬学的に許容される担体として用いることもできる。これらは当業者に公知の方法により、例えば、米国特許第4,522,811号に記述されているように、調製することができる。

20

【0540】

投与の容易さおよび投与量の均一性のために、経口用組成物または非経口用組成物を投与量単位形態で処方することが特に有利である。投与量単位形態とは、本明細書において用いられる場合、処置される対象のために単一投与量として適した、物理的に不連続な単位をいい、各単位は、所望の治療効果を生じると計算された所定量の活性化合物を、必要とされる薬学的担体に関連して含有する。本開示の投与量単位形態の仕様は、活性化合物の独特の特徴および達成されたい特定の治療効果、ならびにそのような活性化合物を個体の処置のために配合する技術に固有の制限により決定され、それらに直接依存する。

30

【0541】

薬学的組成物は、投与のための使用説明書とともに容器、バックまたは分注機に含めることができる。

【0542】

本発明は、特許請求の範囲に記述された本発明の範囲を限定するものではない以下の実施例においてさらに記述されよう。

【実施例】

【0543】

実施例1. 抗CD71抗体の特性評価

本明細書において提供される研究は、本開示の抗CD71抗体の結合を評価するためにデザインされた。

【0544】

本開示の抗CD71 M21モノクローナル抗体は、当技術分野において公知の技法にしたがってマウスハイブリドーマ技術を用いて得られた。マウスにヒトCD71細胞外ドメイン(ECD)を免疫し、細胞傷害性ピギーバック(piggyback)アッセイ法を用いて後続のハイブリドーマをスクリーニングし、このアッセイ法からの細胞傷害性陽性クローンを、ELISAによりヒトCD71 ECDポリペプチドに結合することを確認し、FACSにより細胞表面に結合することを確認した。本開示の抗CD71 M21モノクローナル抗体は、SEQ ID NO: 1の重鎖可変領域(V

50

H)、およびSEQ ID NO: 2の軽鎖可変領域(VL)を含み、本明細書において記述される場合には陽性対照として用いられた。

【0545】

抗CD71マウスモノクローナル抗体M21に基づいていた、以下のヒト化抗CD71抗体を試験した: Ab21.10 LcB:HcA (SEQ ID NO: 3のVHおよびSEQ ID NO: 7のVL)、Ab21.11 LcB:HcB (SEQ ID NO: 4のVHおよびSEQ ID NO: 7のVL)、Ab21.12 LcB:HcC (SEQ ID NO: 5のVHおよびSEQ ID NO: 7のVL)、ならびにM21 (SEQ ID NO: 1のVHおよびSEQ ID NO: 2のVL)。本開示のさまざまな抗CD71抗体の結合は、FACSによって確認された(図1)。

【0546】

図1に示されるように、ヒト化抗CD71抗体の全てが、CD71 M21マウス抗体によって実証された結合に匹敵するヒトCD71に対する結合を示した。ヒト化抗CD71抗体の結合は、FACSによりBxPC3細胞株で確認された。簡潔には、BxPC3細胞を表示された濃度のマウスモノクローナルMab21またはhuCD71 (Ab21.10、Ab21.11およびAb21.12)抗体で標識し、引き続きそれぞれ、Alexa Fluor 647標識ヤギ抗マウスまたは抗ヒトIgG Alexa Fluor 647で検出した。

10

【0547】

実施例2. マスクの発見

本明細書において提供される研究は、本開示の活性化可能抗CD71抗体で用いるためのマスキング部分を同定および特性を明らかにするためにデザインされた。

【0548】

2010年7月15日付で公開されたPCT国際公開番号WO 2010/081173に記述されたものと類似の方法を用い、SEQ ID NO: 5のVHおよびSEQ ID NO: 7のVLを含む、抗CD71 21.12抗体を使って、Xが任意のアミノ酸である、 $6 \times 10^{10}$ の総多様性を有するランダム $X_{15}$ ペプチドライブラリをスクリーニングした。スクリーニングは、1ラウンドのMACSおよび5ラウンドのFACS選別からなった。最初のMACS選別は、プロテインA Dynabeads (Invitrogen)および抗CD71 21.12抗体を用いて200 nMの濃度で行った。MACSの場合、細胞およそ $1 \times 10^{12}$ 個を結合についてスクリーニングし、細胞 $1 \times 10^7$ 個を収集した。抗CD71 21.12をDyLight-488 (The rmoFisher)とコンジュゲートし、CD71結合活性を確認し、抗CD71 21.12-488を全てのFACSラウンドの蛍光プローブとして用いた。細菌細胞を染色し、陽性クローンを以下のように収集した: FACSラウンド1において細胞 $1 \times 10^6$ 個を収集した20 nM抗CD71 21.12-488、FACSラウンド2において細胞 $6.2 \times 10^4$ 個を収集した5 nM抗CD71 21.12-488ならびにFACSラウンド3において細胞 $5 \times 10^3$ 個を収集した5 nM抗CD71 21.12-488および細胞 $5 \times 10^2$ 個を収集した1 nM抗CD71 21.12-488、FACSラウンド4および5において細胞 $2 \times 10^2$ 超個を収集した1 nM抗CD71 21.12-488。第2のFACSラウンドからの陽性集団は、組み換えCD71タンパク質への抗CD71 21.12-488抗体の結合を阻害することが確認された。FACSラウンド3由来の5 nMのバインダーならびにFACSラウンド3、4および5由来の1 nMのバインダーからの配列分析によって個々のペプチドクローンを同定した。

20

30

【0549】

抗CD71マスキング部分の配列を表Aに列挙する。

【0550】

(表A) 抗CD71マスキング部分(MM)

40

MM	アミノ酸配列	SEQ ID
TF01	QFCPWSYYLIGDCDI	16
TF02	NLCTEHSFALDCRSY	17
TF03	APMPCTSPGCWLTLR	18
TF04	QSACIFPMTNSCTYS	19
TF05	ASQFCTANPECNYAG	20
TF06	THRCLPMQNFCHNPF	21
TF07	ICSFESWHQFSNCNP	22

TF08	RYS PACYSTCNSINW	23	
TF09	NRWCAPMQNYCHHST	24	
TF10	AHCVQMSNHPYCNHG	25	
TF11	LSHVCLITPMCNAMEQ	26	
TF12	AWWCAPMQNACQHYQ	27	
TF13	RSPCAVPMSNSCYII	28	
TF14	STRCLPMQNYCHFSD	29	
TF15	PNCLPMQNAQRCHSP	30	10
TF16	NTAFCTHNPFENRPT	31	
TF17	MYS PYCYSMCENNIYP	32	
TF18	IMRSCTSPGCYLYNT	33	
TF19	TRCFPMSNNPNCMNY	34	
TF20	NCGNFYYTMMANCNY	35	
TF21	NPNCWAPMMNSCNAF	36	
TF22	WNCENVNLYLPACMQ	37	20
TF23	TWCPMSNHPTCTLK	38	
TF24	GYPCVPMQNRCAWKS	39	
TF25	LLSPFCTQMCNPKLQ	40	
TF26	MSRFCTHNPECNFTY	41	
TF27	MSTCWTQMTNRCTYN	42	
TF28	RKSPNCYSMCNYYFN	43	
TF29	TGQCWAPMQNCTHNK	44	
TF30	TKMGCSKANLCNGAM	45	30
TF31	AHWCAPMQNRCTNAP	46	
TF32	ASCPLMSNKPTCRQP	47	
TF33	DQCWAPMMNMFHCNK	48	
TF34	EYCEYTRPVPMGCWG	49	
TF35	GMCPMSNNPNCNNY	50	
TF36	GSCPLMSNRPSCHSS	51	
TF37	HGDCAPMTNRCTNTT	52	
TF38	KLPCWTLHQNSCTEY	53	40
TF39	LASCAPMQNRCYGLN	54	
TF40	MDRFGCLQMCNWPKN	55	

TF41	MMHCAMMQNRCSEYH	56	
TF42	MRSCHSPMMNQCNHI	57	
TF43	MTHCLPMQNRCTTYM	58	
TF44	QSKCWTTMMNGCHIN	59	
TF45	RECMPPMQNNPACHMY	60	
TF46	RPSPACKIMCNMYQH	61	
TF47	SNRCWAPMTNMCTYN	62	
TF48	SRKCFPMENRCNHHT	63	10
TF49	TPFCLPMQNSCKHTS	64	
TF50	TTHCMPPMQNKCNRPN	65	
TF51	TTSCIMPMTNRCTIH	66	
TF52	VYSPLCHNMCNPRNT	67	
TF53	WCNNRYIAPMSNCAS	68	
TF54	WEYCHNTEFIGCTYK	69	
TF55	WTSFCTHNIFCNMNG	70	20
TF56	YLRGCYEYNMCNGYY	71	
TF57	YSCAPMQNHPPQCNQT	72	
TF58	ACVNSNYPFDSNCMY	73	
TF59	ADCQIFAMTNRCMNN	74	
TF60	AECSPMSNRPQCHIH	75	
TF61	AISCMPMQNSCYHTY	76	
TF62	AKCWTEYMNHPECRI	77	
TF63	ALHVLCYNFCNGPTT	78	30
TF64	AMCVGCSRECCWL GK	79	
TF65	AQPCAPMQNSCHQSV	80	
TF66	ARLGCTKFNMCFYS	81	
TF67	ASCPLMSNKPQCLKH	82	
TF68	ASTFCTHNPACAYIP	83	
TF69	ATCPLMSNRPSCISA	84	
TF70	ATSMYCYSMCNTNNY	85	
TF71	AYRCMPMQNSCYSTN	86	40
TF72	AYTGCTANNMCNAAAY	87	
TF73	CASLCKNQPCSSNRN	88	

TF74	DCPMSYYLPMVNCMH	89	
TF75	DCWRYLGNMNNWCYL	90	
TF76	DLTFCTANPFCSREF	91	
TF77	DNSFCTHNYCMLNK	92	
TF78	DSRCWTGHQNRCTI	93	
TF79	EACMHSLHWRSWCKV	94	
TF80	ECENLYKAPMENCLR	95	
TF81	ECRLRNQPMMSNCSM	96	10
TF82	EHPCMPMENRCYTLN	97	
TF83	ESVCMPMQNVCTWTT	98	
TF84	EYCNMIPMTNYCSYN	99	
TF85	EYLWCELMVSCSRLM	100	
TF86	FKHFCTHNPECKYNT	101	
TF87	FPQCSPMQNKCGEGR	102	
TF88	FRSQYCQSMCNYYNN	103	20
TF89	FRWCAPMQNYCHHST	104	
TF90	FSCTAMSYAEDCWSW	105	
TF91	FSQGCFHDNMCNRYQ	106	
TF92	GCFQLCETCCIHSFD	107	
TF93	GGHCAPMQNNCYYS	108	
TF94	GKYCKMPMVNR CYIM	109	
TF95	GMYCTRMQNSCAHNN	110	
TF96	GPFFCTHSPECQFDK	111	30
TF97	GQCFCSSLEFCRPLKP	112	
TF98	GQYCNLPMVN SCNYL	113	
TF99	GRSCWTSFMNRCTND	114	
TF100	GTCSWGSPGGQLCGR	115	
TF101	GVCLLGLETYLLCFS	116	
TF102	GWSYCINIYCRIDDN	117	
TF103	HCANHHPTPMQNCKT	118	
TF104	HCKEAPWTLYMNCNT	119	40
TF105	HCWWPQNIPMNNCIS	120	
TF106	HFCQNHWMVNACTA	121	

TF107	HGQCMQPMQNRCSNSY	122
TF108	HISPYCQOMCNKWYN	123
TF109	HLMECSYENMCNRY	124
TF110	HMYCAPMQNACTKNT	125
TF111	HNCWTMMMKNPYCSN	126
TF112	HNYCWAPMQNNCMIE	127
TF113	HPPCMPMQNRCVSDH	128
TF114	HPVFCTHNPCHHNY	129
TF115	HRGCMQPMQNSCSTKN	130
TF116	HSSCWAPHTNRCHMG	131
TF117	HSTFCTHNRNCNNHS	132
TF118	HTCHYNTPMTNCHYS	133
TF119	HVSPSCTMMCNSYNF	134
TF120	IAAECTKHNMCMNAM	135
TF121	ICDSSAAPMTNRCMN	136
TF122	INVCMPMQNRCIGQN	137
TF123	IPCHGQWNFSNCKYQ	138
TF124	IPTCVPMQNHCHYSA	139
TF125	IVSKHCTSMCNPNWY	140
TF126	IYCPMSNNIACQNN	141
TF127	KCALSNQPLMSNCLM	142
TF128	KCHDNNFCRNNMCNC	143
TF129	KCSLKHTLPMSNCMA	144
TF130	KCTNAFRMPMENCMS	145
TF131	KFCQQPQTPMQNCSS	146
TF132	KGCYTWTMMNCIPK	147
TF133	KHSPYCFSMCNLQIS	148
TF134	KPRCSPMQNMCYNKQ	149
TF135	KTPCWTSMNGCNHY	150
TF136	KYCPLMSNKPCKPK	151
TF137	KYSPMCFAHNSQIK	152
TF138	LCELSASTWSELCRR	153
TF139	LCGVYEMPMTNACAA	154

10

20

30

40

TF140	LDTFCTHNFNCSKHN	155
TF141	LEKNCTYNNMCNGYH	156
TF142	LESECTHSPACVKHR	157
TF143	LGTCLPMQNGCTGSR	158
TF144	LHDCRSPAWD CFSLG	159
TF145	LHGFCTHNYSCSLEK	160
TF146	LKCLAEQISLDCRST	161
TF147	LKCQQPYTLMQNCAI	162
TF148	LMCTQLPMLNGPCHT	163
TF149	LQRFCTHNMLCQHNS	164
TF150	LRSPYCMGMCNFMTY	165
TF151	LSSFCTSNPFCNPYH	166
TF152	LTSPACRIMCNMDMS	167
TF153	LYNFCTHNNQCNTF	168
TF154	MHDCRMPMTNSCTYP	169
TF155	MKSPACKSMCNLYIN	170
TF156	MKYFCTHNYNCNNH	171
TF157	MPCHLMPMHKQST	172
TF158	MPGCMQPMQNGCKHYN	173
TF159	MTEFCTHNRNCMMIS	174
TF160	MTICAPMQNYCPNAN	175
TF161	MYAPTCQQMCNPVSK	176
TF162	MYCWTAMMNKPCRFN	177
TF163	MYSSYCQLMCNPVPK	178
TF164	NCTMDQILPMSNCNM	179
TF165	NCVNIHYTMSNCNF	180
TF166	NDYCLPMQNKCNMLS	181
TF167	NFCSIPMSNHPTCNN	182
TF168	NFNCWYNPNSDCNYY	183
TF169	NPACMPMQNSCSHYD	184
TF170	NRPCWTDMMNACNHG	185
TF171	NSNECTANYNCNWIN	186
TF172	PCHTGTYPMMNCHT	187

10

20

30

40

TF173	PECPPMSNNPHCNKL	188
TF174	PMCWEFYMMNKCIPY	189
TF175	PSCPPMSNQPACNRT	190
TF176	PSRCFVPMQNYCHNY	191
TF177	PTCREHFAMHNRCHD	192
TF178	PTHCAPMQNACTPHI	193
TF179	PTNCLPMQNRCKMNH	194
TF180	QASFCTHNYNCRTNN	195
TF181	QCGFLPTDKFSNCKN	196
TF182	QNHCVTTMINGCSWT	197
TF183	QQSFCTHSPACIASY	198
TF184	QSICWTYMTNGCMNY	199
TF185	QSQCAPMQNSCAQKH	200
TF186	QSYCYWMTMHCNDRY	201
TF187	QWYCSPMQNGCSNDN	202
TF188	QYCAVMSNNPYCRIN	203
TF189	QYSPYCYSMCNGHKN	204
TF190	RANCSQLGWSHCNIP	205
TF191	RCGNTYYTQMANCNN	206
TF192	RCPAYQHMAHVNCAN	207
TF193	RCSNLVNTPMQNCNM	208
TF194	REPCNVPMTNSCMRN	209
TF195	RGPCAVPMTNHCYSL	210
TF196	RISPGCTLMCNHYMY	211
TF197	RLCPPMSNKTACNNR	212
TF198	RMSCMPMQNSCHNTT	213
TF199	RNICLPMQNYCNNNN	214
TF200	RPCVPMQNDPTCTHI	215
TF201	RPMPCTSPGCTIGVH	216
TF202	RPSFCTHNKNCNHNR	217
TF203	RSTFCTHNPYCTQKL	218
TF204	RTATCSSFGTCSSLW	219
TF205	RTCQLMQNHDPCTMK	220

10

20

30

40

TF206	RTHCMPMQNHCMDSK	221
TF207	RTWVGCENHCYMLEK	222
TF208	RYGCVPMQNACGGPW	223
TF209	SAQCAPMQNSCHSIK	224
TF210	SCLNAHYQPMSNCNG	225
TF211	SCTPVDDNYFNGCSK	226
TF212	SDYCFPMQNCAMWS	227
TF213	SFSEKQONMCNPFNQ	228
TF214	SGCLPMSNNPVCNNR	229
TF215	SIGCLLPMTNGCNYK	230
TF216	SMCLPMQNNPYCNHK	231
TF217	SMFCFWHPDVCHDQE	232
TF218	SMHCSPMQNFCSNNF	233
TF219	SPPCDNMRNWCHPNM	234
TF220	SRECWAMMQNCSRNM	235
TF221	SRVCLPMQNYCKMNH	236
TF222	SSFCSPMQNFCAISI	237
TF223	SSLCMPMQNYCMNHK	238
TF224	STNACNMRNYCMWHQ	239
TF225	STNCIMPMTNGCRLN	240
TF226	STRCNFQAQMHCNYM	241
TF227	STSPACNHMCNPWNG	242
TF228	SVCSRSSPGGVLCRE	243
TF229	SVSPVCMSLCNRYHH	244
TF230	SWTCVPMQNACMHRT	245
TF231	SYCLPMTNKPMCNYM	246
TF232	SYCPHMAMAESCNEW	247
TF233	SYSSSCTQMCNHSYY	248
TF234	TAMPCTSPGCAMEPN	249
TF235	TAMRNCFDNMTN	250
TF236	TASRSCFTMCNLYNH	251
TF237	TCHFPMYYQFANCIP	252
TF238	TCHSNYGPMQNSCYM	253

10

20

30

40

TF239	TCMHPNTGIFYENCTI	254
TF240	TCSIDNYTSSKNC.M	255
TF241	TDNCYGSRWIKCPQT	256
TF242	TEACSPMQNKCTHIY	257
TF243	TFDCVPMQNWCSNN	258
TF244	TGRCQSPMTNGCHYK	259
TF245	THCSPMQNHPSCLHQ	260
TF246	TMQCMQPMQNKCNAN	261
TF247	TNPCIMPMVNHCHPL	262
TF248	TPWCAPMQNACPKGQ	263
TF249	TQMFCTHNPECQINL	264
TF250	TRCLPMSNHPRCAMP	265
TF251	TRFCAPMQNHCMGHN	266
TF252	TRKPCHSPGQCIAMY	267
TF253	TTCPMWAPMTNCTKS	268
TF254	TTHCSPMQNGCTINR	269
TF255	TWSPYCLSMCNLRYP	270
TF256	VAFCLPMTNKCAQV	271
TF257	VATWCTVGPACAIKG	272
TF258	VCSNTQNFPMNCNY	273
TF259	VGGCYVDDLGCARMY	274
TF260	VHLCAPMQNGCMNTQ	275
TF261	VKSPFCFSTCNMRMN	276
TF262	VSCSHGSPDGLMCRG	277
TF263	VSRECTHLNHCNRLS	278
TF264	VTCPMSNRPAACNYH	279
TF265	VTSPACQNMANTYNN	280
TF266	VVGCGFWDFGCQRHF	281
TF267	VVSPSCFSFCNTHWV	282
TF268	VWCPRMSNNPHCASM	283
TF269	VYSPLCKSFCNPIYY	284
TF270	WGKCSPMQNKCTNNS	285
TF271	WRGGCFSPGSCLL	286

10

20

30

40

TF272	WSQCQFPMVNQCMVR	287
TF273	WTSPNCMSMCNNWIR	288
TF274	WWGCVPMsNRCEGGR	289
TF275	YGNRCNMINSCMNNY	290
TF276	YKAFCTHNYNCISK	291
TF277	YLFPTCIEFCNSSRQ	292
TF278	YQCPMSNHPHCIVT	293
TF279	YQYCPMSNRCAIKA	294
TF280	YSAYCNYSNMCNRNS	295

10

## 【 0 5 5 1 】

TF01およびTF02マスクを切断し、アラニンスキャンして、異なるマスクング効率を有する活性化可能抗体のファミリーを作製した。

## 【 0 5 5 2 】

(表B) マスキングペプチドの切断およびアラニンスキャンニング

TF01	QFCPWSYYLIGDCDI	(SEQ ID NO: 16)
01 TF01.01	QFCaWSYYLIGDCDI	(SEQ ID NO: 297)
02 TF01.02	QFCPaSYYLIGDCDI	(SEQ ID NO: 298)
03 TF01.03	QFCPWaYYLIGDCDI	(SEQ ID NO: 299)
04 TF01.04	QFCPWSaYLYGDCDI	(SEQ ID NO: 300)
05 TF01.05	QFCPWSYaLYGDCDI	(SEQ ID NO: 301)
06 TF01.06	QFCPWSYYaLYGDCDI	(SEQ ID NO: 302)
07 TF01.07	QFCPWSYYLaLYGDCDI	(SEQ ID NO: 303)
08 TF01.08	QFCPWSYYLIGaCDI	(SEQ ID NO: 304)

20

TF02	NLCTEHSFALDCRSY	(SEQ ID NO: 17)
09 TF02.09	NLCaEHSFALDCRSY	(SEQ ID NO: 305)
10 TF02.10	NLCTaHSFALDCRSY	(SEQ ID NO: 306)
11 TF02.11	NLCTEaSFALDCRSY	(SEQ ID NO: 307)
12 TF02.12	NLCTEHaSFALDCRSY	(SEQ ID NO: 308)
13 TF02.13	NLCTEHSaALDCRSY	(SEQ ID NO: 309)
14 TF02.14	NLCTEHSFAaALDCRSY	(SEQ ID NO: 310)
15 TF02.15	NLCTEHSFALaALDCRSY	(SEQ ID NO: 311)
16 TF02.16	NLCTEHSFALDCaSY	(SEQ ID NO: 312)
17 TF02.17	CTEHSFALDCRSY	(SEQ ID NO: 313)
18 TF02.18	CTEHSFALDC	(SEQ ID NO: 314)

30

40

## 【 0 5 5 3 】

これらのマスキングペプチドを用いて、本開示の抗CD71活性化可能抗体を作製した。これらの抗CD71活性化可能抗体のうちの若干数の配列を以下の表Cに示す。いくつかの態様において、これらの抗CD71活性化可能抗体は、示されるように、切断可能部分2001 (ISSGLLSGRSDNH; SEQ ID NO: 406)

、切断可能部分3001

(AVGLLAPPGGLSGRSDNH; SEQ ID NO: 412)

、切断可能部分2007

50

(ISSGLLSGRSDIH; SEQ ID NO: 684)  
 、切断可能部分2008  
 (ISSGLLSGRSDQH; SEQ ID NO: 685)  
 、切断可能部分2011  
 (ISSGLLSGRSDNP; SEQ ID NO: 688)  
 、切断可能部分2012  
 (ISSGLLSGRSANP; SEQ ID NO: 689)  
 、切断可能部分2013  
 (ISSGLLSGRSANI; SEQ ID NO: 690)  
 、切断可能部分3007  
 (AVGLLAPPGGLSGRSDIH; SEQ ID NO: 692)  
 、切断可能部分3008  
 (AVGLLAPPGGLSGRSDQH; SEQ ID NO: 693)  
 、切断可能部分3011  
 (AVGLLAPPGGLSGRSDNP; SEQ ID NO: 696)  
 、切断可能部分3012  
 (AVGLLAPPGGLSGRSANP; SEQ ID NO: 697)  
 、または切断可能部分3013  
 (AVGLLAPPGGLSGRSANI; SEQ ID NO: 698)  
 を含む。

10

20

#### 【 0 5 5 4 】

以下に示されるある特定の配列はSEQ ID NO: 645のスペーサー配列を含むが、当業者は、本開示の活性化可能抗CD71抗体が、例えば、  
 QGQSGQG (SEQ ID NO: 645),

QGQSGQ (SEQ ID NO: 424), QGQSG (SEQ ID NO: 646), QGQS (SEQ ID NO: 647),

QGQ (SEQ ID NO: 648), QG (SEQ ID NO: 649), GQSGQG (SEQ ID NO: 666), QSGQG

(SEQ ID NO: 667), SGQG (SEQ ID NO: 668), GQG (SEQ ID NO: 669)

、GまたはQからなる群より選択されるスペーサー配列のような、任意の好適なスペーサー配列を含むことができることを理解する。いくつかの態様において、本開示の活性化可能抗CD71抗体は、そのN末端にスペーサー配列が連結されていなくてもよい。

30

#### 【 0 5 5 5 】

(表C) 抗CD71活性化可能抗体の配列  
 HuCD71\_HcC-des

#### アミノ酸配列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGAIYPGNSETGYAQKFQGR  
 ATLTDATSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRENWDPGFAGWGQGLTITVSSASTKGPSVFPLAPSSK  
 STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC  
 NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS  
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK

40

TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD  
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 699)

#### HuCD71\_HcC-des

##### ヌクレオチド配列

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATGTCCTGCA  
AGGCCTCCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGCCAGGGCCT  
CGAATGGATCGGCGCCATCTACCCCGGCAACTCCGAGACAGGCTACGCCCAGAAGTTCCAGGGCAGA  
GCCACCCTGACCGCCGACACCTCCACCTCCACCGCCTACATGGAAGTGTCCAGCCTGCGGAGCGAGG  
ACACCGCCGTGTACTACTGCACCAGAGAGAACTGGGACCCCGGCTTCGCCTTCTGGGGCCAGGGCAC  
CCTGATCACCGTGTCTCTCCGCCAGCACCAAGGGCCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCCTTCCAGCAAG  
TCCACCTCTGGCGGCACAGCTGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCG  
TGTCTTGGAAGTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTCTCCGG  
CCTGTACTCCCTGTCTCTCCGTGGTGACAGTGCCTCTCTCCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGC  
AACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCTTGCACAAAGA  
CCCACACCTGTCTCTCCCTGCCCTGCCCTGAACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTTTCTGTTCCCCC  
AAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCC  
CACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCA  
AGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA  
CTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAA  
ACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCCCAGGTGTACACACTGCCACCTAGCCGGGAAG  
AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGT  
GGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAATAAGACCACCCACCTGTGCTGGACTCCGAC  
GGCTCATTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCT  
CCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGG  
C (SEQ ID NO: 700)

10

20

30

#### HuCD71\_HcC

##### アミノ酸配列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGAIYPGNSETGYAQKFQGR  
ATLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRENWDPGFAFWGQGLITVSSASTKGPSVFPLAPSSK  
STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC  
NVNHKPSNTKVKDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVDV  
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK  
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD  
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 325)

40

## HuCD71\_HcC

## ヌクレオチド配列

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATGTCCTGCA  
AGGCCTCCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGCCAGGGCCT  
CGAATGGATCGGCGCCATCTACCCCGGCAACTCCGAGACAGGCTACGCCCAGAAGTTCCAGGGCAGA  
GCCACCCTGACCGCCGACACCTCCACCTCCACCGCCTACATGGAACTGTCCAGCCTGCGGAGCGAGG  
ACACCGCCGTGTACTACTGCACCAGAGAGAACTGGGACCCCGGCTTCGCCTTCTGGGGCCAGGGCAC  
CCTGATCACCGTGTCTCCGCCAGCACCAAGGGCCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCCTTCCAGCAAG  
TCCACCTCTGGCGGCACAGCTGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCG  
TGTCCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTCCGG  
CCTGTACTCCCTGTCTCCGTGGTGACAGTGCCCTCCTCCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGC  
AACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCTGCGACAAGA  
CCCACACCTGTCTCTCCCTGCCCTGCCCCCTGAACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTTTCTGTTCCCCC  
AAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCC  
CACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGACAACGCCAAGACCA  
AGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA  
CTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAG  
ACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCCCAGGTGTACACACTGCCACCTAGCCGGGAAG  
AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGT  
GGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCACCTGTGCTGGACTCCGAC  
GGCTCATTCCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGAACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCT  
CCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGG  
CAAG (SEQ ID NO: 326)

10

20

## HuCD71\_LcB

## アミノ酸配列

DIQMTQSPSSLASVGDRTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSG  
TDYTLTISSMQPEDFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL  
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS  
SPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 323)

30

## HuCD71\_LcB

## ヌクレオチド配列

GACATCCAGATGACCCAGTCCCCATCCAGCCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGACAATCACCT  
GTTCCGCCAGCTCCTCCGTGTACTACATGTACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCT  
GTGGATCTACTCCACCTCCAACCTGGCCTCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGC  
ACCGACTACACCCTGACCATCTCCAGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGC

40

GGCGGAACCTACCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCC  
CAGCGTGTTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCAGCGTCGTGTGCCTG  
CTGAACAACCTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCA  
ACTCCCAGGAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGAC  
CCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCC  
AGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGCGGCGAGTGC (SEQ ID NO: 324)

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_2001 (SEQ ID NO: 650)]

アミノ酸配列

10

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 327)

[スぺーサー (SEQ ID NO: 662)] [huCD71Lc\_TF01\_2001 (SEQ ID NO: 651)]

ヌクレオチド配列

20

[CAGGGCCAGTCCGGCCAGGGA] [CAGTTCTGCCCTTGGTCCTACTACCTGATCGGCGACTGCGACA  
TCGGCGGAGGCTCCTCCGGCGGCTCCATCTCCTCTGGCCTGCTGTCCGGCAGATCCGACAACCACGG  
CGGTGGCAGCGACATCCAGATGACCCAGTCCCATCCAGCCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACAGAGTG  
ACAATCACCTGTTCCGCCAGCTCCTCCGTGTACTACATGTACTGGTTCAGCAGAAGCCCCGGCAAGG  
CCCCAAGCTGTGGATCTACTCCACCTCCAACCTGGCCTCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTC  
TGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACCATCTCCAGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTAC  
TGCCAGCAGCGGCGGAACTACCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGGACCG  
TGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCAGCGT  
CGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTG  
CAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTT  
CCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCA  
GGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGCGGCGAGTGC] (SEQ ID NO: 328)

30

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_3001 (SEQ ID NO: 652)]

アミノ酸配列

40

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGSAGVLLAPPGLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 329)

[スペーサー (SEQ ID NO: 662)] [huCD71Lc\_TF01\_3001 (SEQ ID NO: 653)]

ヌクレオチド配列

[CAGGGCCAGTCCGGCCAGGGA] [CAGTTCTGCCCTTGGTCCTACTACCTGATCGGCGACTGCGACA  
TCGGCGGAGGCTCCTCTGGCGGCTCTGCTGTGGGCCTGCTGGCTCCACCTGGCGGCCTGTCCGGCAG  
ATCTGACAACCACGGCGGCTCCGACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGTCCGCCTCCGTG  
GGCGACAGAGTGACAATCACCTGTTCCGCCAGCTCCTCCGTGTACTACATGTACTGGTTCCAGCAGA  
AGCCCCGAAAGGCCCCCAAGCTGTGGATCTACTCCACCTCCAACCTGGCCTCCGGCGTGCCCTCCAG  
ATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACCATCTCCAGCATGCAGCCCCGAGGACTTC  
GCCACCTACTACTGCCAGCAGCGGCGGAAGTACCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAA  
TCAAGCGGACCGTGCGCGCTCCTTCCGTGTTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGAGCGG  
CACCGCCAGCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG  
GACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCT  
ACTCCCTGTCCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGA  
AGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGCGAGTGC] (SEQ ID  
NO: 330)

10

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_2001 (SEQ ID NO: 654)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 331)

20

[スペーサー (SEQ ID NO: 663)] [huCD71Lc\_TF02.13\_2001 (SEQ ID NO: 655)]

ヌクレオチド配列

[CAGGGACAGTCTGGCCAGGGC] [AACCTGTGCACCGAGCACTCTGCCGCTCTGGACTGCAGATCCT  
ACGGCGGAGGCTCCTCCGGCGGCTCCATCTCCTCTGGCCTGCTGTCCGGCAGATCCGACAACCATGG  
CGGCGGATCCGACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACAGAGTG  
ACAATCACCTGTTCCGCCAGCTCCTCCGTGTACTACATGTACTGGTTCCAGCAGAAGCCCCGGCAAGG  
CCCCCAAGCTGTGGATCTACTCCACCAGCAACCTGGCCTCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTC  
TGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACCATCTCCAGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTAC  
TGCCAGCAGCGGCGGAAGTACCCCTACACCTTCGGACAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGGACCG  
TGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCAGCGT  
GGTCTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTG  
CAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCT

30

40

CCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCA  
GGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGCGAGTGC] (SEQ ID NO: 332)

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_3001 (SEQ ID NO: 656)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGS AVGLLAPPGLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSL  
SA SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 333)

10

[スペーサー (SEQ ID NO: 664)] [huCD71Lc\_TF02.13\_3001 (SEQ ID NO: 657)]

ヌクレオチド配列

[CAGGGCCAGTCTGGACAGGGC] [AACCTGTGCACCGAGCACTCTGCCGCTCTGGACTGCAGATCCT  
ACGGCGGAGGCTCCTCTGGCGGCTCTGCTGTGGGCCTGCTGGCTCCACCTGGCGGCCTGTCCGGCAG  
ATCTGACAACACGGCGGCTCCGACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGTCTGCCTCCGTG  
GGCGACAGAGTGACAATCACCTGTTCCGCCAGCTCCTCCGTGTACTACATGTACTGGTTCCAGCAGA  
AGCCCCGGAAGGCCCCCAAGCTGTGGATCTACTCCACCTCCAACCTGGCCTCCGGCGTGCCCTCCAG  
ATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACCATCTCCAGCATGCAGCCCCGAGGACTTC  
GCCACCTACTACTGCCAGCAGCGGCGGAACCTACCCCTACACCTTCGGACAGGGCACCAAGCTGGAAA  
TCAAGCGGACCGTGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCACCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGG  
CACCGCCAGCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG  
GACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCT  
ACTCCCTGTCCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGA  
AGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGCGAGTGC] (SEQ ID  
NO: 334)

20

30

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_2001 (SEQ ID NO: 658)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGS ISSGLLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSL SASVGDRVTIT  
CSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQ  
QRNYPYTFGQGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG  
NSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC] (SEQ ID  
NO: 335)

40

[スペーサー (SEQ ID NO: 665)] [huCD71Lc\_TF02.18\_2001 (SEQ ID NO: 659)]

ヌクレオチド配列

[CAGGGCCAGTCTGGCCAGGGC] [TGCACCGAGCACAGCTTCGCCCTGGACTGTGGCGGCGGATCCT  
CCGGCGGCTCCATCTCCTCTGGCCTGCTGTCCGGCAGATCCGACAACCACGGCGGAGGCTCCGACAT  
CCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGACAATCACCTGTTCC  
GCCAGCTCCTCCGTGTACTACATGTACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGTGGA  
TCTACTCCACCTCCAACCTGGCCTCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGA  
CTACACCCTGACCATCTCCAGCATGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGCGGCGG  
AACTACCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCG  
TGTTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAA  
CAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCC  
CAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGACCCTGT  
CCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCC  
CGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGCGAGTGC] (SEQ ID NO: 336)

10

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_3001 (SEQ ID NO: 660)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR  
VTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATY  
YCQQRNYPYTFGQGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA  
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC] (SEQ  
ID NO: 337)

20

[スペーサー (SEQ ID NO: 665)] [huCD71Lc\_TF02.18\_3001 (SEQ ID NO: 661)]

ヌクレオチド配列

[CAGGGCCAGTCTGGCCAGGGC] [TGCACCGAGCACAGCTTCGCCCTGGACTGTGGCGGCGGATCTT  
CTGGCGGCTCTGCTGTGGCCTGCTGGCTCCTCCTGGCGGCTGTCCGGCAGATCTGACAACCACGG  
CGGCTCCGACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGACA  
ATCACCTGTTCCGCCAGCTCCTCCGTGTACTACATGTACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCC  
CCAAGCTGTGGATCTACTCCACCTCCAACCTGGCCTCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGG  
CTCCGGCACCGACTACACCCTGACCATCTCCAGCATGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGC  
CAGCAGCGGCGGAATAACCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGGACCGTGG  
CCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCAGCGTGGT  
GTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAG  
TCCGGCAACTCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCA  
CCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGG  
CCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGCGAGTGC] (SEQ ID NO: 338)

30

40

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_2012 (SEQ ID NO: 670)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSISSGLLSGRSANPGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 671)

10

[スペーサー (SEQ ID NO: 674)] [huCD71Lc\_TF02.13\_2012 (SEQ ID NO: 675)]

ヌクレオチド配列

[CAGGGACAGTCAGGCCAGGGC] [AATCTCTGCACGGAGCATAGCGCCGCACTTGACTGTGCGATCTT  
ACGGCGGCGGTTCTCTGGAGGCTCTATATCATCCGGA CTCTCTCAGGCAGAAGCGCTAATCTCTGG  
CGGCGGATCTGATATACAAATGACTCAGTCACCAAGCTCCCTGAGTGCGTCAGTTGGTGATAGGGTG  
ACGATCACTTGTAGTGCGAGCTCATCTGTTTATTATATGTACTGGTTTCAACAGAAACCCGAAAAAG  
CACCTAAGTTGTGGATCTACAGTACCTCCAATCTGGCTTCCGGCGTCCCCAGCCGGTTTTCCGGCTC  
TGGAAGCGGAACGGATTACACGCTCACCATATCCTCTATGCAACCTGAAGATTTGCAACTTACTAC  
TGTCAGCAACGCAGGAATTATCCATATACATTTGGTCAAGGGACTAAGCTCGAAATCAAGCGTACGG  
TGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGT  
TGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTC  
CAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCA  
GCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCA  
GGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT] (SEQ ID NO: 676)

20

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_3011 (SEQ ID NO: 672)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSDNPGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 673)

30

[スペーサー (SEQ ID NO: 677)] [huCD71Lc\_TF02.13\_3011 (SEQ ID NO: 678)]

ヌクレオチド配列

[CAAGGGCAGTCCGGTCAAGGG] [AACTTGTGTACAGAGCATCTGCCGCCCTTGACTGCAGGTCTT  
ACGGCGGAGGGAGTAGTGGCGGGAGCGCGGTGGGACTTCTGGCACCACCTGGTGGGTGTGTCAGGCAG  
GAGCGACAATCCAGGGGGGTGAGACATCCAGATGACACAAAGTCCGAGTAGTCTCTCAGCTAGTGTG

40

GGCGATAGAGTCACAATTACATGTAGTGCGTCCAGTAGCGTGTACTACATGTACTGGTTTCAGCAGA  
AGCCGGGCAAAGCACCCGAAACTGTGGATTTACAGTACCAGCAACCTCGCCAGCGGTGTTCCCTCTCG  
ATTTTCAGGGAGTGGGAGTGGGACCGACTACACGCTCACCATCTCAAGTATGCAGCCAGAAGATTTTC  
GCTACCTACTATTGCCAGCAGCGGCGGAATTATCCCTACACGTTCCGGTCAAGGCACAAAACCTGGAAA  
TCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGG  
AACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTG  
GATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCT  
ACAGCCTCAGCAGCACCTTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGA  
AGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT] (SEQ ID  
NO: 679)

10

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_2011 (SEQ ID NO: 701)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNPGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 702)

20

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_3012 (SEQ ID NO: 703)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSANPGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 704)

30

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_2011 (SEQ ID NO: 705)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSISSGLLSGRSDNPGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQ  
QRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG  
NSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC] (SEQ ID  
NO: 706)

40

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_3012 (SEQ ID NO: 707)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSANPGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR  
VTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATY  
YCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA  
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC] (SEQ  
ID NO: 708)

10

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_2012 (SEQ ID NO: 709)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSISSGLLSGRSANPGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT  
CSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQ  
RRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG  
NSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC] (SEQ ID  
NO: 710)

20

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_3011 (SEQ ID NO: 711)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSDNPGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR  
VTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATY  
YCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA  
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC] (SEQ  
ID NO: 712)

30

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_NSUB (SEQ ID NO: 715)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSGGSGGSGGSGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 716)

40

[スぺーサー (SEQ ID NO: 717)] [huCD71Lc\_TF02.13\_NSUB (SEQ ID NO: 718)]

ヌクレオチド配列

[CAAGGCCAGTCTGGCCAGGGT] [AATTTGTGCACGGAGCATAGTGCAGCTCTGGATTGCCGGAGTT  
ATGGAGGTGGCTCGAGCGGAGGCAGCGGAGGTTCAAGCGGGAGCGGTGGGGGGTCAGGAGGTGGCTC

TGGAGGCTCAGACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCTTCCCTCTCTGCCAGCGTGGGTGATCGAGTG  
ACAATTACATGTTCCGCTCTTCTAGCGTATACTATATGTACTGGTTTCAGCAGAAACCTGGAAAAG  
CCCCAAACTGTGGATCTATTCTACTAGCAACCTGGCCTCCGGAGTCCCATCCCGGTTCTCTGGCAG  
CGGTTCTGGAACCGACTACACTCTGACCATCTCTTCTATGCAACCAGAGGACTTTGCTACTTACTAC  
TGTCAACAGAGAAGGAACTATCCTTATACTTTCCGGTCAGGGAACTAAGCTGGAAATCAAGCGTACGG  
TGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGT  
TGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTC  
CAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCA  
GCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCA  
GGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT] (SEQ ID NO: 719)

10

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_NSUB (SEQ ID NO: 720)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSGGGSGGGSGGGSGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT  
CSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQ  
RRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG  
NSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC] (SEQ ID  
NO: 315)

20

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_2007 (SEQ ID NO: 721)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSISSGLLSGRSDIHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 722)

30

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_2008 (SEQ ID NO: 723)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSISSGLLSGRSDQHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 724)

40

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_2013 (SEQ ID NO: 725)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSSISSGLLSGRSANIGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 726)

10

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_3007 (SEQ ID NO: 727)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSSAVGLLAPPGGLSGRSDIHGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 728)

20

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_3008 (SEQ ID NO: 729)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSSAVGLLAPPGGLSGRSDQHGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 730)

30

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_3013 (SEQ ID NO: 731)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSSAVGLLAPPGGLSGRSANIGGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 732)

40

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_2007 (SEQ ID NO: 733)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSSISSGLLSGRSDIHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT  
CSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQ  
QRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG

NSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC] (SEQ ID NO: 734)

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_2008 (SEQ ID NO: 735)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSISSGLLSGRSDQHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC] (SEQ ID NO: 736)

10

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_2013 (SEQ ID NO: 737)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSISSGLLSGRSANIGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC] (SEQ ID NO: 738)

20

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_3007 (SEQ ID NO: 739)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSDIHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC] (SEQ ID NO: 740)

30

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_3008 (SEQ ID NO: 741)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSDQHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC] (SEQ ID NO: 742)

40

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_3013 (SEQ ID NO: 743)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSANIGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR  
VTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATY  
YCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA  
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC] (SEQ  
ID NO: 744)

10

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_2007 (SEQ ID NO: 745)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGSISSGLLSGRSDIHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR  
VTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 746)

20

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_3007 (SEQ ID NO: 747)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSDIHGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 748)

30

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_2008 (SEQ ID NO: 749)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGSISSGLLSGRSDQHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR  
VTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 750)

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_3008 (SEQ ID NO: 751)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSDQHGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 752)

10

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_2011 (SEQ ID NO: 753)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGS ISSGLLSGRSDNPGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 754)

20

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_3011 (SEQ ID NO: 755)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSDNPGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 756)

30

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_2012 (SEQ ID NO: 757)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGS ISSGLLSGRSANPGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 758)

40

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_3012 (SEQ ID NO: 759)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSANPGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE

DFATYYCQQRNYPYTFGQGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 760)

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_2013 (SEQ ID NO: 761)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGSISSGLLSGRSANIGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 762)

10

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_3013 (SEQ ID NO: 763)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGSAGVLLAPPGLSGRSANIGGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 764)

20

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_2001 (SEQ ID NO: 765)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 766)

30

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_3001 (SEQ ID NO: 767)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGSAGVLLAPPGLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 768)

40

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_2007 (SEQ ID NO: 769)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGSISSGLLSGRSDIHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 770)

10

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_3007 (SEQ ID NO: 771)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSDIHGGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 772)

20

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_2008 (SEQ ID NO: 773)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGSISSGLLSGRSDQHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 774)

30

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_3008 (SEQ ID NO: 775)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSDQHGGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 776)

40

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_2011 (SEQ ID NO: 777)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNPGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT

YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 778)

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_3011 (SEQ ID NO: 779)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGSAVGLLAPPGGLSGRSDNPGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 780)

10

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_2012 (SEQ ID NO: 781)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGSISSGLLSGRSANPGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 782)

20

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_3012 (SEQ ID NO: 783)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGSAVGLLAPPGGLSGRSANPGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 784)

30

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_2013 (SEQ ID NO: 785)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGSISSGLLSGRSANIGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN  
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 786)

40

[スペーサー(SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_3013 (SEQ ID NO: 787)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSANIGGSDIQMTQSPSSL SA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW  
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]  
(SEQ ID NO: 788)

10

[スペーサー(SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_2001 VL ドメイン (SEQ ID NO: 809)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGS ISSGLLSGRSDNHGGGSDIQMTQSPSSL S  
ASVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLT  
ISSMQPEDFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 810)

20

[スペーサー(SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_3001 VL ドメイン (SEQ ID NO: 811)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSDNHGGGSDIQMTQSPSSL SA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 812)

30

[スペーサー(SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_2001 VL ドメイン (SEQ ID NO: 813)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGS ISSGLLSGRSDNHGGGSDIQMTQSPSSL SASVG D  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 814)

40

[スペーサー(SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_3001 VL ドメイン (SEQ ID NO: 815)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSDNHGGGSDIQMTQSPSSL SA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 816)

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_2001 VL ドメイン (SEQ ID NO: 817)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 818)

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_3001 VL ドメイン (SEQ ID NO: 819)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSSAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 820)

10

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_2012 VL ドメイン (SEQ ID NO: 821)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 822)

20

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_3011 VL ドメイン (SEQ ID NO: 823)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSSAVGLLAPPGGLSGRSDNPGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 824)

30

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_2011 VL ドメイン (SEQ ID NO: 825)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNPGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 826)

[スペーサー(SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_3012 VL ドメイン (SEQ ID NO: 827)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSANPGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 828)

[スペーサー(SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_2011 VL ドメイン (SEQ ID NO: 829)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSISSGLLSGRSDNPGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT  
CSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQ  
RRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 830)

10

[スペーサー(SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_3012 VL ドメイン (SEQ ID NO: 831)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSANPGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR  
VTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATY  
YCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 832)

20

[スペーサー(SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_2012 VL ドメイン (SEQ ID NO: 833)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSISSGLLSGRSANPGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT  
CSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQ  
RRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 834)

30

[スペーサー(SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_3011 VL ドメイン (SEQ ID NO: 835)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSDNPGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR  
VTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATY  
YCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 836)

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_NSUB VL ドメイン (SEQ ID NO: 837)]  
アミノ酸配列  
[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSGGSGGSGGSGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 838)

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_NSUB VL ドメイン (SEQ ID NO: 839)]  
アミノ酸配列  
[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSGGSGGSGGSGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 840)

10

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_2007 VL ドメイン (SEQ ID NO: 841)]  
アミノ酸配列  
[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSISSGLLSGRSDIHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 842)

20

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_2008 VL ドメイン (SEQ ID NO: 843)]  
アミノ酸配列  
[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSISSGLLSGRSDQHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 844)

30

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_2013 VL ドメイン (SEQ ID NO: 845)]  
アミノ酸配列  
[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGSISSGLLSGRSANIGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 846)

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_3007 VL ドメイン (SEQ ID NO: 847)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSDIHGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 848)

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_3008 VL ドメイン (SEQ ID NO: 849)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSDQHGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 850)

10

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.13\_3013 VL ドメイン (SEQ ID NO: 851)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSAAALDCRSYGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSANIGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 852)

20

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_2007 VL ドメイン (SEQ ID NO: 853)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGS ISSGLLSGRSDIHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT  
CSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQ  
RRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 854)

30

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_2008 VL ドメイン (SEQ ID NO: 855)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGS ISSGLLSGRSDQHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT  
CSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQ  
RRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 856)

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_2013 VL ドメイン (SEQ ID NO: 857)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGSISSGLLSGRSANIGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQRRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 858)

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_3007 VL ドメイン (SEQ ID NO: 859)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSDIHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQRRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 860)

10

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_3008 VL ドメイン (SEQ ID NO: 861)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSDQHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQRRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 862)

20

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02.18\_3013 VL ドメイン (SEQ ID NO: 863)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [CTEHSFALDCGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSANIGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQRRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 864)

30

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_2007 VL ドメイン (SEQ ID NO: 865)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGSISSGLLSGRSDIHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFATYYCQQRRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 866)

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_3007 VL ドメイン (SEQ ID NO: 867)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGSAVGLLAPPGGLSGRSDIHGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 868)

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_2008 VL ドメイン (SEQ ID NO: 869)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGSISSGLLSGRSDQHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 870)

10

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_3008 VL ドメイン (SEQ ID NO: 871)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGSAVGLLAPPGGLSGRSDQHGGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 872)

20

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_2011 VL ドメイン (SEQ ID NO: 873)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGSISSGLLSGRSDNPGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 874)

30

[スパーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_3011 VL ドメイン (SEQ ID NO: 875)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGSAVGLLAPPGGLSGRSDNPGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 876)

[スペーサー(SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_2012 VL ドメイン(SEQ ID NO: 877)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGSISSGLLSGRSANPGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 878)

[スペーサー(SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_3012 VL ドメイン(SEQ ID NO: 879)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSANPGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 880)

10

[スペーサー(SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_2013 VL ドメイン(SEQ ID NO: 881)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGSISSGLLSGRSANIGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 882)

20

[スペーサー(SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF01\_3013 VL ドメイン(SEQ ID NO: 883)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [QFCPWSYYLIGDCDIGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSANIGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 884)

30

[スペーサー(SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_2001 VL ドメイン(SEQ ID NO: 885)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 886)

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_3001 VL ドメイン (SEQ ID NO: 887)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 888)

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_2007 VL ドメイン (SEQ ID NO: 889)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGS ISSGLLSGRSDIHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 890)

10

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_3007 VL ドメイン (SEQ ID NO: 891)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSDIHGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 892)

20

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_2008 VL ドメイン (SEQ ID NO: 893)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGS ISSGLLSGRSDQHGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 894)

30

[スペーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_3008 VL ドメイン (SEQ ID NO: 895)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSDQHGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 896)

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_2011 VL ドメイン (SEQ ID NO: 897)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNPGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 898)

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_3011 VL ドメイン (SEQ ID NO: 899)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSDNPGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 900)

10

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_2012 VL ドメイン (SEQ ID NO: 901)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 902)

20

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_3012 VL ドメイン (SEQ ID NO: 903)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSANPGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 904)

30

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_2013 VL ドメイン (SEQ ID NO: 905)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGSSISSGLLSGRSANIGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVYYMYWFQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPEDFAT  
YYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 906)

[スぺーサー (SEQ ID NO: 645)] [huCD71Lc\_TF02\_3013 VL ドメイン (SEQ ID NO: 907)]

アミノ酸配列

[QGQSGQG] [NLCTEHSFALDCRSYGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSANIGGSDIQMTQSPSSLSA  
SVGDRVTITCSASSSVYYMYWFQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE  
DFATYYCQQRNYPYTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 908)

40

【 0 5 5 6 】

### 実施例3. 活性化可能抗CD71抗体の作製および特性評価

本明細書において提供される研究は、本開示の活性化可能抗CD71抗体を作製するためにデザインされた。

【 0 5 5 7 】

異なるマスキング効率(すなわち、活性化可能抗体のABのその標的に対する結合をプロ

50

ックする活性化可能抗体のMMの能力の測定値)で抗CD71活性化可能抗体を作製した。ペプチドTF01およびTF02を実施例2に記述されているように切断およびアラニンスキャニングにより突然変異させ、これらのマスキングペプチド変種を用いて、ある範囲のマスキング効率を有する本開示の抗CD71活性化可能抗体のファミリーを作製した。

【0558】

FACSを用いて本開示の抗CD71活性化可能抗体のNCI H292 (本明細書においてH292ともいわれる)細胞株に対する結合を評価した。簡潔には、細胞を表示された濃度のhuCD71抗体または活性化可能抗体で標識し、引き続きAlexa Fluor 647標識ヤギ抗ヒトIgG二次抗体で検出した。図2に示されるように、本開示の抗CD71活性化可能抗体は、親抗CD71抗体(huCD71 21.12 Ab)と比べてある範囲のマスキング効率を示す。

10

【0559】

図3Aに示されるように、本開示のhuCD71活性化可能抗体薬物コンジュゲートは、非コンジュゲート活性化可能抗体と同様に挙動し、タンパク質分解的に活性化された場合にhuCD71抗体結合活性を回復する。本研究は、val-citリンカーを介してMMADにコンジュゲートされた本明細書においてhuCD71 TF01-2001といわれる活性化可能抗CD71抗体を用いて行われ(リンカー-毒素は本明細書においてvc-MMADといわれる)、この活性化可能抗体構築体は、SEQ ID NO: 5のVH、SEQ ID NO: 7のVL、SEQ ID NO: 16のMM、および配列ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 406)を含むCMを含む。標準的なFACS標識プロトコルを用いてFACSにより、コンジュゲートされたuPA処理したまたはインタクトなhuCD71 TF01-2001活性化可能抗体-MMADのH292細胞に対する結合を評価した。本明細書において「AADC」ともいわれる抗CD71活性化可能抗体薬物コンジュゲートを、uPAとの終夜のインキュベーションによって活性化した。図3Bは、抗CD71抗体21.12-MMADと同じようにインビトロで細胞を死滅化させるval-citリンカーを介してMMADにコンジュゲートされた活性化抗CD71活性化可能抗体huCD71 TF01-2001 (リンカー-毒素は本明細書においてv-MMADまたはvc-MMADといわれる)の能力を示す。核酸損傷性作用物質にコンジュゲートされた態様の活性化可能抗体がそのような細胞死滅化アッセイ法において試験された場合に、同様の結果が観察された。

20

【0560】

H292異種移植腫瘍を、アイソタイプ-DM4対照、huCD71-DM4 ADC、ならびにSEQ ID NO: 5のVH、SEQ ID NO: 7のVL、SEQ ID NO: 309 (NLCTEHSAAALDCRSY)のMMおよび配列ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 406)

30

を含むCMを有する、コンジュゲートされた抗CD71活性化可能抗体huCD71 TF02.13\_2001-DM4 AADCで処理した。腫瘍を平均150 mm<sup>3</sup>まで成長させた; その後、マウスを無作為に8群に分け、0日目および7日目に表示された試験物を投与した。本研究の結果を図4に示す。各群の平均腫瘍体積±SEMをプロットする。ADCもAADCとともに腫瘍退縮を誘導する。本明細書において開示される全てのDM4コンジュゲート活性化可能抗体は、TCRS (The Chemistry Research Solution)によって産生された。

【0561】

図5は、対照としてPBSで処理された乳癌HCC1806異種移植腫瘍、ならびにSEQ ID NO: 5のVH、SEQ ID NO: 7のVL、SEQ ID NO: 309 (NLCTEHSAAALDCRSY)のMM、および配列ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 406)

40

を含むCM1を有する、コンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体huCD71 TF02.13-2001-DM4 AADCの2つの異なる用量1 mg/kgおよび3 mg/kgで処理された乳癌HCC1806異種移植腫瘍の結果を示すグラフである。各群の平均腫瘍体積±SEMをプロットする。図5は、本開示のコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体が、臨床的に関連する用量よりも低い用量で乳房HCC1806異種移植腫瘍において完全な腫瘍退縮を誘導することを実証する。

【0562】

50

図6Aは、本例示的研究において約3 nMの観察されたKdで、カニクイザル初代腎臓上皮細胞に結合する本開示の抗CD71抗体(SEQ ID NO: 5のVHおよびSEQ ID NO: 7のVL)の能力を示すグラフである。本研究において、標準的なFACS標識法を用いて、細胞への本開示の抗体の結合を行った。簡潔には、細胞を表示された濃度の本開示の抗CD71抗体またはアイソタイプ(パリビズマブ)対照で標識し、引き続きAlexa Fluor 647標識ヤギ抗ヒトIgG二次抗体で検出した。

【0563】

図6Bは、抗CD71抗体huCD71 (SEQ ID NO: 5のVHおよびSEQ ID NO: 7のVL)がヒトおよびカニクイザルCD71に結合するが、しかしマウスCD71に結合しないことを実証する。このアッセイ法では、表示されたタイプの組み換えCD71 (1 µg/mL)をELISAプレートに吸収させ、続いて表示された濃度の抗ヒトCD71 21.12抗体とともにインキュベートし、引き続いてヤギ抗ヒトIgG-HRP二次抗体およびUltra TMB (Thermo Fisher Scientific)検出により当業者に公知の方法にしたがっておよびアッセイ法を用いて検出した。

10

【0564】

図6Cは、ともに本例示的研究において約3 nMの観察されたKdで、ヒト膀胱癌由来BxPC3細胞株に結合する本開示のマウス抗CD71抗体muM21 (「CD71 ms Ab」) (SEQ ID NO: 1のVHおよびSEQ ID NO: 2のVL)ならびに本開示のヒト化抗CD71抗体Ab21.12 (「CD71 Hu Ab」) (SEQ ID NO: 5のVHおよびSEQ ID NO: 7のVL)の能力を示すグラフである。本研究において、標準的なFACS標識法を用いて、細胞への本開示の抗体の結合を行った。簡潔には、細胞を表示された濃度の本開示の抗CD71抗体またはヒトIgG1アイソタイプ対照抗体(パリビズマブ, 「アイソタイプ」)で標識し、引き続きAlexa Fluor 647標識ヤギ抗ヒトまたはヤギ抗マウスIgG二次抗体で検出した。

20

【0565】

図7は、本開示の抗CD71活性化可能抗体の単回用量がカニクイザルへの投与時にCD71親抗体と比べて、延長された半減期を実証することを示すグラフである。この研究では、サルに0日目に5 mg/kgの表示抗体の単回用量を注射し、ここでは「CD71抗体」は本開示の抗ヒトCD71 21.12抗体であり、「CD71活性化可能抗体」は本開示の抗ヒトCD71 TF01.2001活性化可能抗体であった。各サルの血清中の全ヒトIgGの量を、抗ヒトIgGサンドイッチELISAを用いて表示された日にアッセイした。

30

【0566】

2頭のカニクイザルにおけるhuCD71 TF02.13-2001 DM4薬物コンジュゲートの薬物動態および認容性を、単回の5 mg/kg用量の後に評価した(図8)。抗ヒトIgGサンドイッチELISAを用いてヒトIgGの全血清レベルを測定した。

【0567】

図7、8および9に描かれた研究は、3週間の認容性研究(非終端)の一部として行われた；単回用量 n=2。観察されたインタクトな活性化可能抗体の延長されたPKは、正常組織結合の減少と一致した。活性化されたコンジュゲート活性化可能抗体の低循環血中レベルが検出された。コンジュゲートされた活性化可能抗体は、5 mg/mgで良好な認容性を示した。オンまたはオフターゲットの毒性の証拠は観察されなかった。臨床的徴候、体重減少、臨床化学または血液学的所見はなかった。

40

【0568】

図9は、本開示のコンジュゲートされた活性化可能抗CD71抗体(抗huCD71 TF02.13-2001 DM4)を投与された2頭のカニクイザルが、好中球減少(好中球数に基づく)の証拠も肝臓毒性(アラニントランスアミナーゼ(ALT)もしくはアスパラギン酸トランスアミナーゼ(AST)のレベルに基づく)の証拠も示さなかったことを示す。

【0569】

**実施例4:** CD71抗体の結合および阻害活性の特性評価

本実施例は、組み換えCD71のそのリガンドであるトランスフェリンに対する結合を阻害する本開示の抗CD71抗体の能力を示す。

【0570】

50

図10は、固相ELISA結合アッセイ法を用いた抗CD71抗体の非存在下での組み換えヒトCD71への組み換えヒトトランスフェリン(Tf)リガンドの結合を示す。この研究では、ヒトCD71に対するトランスフェリンの約1.6 nMの解離定数( $K_d$ )が本実施例において決定された。このアッセイ法では、組み換えヒトCD71 (1  $\mu$ g/ml)をELISAプレートに吸収させ、続いて表示された濃度のビオチン化トランスフェリンリガンドとともにインキュベートし、引き続き結合したビオチン化トランスフェリンの検出を、ストレプトアビジン-西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)およびUltra TMB検出(Thermo Fisher Scientific)により当業者に公知の方法にしたがっておよびアッセイ法を用いて行った。

#### 【0571】

図11Aは、本開示の抗CD71抗体の存在下での結合を含む、固相ELISA結合アッセイ法を用いたさまざまな条件下での組み換えヒトトランスフェリン(Tf)リガンドと組み換えヒトCD71との間の結合に及ぼす効果を示す。特に、図11Aに示されるように、本研究は、本開示のヒト化抗CD71抗体(「CD71 Ab21.12」)が、アイソタイプ対照と比較してトランスフェリンリガンドとそのCD71受容体との間の結合を阻害することを示した。この結果はまた、この阻害が、市販の異なるマウス抗ヒトCD71モノクローナル抗体(「OKT9」)によって実証された結合阻害と同様であることを示した。この結果はまた、市販のウサギ抗ヒトCD71ポリクローナル抗体(LS-C334364, LS Bio)もアイソタイプ対照もCD71へのトランスフェリン結合を有意に阻害しないこと、および過剰量の非放射性トランスフェリンの添加によって結合活性が消失されることを示した。このアッセイ法では、組み換えヒトCD71タンパク質(1  $\mu$ g/ml)をELISAプレートに吸収させ、引き続き漸増アッセイ法の一環として表示された濃度の抗体またはトランスフェリンの存在下において0.6 nMのビオチン化トランスフェリン(ここでSEQ ID NO: 5のVHおよびSEQ ID NO: 7のVLを有する本開示の抗CD71 21.12)とともにインキュベートした。結合したトランスフェリンを、ストレプトアビジンコンジュゲートHRPおよびUltra TMB検出により当業者に公知の方法にしたがっておよびアッセイ法を用いて検出した。

#### 【0572】

図11Bは、既知の抗CD71モノクローナル抗体(OKT9)によるCD71へのトランスフェリン結合の阻害の程度が、本開示の抗CD71 21.12抗体による阻害の程度よりも有意に低いことを示す。このアッセイ法では、組み換えヒトCD71タンパク質(1  $\mu$ g/ml)をELISAプレートに吸収させ、引き続き漸増アッセイ法の一環として表示された濃度のOKT9抗CD71抗体または本開示の抗CD71 21.12抗体(SEQ ID NO: 5のVHおよびSEQ ID NO: 7のVLを有する抗CD71 21.12)の存在下において0.6 nMのビオチン化トランスフェリンとともにインキュベートした。結合したトランスフェリンを、ストレプトアビジンコンジュゲートHRPおよびUltra TMB検出により当業者に公知の方法にしたがっておよびアッセイ法を用いて検出した。

#### 【0573】

#### 実施例5: 複数の原発性および転移性腫瘍におけるCD71発現

本実施例は、抗CD71抗体を用いた免疫組織化学(IHC)染色によりCD71が多種多様の原発性および転移性腫瘍型において発現されることを示す。

#### 【0574】

図12A、12Bおよび12Cは、複数の原発性腫瘍および転移性組織マイクロアレイ(TMA)に対する商業的に購入された抗CD71抗体によるIHC染色を用いて、CD71が多数の原発性および転移性腫瘍サンプルにおいて高度に発現されることを示す。図12Aは、子宮頸癌(1)、頭頸部癌(2)、H292異種移植片(3)、リンパ節における非ホジキンリンパ腫(NHL) (4)、結腸におけるNHL (5)、および胃におけるNHL (6)におけるCD71のIHC染色を示す。図12Bは、転移性腫瘍由来のコアからなるTMAにおけるCD71のIHC染色がコアの大部分において中レベルから高レベルのCD71発現を実証したことを示す。図12Cは、1つの例示的なTMAのCD71のIHC染色レベルの要約を示し、複数の組織源に由来する多数の転移コアが強いCD71シグナルを示したことを示す。

#### 【0575】

#### 実施例6: Raji異種移植モデルにおける活性化可能抗CD71-AADCインビボ有効性

本実施例は、本開示のコンジュゲートされた毒素を有する抗ヒトCD71活性化可能抗体 (ADC) が非ホジキンリンパ腫 (NHL) マウス異種移植モデルにおいて有効であることを示す。これらの有効性は、抗ヒトCD71抗体に特異的であり、親抗ヒトCD71薬物コンジュゲートによって実証された有効性に匹敵するか、または等価である。

【0576】

図13Aは、マウスNHL異種移植モデルにおけるさまざまな抗CD71活性化可能抗体薬物コンジュゲートの有効性を示し、ここでは本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲート (CD71 TF02.18-2001-spdb-DM4、CD71 TF02.13-2001-spdb-DM4およびCD71 TF02.13.3001-spdb-DM4) は、アイソタイプ対照 (パリピズマブ-spdb-DM4) よりも有意に高い有効性を示した。この図は、本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲートが、マスクされていない抗CD71抗体薬物コンジュゲート (CD71 21.12-spdb-DM4) に匹敵する有効性を実証したことも示している。この研究では、マウスにおける非ホジキンリンパ腫 (NHL) Raji異種移植腫瘍を、150 mm<sup>3</sup>の平均体積まで成長させた。その後、マウスを無作為に8群に分け、1日目および8日目に5 mg/kgの表示された各試験物を投与した。各時点について平均腫瘍体積 ± SEMをプロットした。

10

【0577】

図13Bは、マウスNHL異種移植モデルにおけるさまざまな抗CD71活性化可能抗体薬物コンジュゲートの有効性を示し、ここでは本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲート (CD71 TF02.18-2001-vc-MMAEおよびCD71 TF02.13-3001-vc-MMAE) は、アイソタイプ対照 (パリピズマブ-vc-MMAE) よりも有意に高い有効性を示した。この図は、本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲートが、マスクされていない抗CD71抗体薬物コンジュゲート (CD71 21.12-vc-MMAE) に匹敵する有効性を実証したことも示している。この研究では、マウスにおける非ホジキンリンパ腫 (NHL) Raji異種移植腫瘍を、150 mm<sup>3</sup>の平均体積まで成長させた。その後、マウスを無作為に8群に分け、1日目および8日目に3 mg/kgの表示された各試験物を投与した。各時点について平均腫瘍体積 ± SEMをプロットした。

20

【0578】

図13Cは、マウスNHL異種移植モデルにおけるさまざまな抗CD71活性化可能抗体薬物コンジュゲートの有効性を示し、ここでは本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲート (CD71 TF02.18-2001-vc-MMADおよびCD71 TF02.13-3001-vc-MMAD) は、アイソタイプ対照 (パリピズマブ-vc-MMAD) よりも有意に高い有効性を示した。この図は、本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲートが、マスクされていない抗CD71抗体薬物コンジュゲート (CD71 21.12-vc-MMAD) に匹敵する有効性を実証したことも示している。この研究では、マウスにおける非ホジキンリンパ腫 (NHL) Raji異種移植腫瘍を、150 mm<sup>3</sup>の平均体積まで成長させた。その後、マウスを無作為に8群に分け、1日目および8日目に0.5または1 mg/kgの表示された各試験物を投与した。各時点について平均腫瘍体積 ± SEMをプロットした。

30

【0579】

実施例7: 抗CD71-ADCおよび活性化可能抗CD71-AADCのカニクイザル認容性

本実施例は、本開示のコンジュゲートされた毒素を有する活性化可能抗ヒトCD71抗体 (ADC) が、1つまたは複数の血液学的読み取り値に基づき対応する親抗CD71 ADCと比べて、カニクイザルにおいて良好に認容されることを示す。

40

【0580】

図14A ~ 14Gは、本開示の抗CD71活性化可能抗体薬物コンジュゲート (AADC) が、高用量または低用量の対応する親抗CD71 ADCで処置されたサルと比較して、各血液学的読み取り値の顕著な変化がないことに基づき、カニクイザルにおいていっそう高い認容性を実証することを示す。以下の血液学的結果が、5 mg/kgの親抗CD71 ADCによるサルの処置で観察された: 高用量ADC処置による全白血球 (WBC) の著しい低減 (図14A)、高用量および低用量ADC処置による8 ~ 11日目までの重度の好中球減少 (図14B)、高用量ADC処置によるリンパ球の著しい低減 (図14C)、低用量処置動物では11日目に単球回復を伴う、高用量ADC処置および低用量ADC処置の両方による単球の減少 (図14D)、高用量ADC処置および低用量ADC処置の両方による赤血球数 (RBC) の減少 (図14E)、高用量ADC処置および低用量ADC処置の両方による

50

ヘモグロビン数(HGB)の著しい低減(図14F)、ならびに高用量ADC処置および低用量ADC処置の両方による網状赤血球の著しい低減(図14G)。抗CD71 ADCで処置したサルは正常血小板数を示した(データは示さず)。これと比較して、本開示の活性化可能抗CD71 AADCで処置した動物は、これらの血液学的読み取り値の全てにおいて顕著な変化を示さなかった(図14A~14F)。この研究では、約3.4の薬物-抗体比(DAR)を有する本開示の活性化可能抗CD71 TF02.13-2001-spdb-DM4 (「AADC」)の単回用量を5 mg/kgでカニクイザルに投与し、本開示の抗CD71 21.12-spdb-DM4 (「ADC」)を5 mg/kg (低用量)および7.5 mg/kg (高用量)で投与した。血液学的結果は、当技術分野において公知の技法および方法を用いて、表示された研究日に各サルから得られた。

【0581】

10

**実施例8:** 複数の細胞株におけるCD71発現および抗CD71媒介細胞傷害性に対する感受性

本実施例は、CD71が多くの腫瘍由来細胞株において高いレベルで発現されること、およびこれらの細胞株の多くが抗CD71標的細胞傷害性に対する感受性を実証したことを示す。

【0582】

図15は、FACS分析による表示された細胞株におけるCD71の最大結合または相対発現を示す。FACS染色は、市販の抗CD71マウスモノクローナル抗体OKT9、引き続きAlexa Fluor 647コンジュゲートヤギ抗マウス二次抗体を用いて行われたが、所与の細胞株に対するバーの高さは、その細胞株に対するCD71由来シグナルの相対量に対応する。所与の細胞株に対するバーの色は、インビトロ細胞傷害性アッセイ法における対応する細胞株の相対感受性を示し、ここでは細胞株を、MMAE毒素にコンジュゲートされた抗ヒト二次抗体の存在下において本開示の抗CD71 21.12抗体で処理した。1 nM未満のEC50で細胞傷害性が観察された場合、細胞株を「感受性」と分類した。最大死滅化が50%未満であり、EC50が1 nMより大きい場合、細胞株を「中程度に感受性」と分類した。細胞傷害性が全くかほとんど観察されない場合、細胞株を「耐性」と分類した。

20

【0583】

**実施例9:** HT29、BxPc3、FaduおよびMDA MB 231細胞株でのCD71発現

本実施例は、本開示の活性化可能抗ヒトCD71抗体が、本開示のマスクされていない抗ヒトCD71抗体のものよりも高い解離定数で複数の細胞株上のCD71に結合することを示し、したがって活性化の前に結合を低減させるうえでのマスクの効果を示す。

【0584】

30

図16A~16Dは、細胞株HT29 (図16A)、BxPc3 (図16B)、FaDu (図16C)およびMDA MB 231 (図16D)への本開示の抗CD71活性化可能抗体および親抗体の結合量を示す。この研究では、標準的なFACS標識法を用いて表示された細胞株への本開示の抗体の結合を行った。簡潔には、細胞を、表示された本開示の抗体: 抗ヒトCD71抗体(抗ヒトCD71 Ab21.12抗体, 「CD71-Ab」)または2つの抗ヒトCD71活性化可能抗体(抗ヒトCD71 TF02.13-3001, 「CD71-ActAb 1」もしくは抗ヒトCD71 TF02.18-2001, 「CD71-ActAb 2」)のうちの1つにより表示された濃度で標識し、引き続きAlexa Fluor 647標識ヤギ抗ヒトIgG二次抗体により検出した。以下の表14は、図14A~14Dに描かれた結合曲線に基づく平衡解離定数を示す。これらの結果は、抗ヒトCD71 21.12抗体(CD71-Ab)が同様のKd (0.39~0.81 nM)で全ての細胞株に結合するのに対し、細胞株への抗ヒトCD71 TF02.13-3001 (CD71-ActAb 1)および抗ヒトCD71 TF02.18-2001 (CD71-ActAb 2)の結合は、右方に大きくシフトし(38~46倍)、このことからマスキング部分のマスキング効率が示唆されることを示す。

40

【0585】

(表14) 活性化可能抗CD71の例示的な観察されたCD71結合活性

細胞株	CD71-Ab	CD71-ActAb 1		CD71-ActAb 2		最大結合量(Bmax) (MFI)
	Kd (nM)	Kd (nM)	ME*	Kd (nM)	ME*	
FaDu	0.39	14.74	38	15.36	39	1000
HT29	0.51	23.02	45	19.74	39	700
MB231	0.84	38.84	46	31.99	38	500
BxPC3	0.81	35.18	43	36.35	43	400

50

\* ME=マスキング効率

【0586】

実施例10: HT29、BxPc3、FaDuおよびMDA MB 231細胞株に対する抗CD71 ADC細胞傷害性

本実施例は、本開示の抗ヒトCD71抗体薬物コンジュゲートがアイソタイプ対照ADCと比較して、複数の細胞株に対していっそう高い細胞傷害性を実証することを示す。

【0587】

図17A~17Dは、さまざまな毒素にコンジュゲートされた本開示の抗ヒトCD71抗体がアイソタイプ対照ADCと比較して、さまざまなCD71発現細胞株に対するいっそう高いインビトロ細胞傷害性を実証することを示す。この研究では、本開示の抗ヒトCD71 21.12-ADC (spdb-DM4、vc-MMAEもしくはvc-MMADのいずれかにコンジュゲートされた)またはアイソタイプ対照 (spdb-DM4、vc-MMAEもしくはvc-MMADのいずれかにコンジュゲートされたパリビズマブ-ADC)を表示された濃度で、HT29 (図17A)、BxPc3 (図17B)、FaDu (図17C)およびMDA MB 231 (図17D)に適用した。対照として用いられた未処理細胞の集団に対するパーセンテージとして細胞傷害性を決定した。

10

【0588】

実施例11: NHL Raji細胞に対する活性化可能抗CD71細胞傷害性

本実施例は、本開示の抗ヒトCD71抗体薬物コンジュゲート(ADC)が本開示の抗ヒトCD71活性化可能抗体薬物コンジュゲート(AADC)と比較して、Raji (非ホジキンリンパ腫)細胞株に対していっそう高い細胞傷害性を実証することを示す。

【0589】

図18は、(spdb-DM4、vc-MMAEまたはvc-MMADのいずれかにコンジュゲートされた)本開示の抗ヒトCD71 21.12-ADC薬物コンジュゲート(ADC)が、その対応する抗ヒトCD71 TF02.18-2001-AADC活性化可能抗体薬物コンジュゲート (spdb-DM4、vc-MMAEもしくはvc-MMADのいずれかにコンジュゲートされた)または抗ヒトCD71 TF02.13-3001-AADC活性化可能抗体薬物コンジュゲート (spdb-DM4、vc-MMAEもしくはvc-MMADのいずれかにコンジュゲートされた)のいずれかのものよりもRaji非ホジキンリンパ腫由来細胞に対して高い細胞傷害性を示したことを示す。抗ヒトCD71 ADCは、Raji細胞株に対して互いに同様の細胞傷害性効果を実証した(対照サンプルとの比較に基づいておよそ0.1 nMのIC50を示す)。これと比較して、抗ヒトCD71活性化可能抗体薬物コンジュゲート(AADC)は、アイソタイプ-ADC対照のものと類似または同等の細胞傷害性効果を示した。この研究では、本開示のさまざまな抗ヒトCD71抗体薬物コンジュゲートおよび活性化可能抗体薬物コンジュゲートを、表示された濃度でRaji細胞に適用した。対照として用いられた未処理細胞の集団に対するパーセンテージとして細胞傷害性を決定した。

20

30

【0590】

実施例12: CD71結合アッセイ法

本実施例は、本開示の抗ヒトCD71活性化可能抗体が、本開示の親抗CD71抗体と比べて組み換えCD71タンパク質に対する結合親和性のシフトを実証したことを示す。

【0591】

図19に描かれた実施例によって示されるように、固相結合アッセイ法を用いて、本開示の抗ヒトCD71抗体の結合を実証した。これらの実施例では、1 µg/mLの濃度でニッケルめっきをしたELISAプレート上に組み換えヒトCD71タンパク質(R&D Systems)をコーティングし、次いで表示された濃度の抗CD71抗体(「CD71 21.12」)または活性化可能抗CD71抗体(「CD71.TF02.13-2001」もしくは「CD71.TF02.18-2001」)とともにインキュベートし、ここで活性化可能抗体を非タンパク質分解的に活性化されたその形態としてアッセイした。結合した抗体の量を、西洋ワサビペルオキシダーゼにコンジュゲートされたヤギ抗ヒト抗体によるインキュベーションおよび検出ならびにUltra TMB (Thermo Fisher Scientific)検出によって検出した。

40

【0592】

図19に描かれるように、例示的アッセイ法によって抗ヒトCD71 21.12抗体がおよそ0.3 nMのKdで結合することが実証された。抗ヒトCD71 TF02.18-2001およびヒトCD71 TF02.13-

50

2001活性化可能抗体の結合定数は、その各マスキング効率(それぞれ9倍および42倍)の結果として右方にシフトされる。

【0593】

(表15) 活性化可能抗CD71抗体の例示的な観察されたCD71結合活性

抗体	Kd (nM) 1 µg/mL CD71抗原	ME*
CD71 21.12	0.3	-
CD71 TF02.13-2001	13	42
CD71 TF02.18-2001	3.0	9

10

\* ME=マスキング効率

【0594】

実施例13: 非ホジキンリンパ腫の患者由来異種移植モデルにおける活性化可能抗CD71-AADCインビボ有効性

本実施例は、本開示のコンジュゲートされた毒素を有する抗ヒトCD71活性化可能抗体(ADC)が、非ホジキンリンパ腫(NHL)患者由来異種移植モデルにおいて有効であること、およびこの有効性が親抗ヒトCD71抗体薬物コンジュゲート(ADC)で観察されたものと同等かまたはそれよりも良好であることを示す。

20

【0595】

図20Aおよび20Bは、非ホジキンリンパ腫(NHL)原発性腫瘍の患者由来異種移植マウスモデルを用いて、本開示の活性化可能抗huCD71-AADCで処置したマウスが、本開示のその各抗huCD71-ADCのものと同等かまたはそれよりも高い経時的な有効性を示したことを示す。この研究では、2つの患者由来NHL異種移植片(LY2214およびLY0257とラベル表示, Crown Bioscience)をアイソタイプ-ADC対照(spdb-DM4にコンジュゲートされたパリピズマブ, 「アイソタイプ-ADC」); 本開示のspdb-DM4にコンジュゲートされた本開示の活性化可能抗huCD71 21.12-ADC (「CD71-ADC」); またはspdb-DM4にコンジュゲートされた本開示の活性化可能抗huCD71 TF02.13.3001 (「CD71-AADC」)でそれぞれ処置した。各実施例では、腫瘍異種移植片を150 mm<sup>3</sup>の平均体積まで成長させた; その後、マウスを無作為に4群に分け、1日目および7日目に5 mg/kgの表示された試験物を投与した。各時点について平均腫瘍体積±SEMをプロットする。

30

【0596】

実施例14: 複数の大腸癌由来細胞株に対する抗CD71-ADC細胞傷害性

本実施例は、本開示の抗ヒトCD71抗体薬物コンジュゲート(ADC)がアイソタイプ-ADC対照と比較して、複数の大腸癌(CRC)由来細胞株に対していっそう高い細胞傷害性を実証することを示す。

【0597】

図21A~21Hは、spdb-DM4またはvc-MMAEのいずれかにコンジュゲートされた本開示の抗ヒトCD71 21.12抗体薬物コンジュゲート(ADC)が、spdb-DM4またはvc-MMAEのいずれかにコンジュゲートされたアイソタイプ抗体(chKTI, キメラヒトIgG1抗ダイズトリプシン阻害物質抗体)のものよりも種々のCRC由来細胞株に対していっそう高い細胞傷害性を示したことを示す。ADCで処理されたCRC由来細胞株は、SW1417、SW48、Ls411N、Lovo、HCT116、DLD1、Ls174TおよびSW480であった。抗ヒトCD71 ADCは、細胞株に対して互いに同様の細胞傷害性の有効性を実証した。この研究では、本開示のさまざまな抗ヒトCD71抗体薬物コンジュゲートおよびアイソタイプ薬物コンジュゲートを、表示された濃度で細胞に適用した。対照として用いられた未処理細胞の集団に対するパーセンテージとして細胞傷害性を決定した。

40

【0598】

図22Aおよび22Bは、vc-MMAEまたはvc-MMADにコンジュゲートされた本開示の抗ヒトCD71

50

21.12-ADC薬物コンジュゲート(ADC) (CD71 21.12-vc-MMAE, CD71 21.12-vc-MMAD)がその対応する、vc-MMAEもしくはvc-MMADにコンジュゲートされた抗ヒトCD71 TF02.18-2001-AA DC活性化可能抗体薬物コンジュゲート(CD71 TF02.18-2001-vc-MMAE, CD71 TF02.18-2001-vc-MMAD)、vc-MMAEもしくはvc-MMADにコンジュゲートされた抗ヒトCD71 TF02.13-3001-AA DC活性化可能抗体薬物コンジュゲート(CD71 TF02.13-3001-vc-MMAE, CD71 TF02.13-3001-vc-MMAD)、またはvc-MMAEもしくはvc-MMADにコンジュゲートされたアイソタイプ対照(パリビズマブ-ADC) (アイソタイプ-vc-MMAE, アイソタイプ-vc-MMAD)のいずれかのものよりもHT29 CRC由来細胞に対していっそう高い細胞傷害性を示したことを示す。この研究では、本開示のさまざまな抗ヒトCD71抗体薬物コンジュゲートおよび活性化可能抗体薬物コンジュゲート、ならびにアイソタイプ-ADCを、表示された濃度でHT29細胞に適用した。対照として用いられた未処理細胞の集団に対するパーセンテージとして細胞傷害性を決定した。

10

#### 【0599】

**実施例15:** 非ホジキンリンパ腫の異種移植モデルにおける活性化可能抗CD71-AADCインビボ有効性

本実施例は、本開示のコンジュゲートされた毒素を有する抗ヒトCD71活性化可能抗体(AADC)が、非ホジキンリンパ腫(NHL)マウス異種移植モデルにおいて有効であることを示す。これらの有効性は、抗ヒトCD71抗体に特異的であり、親抗ヒトCD71薬物コンジュゲートによって実証された有効性に匹敵するか、または等価である。

#### 【0600】

図23Aは、マウスNHL (Raji)異種移植モデルにおけるさまざまな抗CD71活性化可能抗体薬物コンジュゲートの有効性を示し、ここで本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲート(CD71 TF02.18-2001-spdb-DM4, CD71 TF02.13-2001-spdb-DM4およびCD71 TF02.13.3001-spdb-DM4)は、アイソタイプ対照(パリビズマブ-spdb-DM4)よりも有意に高い有効性を示した。この図はまた、本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲートが、マスクされていない抗CD71抗体薬物コンジュゲート(CD71 21.12-spdb-DM4)に匹敵する有効性を実証したことも示している。この研究では、マウスにおける非ホジキンリンパ腫(NHL) Raji異種移植腫瘍を、150 mm<sup>3</sup>の平均体積まで成長させた。その後、マウスを無作為に8群に分け、1日目および8日目に5 mg/kgの表示された各試験物を投与した。各時点について平均腫瘍体積±SEMをプロットした。

20

30

#### 【0601】

図23Bは、マウスNHL (Raji)異種移植モデルにおけるさまざまな抗CD71活性化可能抗体薬物コンジュゲートの有効性を示し、ここで本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲート(CD71 TF02.18-2001-vc-MMAEおよびCD71 TF02.13-3001-vc-MMAE)は、アイソタイプ対照(パリビズマブ-vc-MMAE)よりも有意に高い有効性を示した。この図はまた、本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲートが、マスクされていない抗CD71抗体薬物コンジュゲート(CD71 21.12-vc-MMAE)に匹敵する有効性を実証したことも示している。この研究では、マウスにおける非ホジキンリンパ腫(NHL) Raji異種移植腫瘍を、150 mm<sup>3</sup>の平均体積まで成長させた。その後、マウスを無作為に8群に分け、1日目および8日目に3 mg/kgの表示された各試験物を投与した。各時点について平均腫瘍体積±SEMをプロットした。

40

#### 【0602】

**実施例16:** 非小細胞肺癌の異種移植モデルにおける活性化可能抗CD71-AADCインビボ有効性

本実施例は、本開示のコンジュゲートされた毒素を有する抗ヒトCD71活性化可能抗体(AADC)が非小細胞肺癌(NSCLC)マウス異種移植モデルにおいて、ある範囲の投与量にわたり有効であることを示す。これらの有効性は、抗ヒトCD71抗体に特異的であり、親抗ヒトCD71薬物コンジュゲートによって実証された有効性に匹敵するか、または等価である。

#### 【0603】

図24Aおよび24Bは、マウスNSCLC異種移植モデルにおける抗CD71活性化可能抗体薬物コンジュゲートの有効性を示し、ここで表示された投与量(5 mg/kg、3 mg/kgおよび1 mg/kg

50

)で本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲート(CD71 TF02.13-3001-spdb-DM4、CD71 TF02.13-2001-spdb-DM4、CD71 TF01-2001-PEG2-vc-MMAD)は、5 mg/kgの投与量で投与されたアイソタイプ対照(パリビズマブ-spdb-DM4またはパリビズマブ-PEG2-vc-MMAD)よりも有意に高い有効性を示した。この図はまた、本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲートが、5 mg/kgの投与量でマスクされていない抗CD71抗体薬物コンジュゲート(CD71 21.12-spdb-DM4またはCD71 21.12-PEG2-vc-MMAD)に匹敵する有効性を実証したことも示している。この研究では、マウスにおけるNSCLC H292異種移植腫瘍を、150 mm<sup>3</sup>の平均体積まで成長させた。その後、マウスを無作為に8群に分け、1日目および8日目に表示された量の表示された各試験物を投与した。各時点について平均腫瘍体積±SEMをプロットした。

【0604】

10

**実施例17: 膵臓腺癌の異種移植モデルにおける活性化可能抗CD71-AADCインビボ有効性**

本実施例は、本開示のコンジュゲートされた毒素を有する抗ヒトCD71活性化可能抗体(AADC)がBxPC3膵臓腺癌マウス異種移植モデルにおいて、ある範囲の投与量にわたり有効であることを示す。これらの有効性は、抗ヒトCD71抗体に特異的であり、親抗ヒトCD71薬物コンジュゲートによって実証された有効性に匹敵するか、もしくは等価であり、および/またはアイソタイプ対照ADCの有効性よりも高い。

【0605】

図25は、BxPC3マウス異種移植モデルにおけるさまざまな抗CD71活性化可能抗体薬物コンジュゲートの有効性を示し、ここで本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲート(CD71 TF02.13-2001-spdb-DM4、CD71 TF02.13-3001-spdb-DM4およびCD71 TF02.13-3001-vc-MMAE)はそれぞれ、表示された投与量でアイソタイプ対照(5 mg/kgのパリビズマブ-spdb-DM4および3 mg/kgのパリビズマブ-vc-MMAE)よりも有意に高い有効性を示した。この図はまた、本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲートが、マスクされていない抗CD71抗体薬物コンジュゲート(5 mg/kgのCD71 21.12-spdb-DM4および3 mg/kgのCD71 21.12-vc-MMAE)に匹敵する有効性を実証したことも示している。この研究では、マウスにおけるBxPC3異種移植腫瘍を、150 mm<sup>3</sup>の平均体積まで成長させた。その後、マウスを無作為に8群に分け、1日目に表示された量の表示された各試験物を投与した。各時点について平均腫瘍体積±SEMをプロットした。

20

【0606】

**実施例18: 非ホジキンリンパ腫の患者由来異種移植モデルにおける活性化可能抗CD71-AADCインビボ有効性**

30

本実施例は、本開示のコンジュゲートされた毒素を有する抗ヒトCD71活性化可能抗体(AADC)が、非ホジキンリンパ腫(NHL)患者由来異種移植モデルにおいて有効であること、およびこの有効性が親抗ヒトCD71抗体薬物コンジュゲート(ADC)で観察されたものと同等かまたはそれよりも良好であることを示す。

【0607】

図26Aおよび26Bは、非ホジキンリンパ腫(NHL)原発性腫瘍の患者由来異種移植マウスモデルを用いて、本開示の活性化可能抗huCD71-AADC (CD71 TF02.13-3001-spdb-DM4およびCD71 TF02.13-3001-vc-MMAD)で処置したマウスが、本開示のその各抗huCD71-ADCのものと同様かまたはそれよりも高い経時的な有効性を示したことを示す。この研究では、2つの患者由来NHL異種移植片(LY2214およびLY0257とラベル表示、Crown Bioscience)を、spdb-DM4にコンジュゲートされたパリビズマブアイソタイプ-ADC対照(「アイソタイプ-spdb-DM4」)もしくはvc-MMADにコンジュゲートされたパリビズマブアイソタイプ-ADC対照(「アイソタイプ-vc-MMAD」); 本開示の抗体薬物コンジュゲート抗huCD71 21.12-spdb-DM4もしくは抗huCD71 21.12-vc-MMAD; または本開示の活性化可能抗体・抗hu CD71 TF02.13-3001-spdb-DM4および抗huCD71 TF02.13-3001-vc-MMADでそれぞれ処置した。各実施例では、腫瘍異種移植片を150 mm<sup>3</sup>の平均体積まで成長させた; その後、マウスを無作為に4群に分け、1日目および7日目に表示された投与量の表示された試験物を投与した。各時点について平均腫瘍体積±SEMをプロットする。

40

【0608】

50

**実施例19: 患者由来異種移植モデルにおける活性化可能抗CD71-AADCインビボ有効性**

本実施例は、本開示のコンジュゲートされた毒素を有する抗ヒトCD71活性化可能抗体(AADC)が、さまざまな患者由来異種移植モデルにおいて有効であること、およびこの有効性がアイソタイプ対照ADCのものよりも高いことを示す。

【0609】

図27Aは、肺腫瘍の患者由来異種移植マウスモデル(CTG-0166)を用いて、本開示の活性化可能抗hu CD71-AADC (CD71 TF02.13-3001-spdb-DM4)で処置したマウスが、その各アイソタイプ-ADC対照(spdb-DM4にコンジュゲートされた、chKTI, キメラヒトIgG1抗ダイズトリプシン阻害物質抗体, 「アイソタイプ-spdb-DM4」)のものよりも高い経時的な有効性を示したことを示す。図27Bは、子宮内膜腫瘍の患者由来異種移植マウスモデル(CTG-0774)を用いて、本開示の活性化可能抗hu CD71-AADC (CD71 TF02.13-3001-spdb-DM4)で処置したマウスが、その各アイソタイプ-ADC対照(spdb-DM4にコンジュゲートされたchKTI, 「アイソタイプ-spdb-DM4」)のものよりも高い経時的な有効性を示したことを示す。胆管腫瘍(胆管癌)の患者由来異種移植マウスモデル(CTG-1941)を用いた別の研究では、本開示の活性化可能抗hu CD71-AADC (CD71 TF02.13-3001-vc-MMAE)で処置したマウスは、アイソタイプ-ADC対照(spdb-DM4にコンジュゲートされた、chKTI, キメラヒトIgG1抗ダイズトリプシン阻害物質抗体)のものよりも高い経時的な有効性を示した。各実施例では、腫瘍異種移植片を150 mm<sup>3</sup>の平均体積まで成長させた; その後、マウスを無作為に4群に分け、1日目に表示された試験物の各々について表示された量を投与した。各時点について平均腫瘍体積±SEMをプロットする。

10

20

【0610】

**実施例20: CD71結合アッセイ法**

本実施例は、本開示の抗ヒトCD71活性化可能抗体が、本開示の親抗CD71抗体と比べて組み換えCD71タンパク質に対する結合親和性のシフトを実証したことを示す。

【0611】

図28に描かれた実施例によって示されるように、固相結合アッセイ法を用いて、本開示の抗ヒトCD71抗体の結合を実証した。これらの実施例では、1 µg/mLの濃度で銅またはニッケルめっきをしたELISAプレート上に組み換えヒトCD71タンパク質(R&D Systems)をコーティングし、次いで表示された濃度の抗CD71抗体(「CD71 21.12」)または活性化可能抗CD71抗体(「CD71.TF01-2001」、「CD71.TF02-2001」、「CD71.TF02.13-2001」もしくは「CD71.TF02.18-2001」)とともにインキュベートし、ここで活性化可能抗体をその非切断形態としてアッセイした。結合した抗体の量を、西洋ワサビペルオキシダーゼにコンジュゲートされたヤギ抗ヒト抗体によるインキュベーションおよび検出ならびにUltra TMB (Thermo Fisher Scientific)検出によって検出した。

30

【0612】

図28に描かれるように、例示的アッセイ法によって抗ヒトCD71 21.12抗体がおよそ0.14 nMのKdで結合することが実証された。活性化可能抗CD71抗体の結合定数は、その各マスキング効率の結果として右方にシフトされる。

【0613】

(表16) 活性化可能抗CD71抗体の例示的な観察されたCD71結合活性

40

抗体	Kd (nM) 1 µg/mL CD71抗原	ME*
CD71 21.12	0.14	-
CD71 TF01-2001	69.99	500
CD71 TF02-2001	21.45	153
CD71 TF02.13-2001	9.14	65
CD71 TF02.18-2001	1.59	11

10

\* ME=マスキング効率

## 【0614】

## 実施例21: 正常ヒトおよびカニクイザル組織におけるCD71発現

本実施例は、CD71が、抗CD71抗体を用いた免疫組織化学(IHC)染色によって、多種多様の正常ヒトおよびカニクイザル組織において発現されることを示す。

## 【0615】

表17は、商業的に購入された抗CD71抗体(ウサギ抗CD71 mAb IgG; D7G9X, Cell Signaling Tech.)によるIHC染色を用いて、CD71がある特定の正常ヒトおよびカニクイザル組織サンプルにおいて発現されることを示す。表17は、種々のホルマリン固定パラフィン包埋正常ヒトおよびカニクイザル組織のCD71のIHC染色の相対的レベルの要約を示し、ここで各プラス記号(「+」)はより高いレベルの染色に対応し、各マイナス記号(「-」)。

20

## 【0616】

(表17) FFPE正常組織におけるCD71発現のIHCアッセイ法

組織の種類	カニクイザル	ヒト
骨	+	++
乳房	-	-
脳	+	+
結腸	-	-
食道	-	-
心臓	-	-
腎臓	+	- / +
肝臓	-	-
肺	-	++ (少数の細胞で)
神経	+++	++
卵巣	+	+
脾臓	-	-
前立腺	-	-
皮膚	N/A	- / +
小腸	+	-
脾臓	-	-
胃	- / +	+
横紋/骨格筋	-	-
精巣	-	+
子宮	-	- / +

30

40

## 【0617】

## 実施例22: 複数の原発性および転移性腫瘍におけるCD71発現

本実施例は、CD71が、抗CD71抗体を用いた免疫組織化学(IHC)染色によって、多数かつ多種多様の患者由来腫瘍において発現されることを示す。

## 【0618】

50

表18は、複数の患者由来腫瘍組織マイクロアレイ (TMA) に対して商業的に購入された抗CD71抗体によるIHC染色を用い、多数かつ多種多様の患者由来腫瘍サンプルにおいてCD71が中程度または高度に発現されることを示す。表18は、複数の患者由来サンプルに由来する多数のコアが強力なCD71シグナルを示したことを示すTMAのCD71のIHC染色レベルの要約を示す。各種がんが続く括弧内の数字は、個々の患者由来サンプルの数を示す。

【 0 6 1 9 】

(表 1 8) 患者由来がんにおけるCD71発現のIHCアッセイ法

がんの種類 (サンプルの総数)	以下のIHCスコアを有するサンプル(%)			
	0	1	2/3	
大腸癌 (228)	1 (0.4)	20 (8.8)	207 (90.8)	10
膵臓癌 (1060)	0 (0)	26 (24.5)	90 (75.5)	
小細胞肺癌 (8)	2 (25)	4 (50)	2 (25)	
非小細胞肺癌 (42)	2 (3.2)	26 (41.9)	34 (54.8)	
卵巣癌 (53)	3 (7.1)	19 (45.2)	20 (47.6)	20
頭頸部扁平上皮癌 (53)	3 (5.7)	20 (38)	30 (57)	
乳癌 (41)	1 (2.4)	15 (36.6)	57 (61.0)	
胃癌 (17)	0 (0)	6 (35.3)	11 (64.7)	
食道癌 (14)	0 (0)	7 (50)	7 (50)	

【 0 6 2 0 】

30

#### 実施例23: CD71 Fab結合アッセイ法

本実施例は、本開示の抗ヒトCD71抗体に由来する本開示の抗ヒトCD71抗原結合断片 (Fab) が、組み換えヒトおよびカニクイザルCD71タンパク質に対する結合親和性を実証したことを示す。

【 0 6 2 1 】

抗CD71 Fab断片を作製するための既知のプロトコルにしたがってパパイン酵素での本開示の抗CD71 21.12抗体の消化により、Fab抗原結合断片を作製した。本開示の抗CD71 Fab断片を、基材に固定化された組み換えCD71タンパク質 (Octet system, ForteBio) に対する1:3希釈系列のFab断片の動力学的オン速度およびオフ速度の測定により、組み換えヒトまたはカニクイザルCD71タンパク質に対する結合についてアッセイした。組み換えCD71タンパク質は、ヘキサ-ヒスチジン (His<sub>6</sub>) ペプチドタグを含んでいたが、これによってそのタンパク質がNi-NTA (ニトリロ三酢酸) 含有基材に固定された。この結果を表19に示す。

【 0 6 2 2 】

(表 1 9) ヒトおよびカニクイザルCD71への抗CD71 Fabの結合動態

標的	$k_{on}$ (1/Msec)	$k_{dis}$ (sec <sup>-1</sup> )	$K_d$ (nM)
ヒトCD71-His <sub>6</sub>	$6.64 \times 10^5$	$3.98 \times 10^{-3}$	14
カニクイザルCD71-His <sub>6</sub>	$3.90 \times 10^5$	$5.59 \times 10^{-3}$	6

【 0 6 2 3 】

50

**実施例24：ADC処置後のカニクイザルの組織病理**

本実施例は、本開示の抗ヒトCD71抗体薬物コンジュゲート(ADC)で処置したカニクイザルがADCの毒性の結果として組織病理学的異常を実証した研究について記述する。

**【0624】**

2頭の雄性カニクイザルに、5 mg/kgまたは7.5 mg/kgのいずれかの投与量の本開示のADC (CD71 21.12-spdb-DM4)の単回静脈内投与をそれぞれ与えた。7.5 mg/kgの用量を与えられた検体を、その後、瀕死状態のために研究の11日目に安楽死させ、その組織を検査した。限られた組織選択の光学顕微鏡検査により、顕著な、相互に関連した腸病変(例えば、結腸、十二指腸および空腸における潰瘍形成、炎症、出血、細菌の過増殖および/またはフィブリノ壊死性滲出物)が明らかにされた。検体はまた、肺出血、壊死、炎症および細菌を示し、二次性菌血症を示唆した。舌における潰瘍形成および細菌も観察された。顕著な脾臓リンパ過形成も認められた。

10

**【0625】**

検体の瀕死状態は、例えば、劇症および広範囲の腸病変ならびに二次全身性病変(例えば、肺中)に起因しうる。腸および全身の病変の発症は、例えば、観察された著しい大腿骨髄の骨髄枯渇および/または臨床的に観察された好中球減少に起因しうる。

**【0626】****実施例25：H292、HCC1806およびMDA MB 231細胞株でのCD71発現**

本実施例は、本開示の抗ヒトCD71活性化可能抗体および本開示の抗ヒトCD71活性化可能抗体薬物コンジュゲートが、マスクされていない本開示の抗ヒトCD71抗体のものよりも高い解離定数で複数の細胞株でのCD71に結合することを示し、したがって活性化前の結合を低減させるうえでのマスクの効果を示す。

20

**【0627】**

図29A、29Bおよび29Cは、細胞株MDA MB 231 (図29A)、H292 (図29B)およびHCC1806 (図29C)への本開示の抗CD71活性化可能抗体、活性化可能抗体薬物コンジュゲートおよび親抗体の結合の量を示す。本研究において、標準的なFACS標識法を用いて、表示された細胞株への本開示の抗体の結合を行った。簡潔には、細胞を表示された本開示の抗体または活性化可能抗体：アイソタイプ対照(パリビズマブ)、ヒトCD71抗体(抗ヒトCD71 Ab 21.12抗体)、抗ヒトCD71活性化可能抗体(抗ヒトCD71 TF02.13-2001または抗ヒトCD71 TF02.13-3001)で標識した。さらに、細胞をまた、表示された濃度のアイソタイプADC対照(パリビズマブ-vc-MMAE)、本開示の抗ヒトCD71抗体薬物コンジュゲート(ADC) (CD71 Ab21.12-PEG2-vc-MMAD、CD71 Ab 21.12-vc-MMAEもしくはCD71 Ab 21.12-spdb-DM4)、または本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲート(AADC)：CD71 TF02.13-3001-PEG2-vc-MMAD、CD71 TF02.13-3001-vc-MMAE、CD71 TF02.13-2001-spdb-DM4もしくはCD71 TF02.13-3001-spdb-DM4)で標識し、引き続きAlexa Fluor 647標識ヤギ抗ヒトIgG二次抗体で検出した。

30

**【0628】**

以下の表20は、図29A～29Cに描かれた結合曲線に基づく平衡解離定数および最大結合量(Bmax)値を示す。これらの結果により、抗ヒトCD71 Ab 21.12抗体は全ての細胞株に類似のKdで結合したが、一方、細胞株に対する本開示の抗ヒトCD71活性化可能抗体および活性化可能抗体薬物コンジュゲートの結合は、本開示の活性化可能抗体におけるマスキング部分のマスキング効率を示す、有意に高いKdを示したことが示された。

40

**【0629】**

(表20) 抗CD71バインダーの例示的な観察されたCD71結合活性

物質	MDA MB231 Kd (nM)	H292 Kd (nM)	H292 最大結合量 (MFI)	HCC1806 Kd (nM)	
Ab 21.12	1.032	1.533	1824	5.0	
Ab 21.12- PEG2-vc- MMAD	1.471	-	-	-	
Ab 21.12- vc-MMAE	-	1.328	1597	6.4	
Ab 21.12- spdb-DM4	1.238	-	-	-	10
TF02.13- 2001	-	92.32	2208	~200	
TF02.13- 2001- PEG2-vc- MMAD	-	-	-	-	
TF02.13- 2001-vc- MMAE	-	-	-	-	
TF02.13- 2001-spdb- DM4	-	-	-	~200	20
TF02.13- 3001	30.60	52.12	1821	~200	
TF02.13- 3001- PEG2-vc- MMAD	52.58	-	-	-	
TF02.13- 3001-vc- MMAE	-	53.78	1848	-	
TF02.13- 3001-spdb- DM4	46.92	-	-	~200	30
アイソタイプ	-	-	-	-	
アイソタイプ-vc- MMAE	-	57.05	10.64	-	
【 0 6 3 0 】					

#### 実施例26： 改変された基質による抗CD71活性化可能抗体の結合

本実施例は、本開示の抗ヒトCD71活性化可能抗体が、マスクされていない本開示の抗ヒトCD71抗体のものよりも高い解離定数で細胞株およびインビトロでのCD71に結合することを示し、したがって活性化前の結合を低減させるうえでのマスクの効果を示す。

#### 【 0 6 3 1 】

図30Aおよび30Bは、H292細胞株への本開示の抗CD71活性化可能抗体および親抗体の結合の量を示す。本研究において、標準的なFACS標識法を用いて、表示された細胞株への本開示の抗体の結合を行った。簡潔には、細胞を表示された本開示の抗体または活性化可能抗体：アイソタイプ対照(パリビズマブ)、ヒトCD71抗体(抗ヒトCD71 Ab 21.12)、抗ヒトCD71活性化可能抗体(抗ヒトCD71 TF02.13-3001、TF02.13-3007、TF02.13-3008、TF02.13-3011、TF02.13-3012、TF02.13-3013、TF02.13-2001、TF02.13-2007、TF02.13-2008、TF02.13-2011、TF02.13-2012、TF02.13-2013)で標識し、ここで活性化可能抗体をその非切断形態としてアッセイした。これらの活性化可能抗体には、上記の表Cに列挙した対応する命名配列の軽鎖が含まれる。細胞を表示された濃度の表示された試験物で標識し、引き続きAlexa Fluor 647標識ヤギ抗ヒトIgG二次抗体で検出した。

10

20

30

40

50

## 【 0 6 3 2 】

図30Cおよび30Cは、固相ELISA結合アッセイ法におけるヒトCD71への本開示の抗CD71活性化可能抗体および親抗体の結合の量を示す。これらの実施例では、1  $\mu$ g/mLの濃度で銅またはニッケルめっきをしたELISAプレート上に組み換えヒトCD71タンパク質(R&D Systems)をコーティングし、次いで表示された濃度の抗CD71抗体(抗ヒトCD71 Ab 21.12)または活性化可能抗CD71抗体(抗ヒトCD71 TF02.13-3001、TF02.13-3007、TF02.13-3008、TF02.13-3011、TF02.13-3013、TF02.13-2001、TF02.13-2007、TF02.13-2008、TF02.13-2011、TF02.13-2012、TF02.13-2013)とともにインキュベートし、ここで活性化可能抗体をその非切断形態としてアッセイした。結合した抗体の量を、西洋ワサビペルオキシダーゼにコンジュゲートされたヤギ抗ヒト抗体によるインキュベーションおよび検出ならびにUltra TM B (Thermo Fisher Scientific)検出によって検出した。

10

## 【 0 6 3 3 】

以下の表21は、図30A～30Dに描かれた結合曲線に基づく平衡解離定数を示す。これらの結果は、抗ヒトCD71活性化可能抗体および活性化可能抗体薬物コンジュゲートが、親抗CD71抗体のものよりも有意に低い親和性で細胞株におよび固相結合CD71に結合し、このことからマスキング部分のマスキング効率が示唆されることを示す。

## 【 0 6 3 4 】

(表 2 1) 抗CD71バインダーの例示的な観察されたCD71結合活性

物質	H292 Kd (nM)	ELISA Kd (nM)
Ab 21.12	0.4412	0.2553 0.1624
アイソタイプ	~22544	-
TF02.13-3001	10.17	0.8132
TF02.13-3007	86.66	2.210
TF02.13-3008	97.79	2.613
TF02.13-3011	67.36	0.7778
TF02.13-3013	78.27	4.912
TF02.13-2001	27.50	2.529
TF02.13-2007	70.27	-
TF02.13-2008	89.99	15.12
TF02.13-2011	57.15	4.274
TF02.13-2012	39.15	1.636
TF02.13-2013	70.27	3.248

20

30

40

## 【 0 6 3 5 】

実施例27: 皮膚および肺癌由来細胞株に対する抗CD71-AADCおよびADC細胞傷害性

本実施例は、本開示の抗ヒトCD71抗体薬物コンジュゲート(ADC)および活性化可能抗体薬物コンジュゲート(AADC)が、アイソタイプ-ADC対照と比較して肺腺癌および皮膚扁平上皮細胞癌由来細胞株に対していっそう高い細胞傷害性を実証することを示す。

## 【 0 6 3 6 】

図31A～31Jは、PEG2-vc-MMADまたはvc-MMAEのいずれかにコンジュゲートされた本開示の活性化可能抗体薬物コンジュゲート(AADC)が、対応するコンジュゲートされた親抗CD71

50

抗体薬物コンジュゲートのものよりも種々のがん由来細胞株に対して低い細胞傷害性を示したことを示す。ADCまたはAADCで処理されたがん由来細胞株は、皮膚扁平上皮細胞癌(A431, 図31Aおよび31B)、肺腺癌(A549, 図31Cおよび31D)、下咽頭癌(FaDu, 図31Eおよび31F)、非小細胞肺癌(NCI-H292, 図31Gおよび31H)ならびに膵臓腺癌(BxPC3, 図31Iおよび31J)に由来していた。

【0637】

抗ヒトCD71 ADCは、細胞株に対して互いに同様の細胞傷害性の有効性を実証した。抗ヒトCD71 AADCは、親抗CD71 ADCよりも低い有効性を実証したが、これはマスキング部分のマスキング効果に起因しうる。この研究では、本開示のさまざまな抗ヒトCD71 ADCまたはAADC (表示された薬物にコンジュゲートされたTF02.13-3001またはTF02.18-2001)およびアイソタイプ薬物コンジュゲートを、表示された濃度で細胞に適用した。対照として用いられた未処理細胞の集団に対するパーセンテージとして細胞傷害性を決定した。

10

【0638】

実施例28: さまざまながん由来細胞株に対する抗CD71 ADC細胞傷害性

本実施例は、本開示の抗ヒトCD71抗体薬物コンジュゲート(ADC)が、種々のがん由来細胞株に対して有意な細胞傷害性を実証することを示す。

【0639】

表23は、vc-MMAEにコンジュゲートされた本開示の抗CD71抗体薬物コンジュゲート(ADC)の観察されたEC50を示す。この研究では、本開示の抗ヒトCD71 Ab 21-12-vc-MMAEを、表示された細胞にある範囲の濃度にわたって適用した。対照として用いられた未処理細胞の集団に対するパーセンテージとして細胞傷害性を決定し、観察された細胞傷害性曲線に基づいてEC50を計算した。

20

【0640】

(表23) 抗CD71-vc-MMAEの細胞傷害性EC50

起源とするがん	細胞株	EC50 (nM)
膵臓癌	Miapaca2	0.2
	HPAF 2	0.2
	BxPC3	0.37
大腸癌	SW480	0.11
	SW1417	0.17
	HT29	0.18
	Ls411N	0.2
	SW48	0.2
	Ls174T	0.23
	Lovo	0.27
	HCT-116	0.54
	DLD1	1.76
	Fadu	0.40
	A253	0.83
頭頸部小細胞癌	SCC9	0.69
	KYSE 70	0.6
	SCC1	0.51
	KYSE 150	0.47
	SAS	0.33
	BHY	0.25
	SCC25	0.24
	A431	0.22
	NCI H292	0.3
	Detroit 562	0.3
肺癌	A549	0.49
	NCI H2141	0.5
	NCI-H69	0.57
	NCI H526	0.7
	HS766T	1.02
	NCI H727	1.29
	NCI H889	1.3
非ホジキンリンパ腫	Ramos	0.2
	Raji	0.3
卵巣癌	OVCAR3	0.20
	ET201	0.49
乳癌	HCC1806	0.2
	MDA MB231	1.1

10

20

30

## 【 0 6 4 1 】

## 実施例29：小細胞肺癌細胞株でのCD71発現

本実施例は、本開示のCD71抗体および抗体薬物コンジュゲートが、アイソタイプ対照またはアイソタイプ対照-ADCの結合の欠如によって示されるように、本質的に同等かつ特異的に複数の小肺癌細胞株(SCLC)上のCD71に結合することを示す。

40

## 【 0 6 4 2 】

図32Aおよび32Bならびに表24は、SCLC細胞株DMS 79およびDMS 153への本開示の抗CD71抗体およびADCの結合の量を示す。本研究において、標準的なFACS標識法を用いて、表示された細胞株への本開示の抗体およびADCの結合を行った。簡潔には、細胞を、表示された本開示の抗体：抗ヒトCD71抗体(抗ヒトCD71 Ab21.12)もしくはデュオカルマイシンにコンジュゲートされた抗ヒトCD71抗体(抗ヒトCD71 Ab21.12-Duoc)または対応するアイソタイプ対照(パリビズマブ(pavilizumab))により表示された濃度で標識し、引き続きAlexa Fluor 647標識ヤギ抗ヒトIgG二次抗体により検出した。以下の表24は、観察された結合曲

50

線に基づく平衡解離定数を示す。これらの結果は、抗ヒトCD71 21.12抗体(CD71-Ab)およびその対応するADCが本質的に同等の親和性で結合したことを示す。

【0643】

(表24) 活性化可能抗CD71の例示的な観察されたCD71結合活性

試験物	DMS 79 Kd (nM)	DMS 153 Kd (nM)
Ab 21.12	0.8983	4.471
Ab 21-12- デュオカルマイシン	1.087	2.298

【0644】

実施例30: 抗CD71抗体の抗増殖効果

本実施例は、がん細胞株のCD71に結合する本開示の抗ヒトCD71抗体がアイソタイプ対照と比較して抗増殖効果を実証することを示す。

【0645】

図33Aおよび33Bは、アイソタイプ対照と比較して、H292およびHCC1806細胞株への本開示の抗CD71 Ab 21.12抗体の適用による細胞増殖の阻害を示す。本研究において、表示された細胞を、96ウェルプレート中に1ウェルあたり細胞1000個の密度でプレーティングし、終夜接着させた。表示された濃度の2倍の同量の試験物を加え、プレートを5日間インキュベートさせた。その後、Cell Titer Glo試薬(Promega)を用いて生存率を測定し、対照として用いられた未処理細胞の集団に対するパーセンテージとして増殖阻害を決定した。この結果から、本開示の抗CD71抗体が有意な増殖阻害を示したことが示唆される(H292細胞ではおよそ4 nM、およびHCC1806細胞ではおよそ10 nMのEC50)。

【0646】

実施例31: 複数の転移性がんサンプルにおけるCD71発現

本実施例は、CD71が、抗CD71抗体を用いた免疫組織化学(IHC)染色によって、多数かつ多種多様の患者由来転移性腫瘍において発現されることを示す。

【0647】

図34は、複数の患者由来腫瘍組織マイクロアレイ(TMA)に対して商業的に購入された抗CD71抗体によるIHC染色を用い、多数かつ多種多様の患者由来の転移性腫瘍サンプルにおいてCD71が中程度または高度に発現されることを示す。図34は、TMAのCD71のIHC染色のレベルの要約を示し、複数の患者由来の転移性サンプルに由来する多数のコアが強いCD71シグナルを示したことを示す。

【0648】

実施例32: マウス膵臓癌異種移植モデルにおける活性化可能抗CD71抗体のインビボ画像化

本実施例は、本開示の活性化可能抗CD71抗体が、腫瘍関連プロテアーゼ依存性インビボ活性化および膵臓癌マウス異種移植モデルにおいて発現されるCD71に対する結合をインビボ蛍光イメージングにより実証することを示す。

【0649】

図35は、本開示の蛍光的にコンジュゲートされた抗CD71抗体および活性化可能抗CD71抗体を用いた膵臓腫瘍異種移植片(BxPC3細胞)を有する生存マウスのインビボ画像化を示す。本研究では、7~8週齢のnu/nu雌性マウスの右後横腹にヒト膵臓癌由来細胞株BxPC3細胞 $5 \times 10^6$ 個を皮下移植した。腫瘍が300~380 mm<sup>3</sup>に成長した後、本開示の抗CD71抗体Ab 21.12(「抗CD71」)、本開示の活性化可能抗CD71抗体(「CD71 TF02.13-2012」)、またはCMドメインを欠く本開示のマスクされた抗CD71抗体(「CD71 TF02.13-NSUB」)を、1 mg/kgの用量でマウスの各々に投与した。投与された抗体は、蛍光標識AlexFluor 750へのコンジュゲーションによって標識された。745 nmの励起シグナルを使用し、800 nmの放出シグナルを検出して、抗体の投与から96時間後にマウスをインビボ蛍光イメージングに供した。スケールは、検出された蛍光シグナルの相対的な大きさを示す。

【0650】

この例示的な研究の結果から、本開示の標識されたマスクされていない抗CD71抗体およ

10

20

30

40

50

び本開示の標識された活性化可能抗CD71抗体からの蛍光シグナルが異種移植片に蓄積したことが示された。対照的に、相応してマスクされた抗CD71抗体であるが、しかしプロテアーゼ切断部位(CM)を欠いたものは、その腫瘍異種移植部位に検出可能に蓄積しなかった。任意の特定の理論によって束縛されるわけではないが、この例示的な研究は、本開示の活性化可能抗CD71抗体が、腫瘍関連プロテアーゼ切断を介してインビボで活性化され、したがって活性化された活性化可能抗CD71抗体が、本開示のマスクされていない抗CD71抗体に匹敵する程度まで異種移植腫瘍におけるCD71に結合することを可能にしていることを実証した。本開示のプロテアーゼ切断ドメイン(CM)を欠くマスクされた抗CD71抗体は、同様に活性化できず、したがって、腫瘍異種移植片に感知できるほどには結合しなかった。

【0651】

**実施例33:** マウス乳癌転移モデルにおける活性化可能抗CD71抗体のインビボ画像化

本実施例は、本開示の活性化可能抗CD71抗体が、腫瘍関連プロテアーゼ依存性インビボ活性化およびマウス乳癌転移モデルにおいて発現されるCD71に対する結合をインビボ画像化により実証することを示す。

【0652】

図36は、本開示の蛍光的にコンジュゲートされた抗CD71抗体および活性化可能抗CD71抗体を用い、がん細胞がまた、生物発光シグナルを発現する、ヒト由来乳癌転移性がんモデルでの生存マウスのインビボ画像化を示す。本研究では、7~8週齢のnu/nu雌性マウスの左心室に、生物発光酵素ルシフェラーゼを発現するヒト乳癌由来細胞株であるMDA-MB-231-luc2-D3LN細胞 $5 \times 10^5$ 個を注入した。(インビボ画像化を介して生物発光シグナルを検出することにより決定された)検出可能ながん細胞を有するマウスに、アイソタイプ対照抗体パリビズマブ(「アイソタイプ」)、本開示の抗CD71抗体Ab21.12(「抗CD71」)、または本開示の活性化可能抗体(「CD71 TF02.13-3001」)の5 mg/kgの静脈内注射を受けさせた。投与された抗体は、蛍光標識AlexFluor 750へのコンジュゲーションによって標識された。745 nmの励起シグナルを使用し、800 nmの放出シグナルを検出して、抗体の投与から48時間後にマウスをインビボ蛍光イメージングに供した。抗体の蛍光イメージングに続いて、マウスに3 mgのルシフェリンを腹腔内注射し、次いで、励起ブロックおよび開放放出による注射から10分後のインビボ生物発光イメージングに供した。

【0653】

この例示的な研究の結果から、本開示の標識されたマスクされていない抗CD71抗体および本開示の標識された活性化可能抗CD71抗体からの蛍光シグナルが、重複する生物発光および蛍光シグナルによって決定されるように、腫瘍位置と同じ位置に蓄積したことが示された。対照的に、相応して標識されたアイソタイプ対照抗体は、任意の腫瘍部位にまたはその近傍に検出可能に蓄積しなかった。任意の特定の理論によって束縛されるわけではないが、この例示的な研究は、本開示の活性化可能抗CD71抗体が、腫瘍関連プロテアーゼ切断を介してインビボで活性化され、したがって活性化された活性化可能抗CD71抗体が、本開示のマスクされていない抗CD71抗体に匹敵する程度まで転移性腫瘍モデルにおけるCD71に結合することを可能にしていることを実証した。

【0654】

**実施例34:** 活性化可能抗CD71抗体のインサイチュー画像化

本実施例は、本開示の活性化可能抗CD71抗体が免疫組織化学(IHC)染色により、非小細胞肺癌(NSCLC)マウス異種移植モデルにおいて発現されるCD71に対しての腫瘍依存的インサイチュー活性化および結合を実証することを示す。

【0655】

図37は、本開示の抗CD71抗体および活性化可能抗CD71抗体を用いたH292 NSCLC異種移植腫瘍の組織切片のIHC染色アッセイ法を示す。この研究では、H292異種移植腫瘍由来の組織切片を、広域プロテアーゼ阻害物質カクテル(15分の1希釈およびTris緩衝液中20 mM EDTAでのProtease Inhibitor Cocktail Set III, EDTA-Free (カタログ番号539134, EMD Millipore)の存在下(+BSPI)または非存在下(-BSPI)のいずれかにおいてブレインキュベートした。次いで、組織切片を本開示の抗CD71 antibody Ab 21.12(「抗CD71」)または本開

10

20

30

40

50

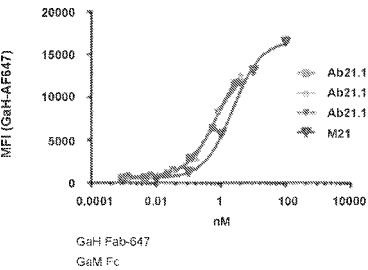
示の活性化可能抗CD71抗体(「CD71 TF02.13-3001」、「CD71 TF02.13-2001」もしくは「CD71 TF02.13-2012」)のいずれかとともに室温で2時間インキュベートした。未結合材料を除去するための十分な洗浄の後、AlexaFluor 647で標識されたロバ抗ヒトIgG二次抗体(カタログ番号709-605-149, Jackson ImmunoResearch)により結合した本開示の抗CD71抗体または活性化抗CD71抗体の存在を検出した。任意の特定の理論によって束縛されるわけではないが、この例示的な研究は、本開示の活性化可能抗CD71抗体が、異種移植組織切片においてCD71に対してのインサイチュー活性化および結合を実証し、これは広域のプロテアーゼ阻害物質との組織のプレインキュベーションによって阻害されたことを示す。本開示のマスクされていない抗CD71抗体は、プロテアーゼ阻害物質プレインキュベーションの有無に関係なく、異種移植組織切片におけるCD71に対してのインサイチュー結合を実証した。

【 0 6 5 6 】

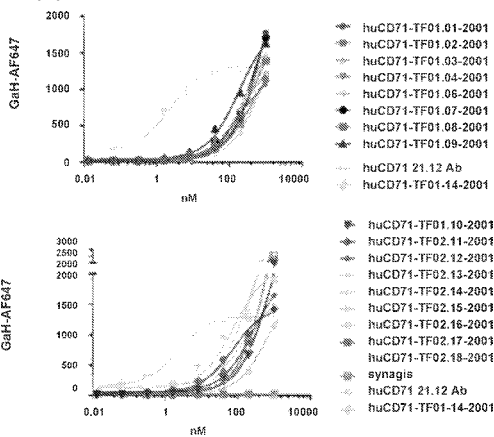
他の態様

本発明をその詳細な説明とともに説明してきたが、前述の説明は例示することを意図するものであり、添付の特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲を限定するものではないことが意図される。他の局面、利点および修正は、以下の範囲内にある。

【 図 1 】



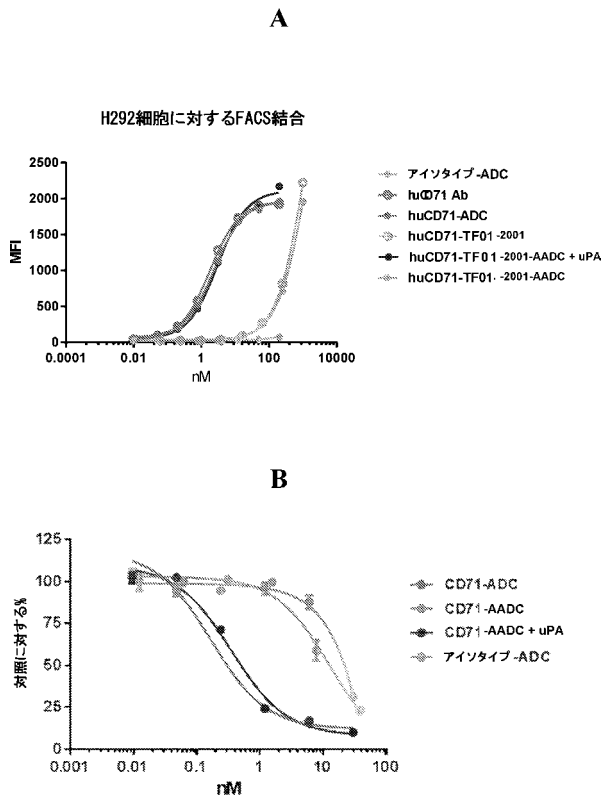
【 図 2 - 1 】



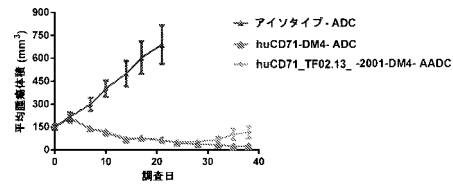
【 図 2 - 2 】

活性化可能抗体	K <sub>app</sub>	マスキング倍率
huCD71 TF01.01-2001	994.7	432
huCD71 TF01.02-2001	420.5	183
huCD71 TF01.03-2001	320.9	140
huCD71 TF01.04-2001	198.7	86
huCD71 TF01.06-2001	245.4	107
huCD71 TF01.07-2001	545.3	237
huCD71 TF01.08-2001	458.8	199
huCD71 TF02.09-2001	183.3	80
huCD71 TF02.10-2001	974.3	424
huCD71 TF02.11-2001	74.5	32
huCD71 TF02.12-2001	265.6	115
huCD71 TF02.13-2001	127.4	55
huCD71 TF02.14-2001	227.2	99
huCD71 TF02.15-2001	654.8	285
huCD71 TF02.16-2001	79.93	35
huCD71 TF02.17-2001	885.5	385
huCD71 TF02.18-2001	32.04	14
huCD71 TF01-2001	809.5	352
huCD71 21.12 Ab	2.288	1

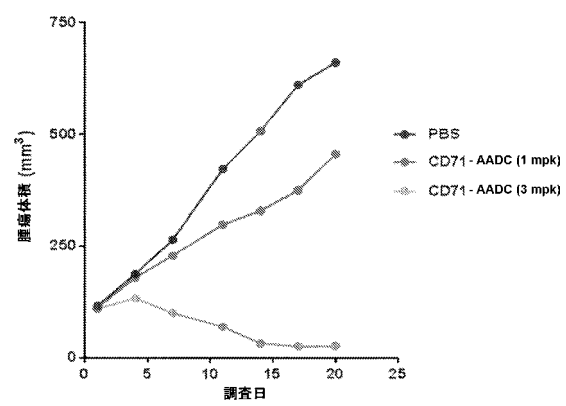
【図 3】



【図 4】

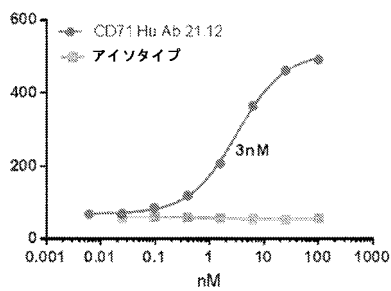


【図 5】



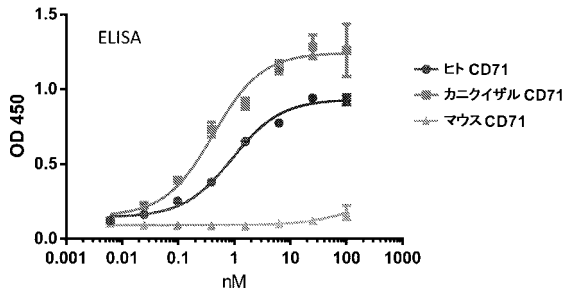
【図 6 A】

カニクイザル初代腎臓上皮細胞



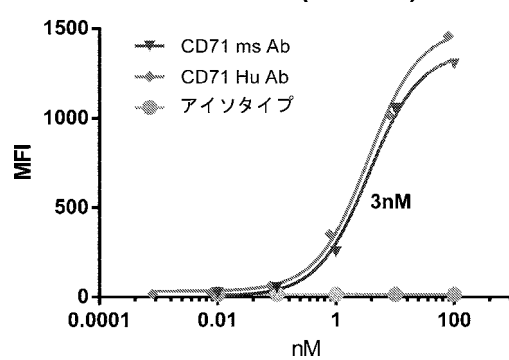
【図 6 B】

ELISA



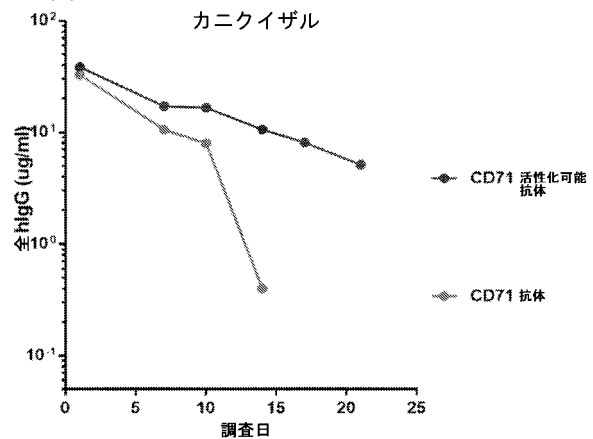
【図 6 C】

BxPC3 (ヒト細胞株)



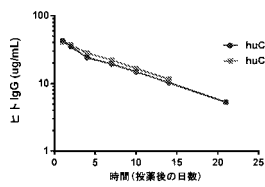
【図 7】

カニクイザル

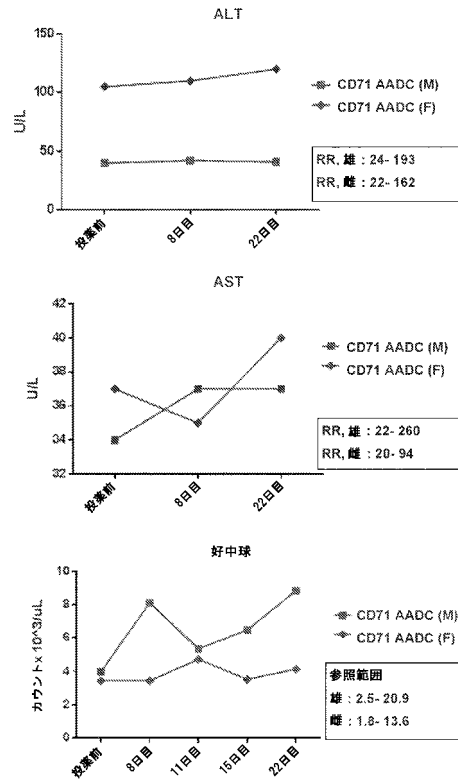


【 図 8 】

カニクイザルにおける抗CD71 Probody PK

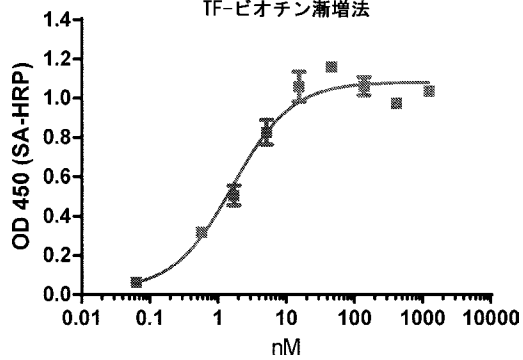


【 図 9 】

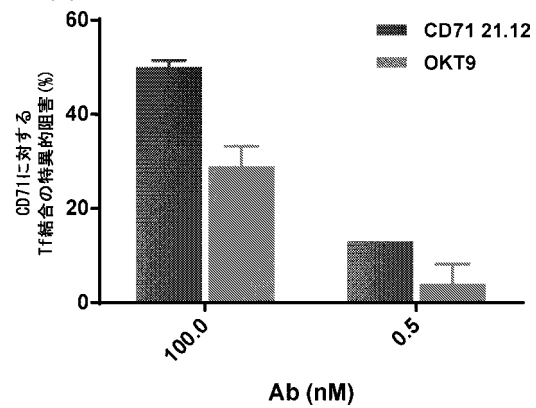


【 図 10 】

TF-ビオチン漸増法

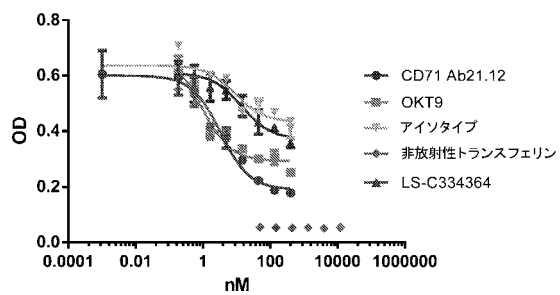


【 図 11 B 】

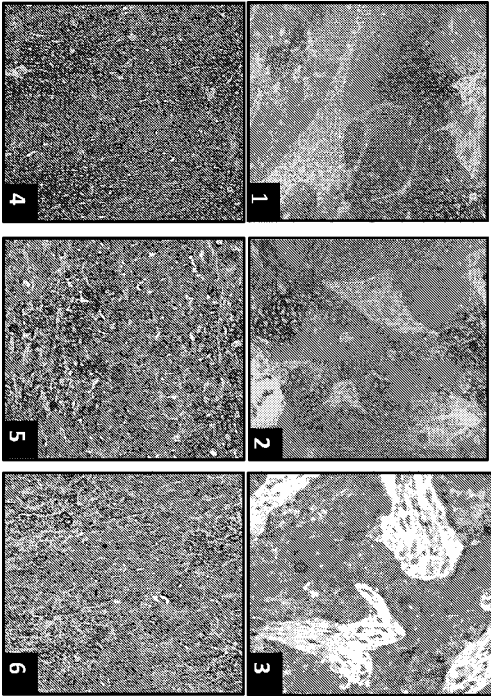


【 図 11 A 】

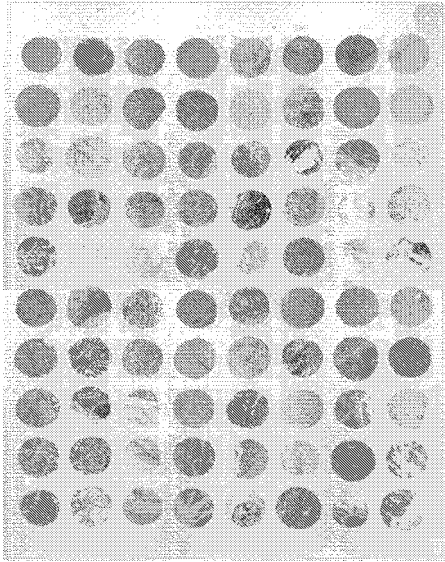
0.6 nM Tf結合の競合



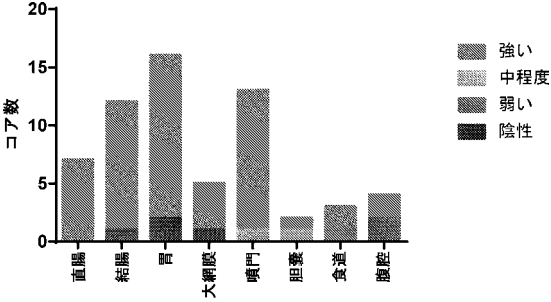
【図 1 2 A】



【図 1 2 B】



【図 1 2 C】



【図 1 3 A】

ハリビズマブ-spdb-DM4, 5 mg/kg  
CD71 21.12-spdb-DM4, 5 mg/kg  
CD71 TF02.18-2001-spdb-DM4, 5 mg/kg  
CD71 TF02.13-2001-spdb-DM4, 5 mg/kg  
CD71 TF02.13-3001-spdb-DM4, 5 mg/kg



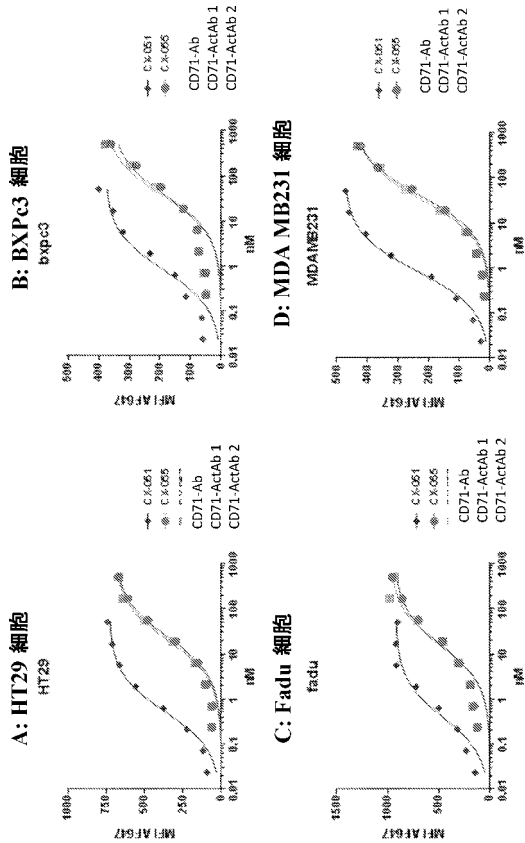
【図 1 3 B】

ハリビズマブ-vc-MMAE, 3 mg/kg  
CD71 21.12-vc-MMAE, 3 mg/kg  
CD71 TF02.18-2001-vc-MMAE, 3 mg/kg  
CD71 TF02.13-3001-vc-MMAE, 3 mg/kg

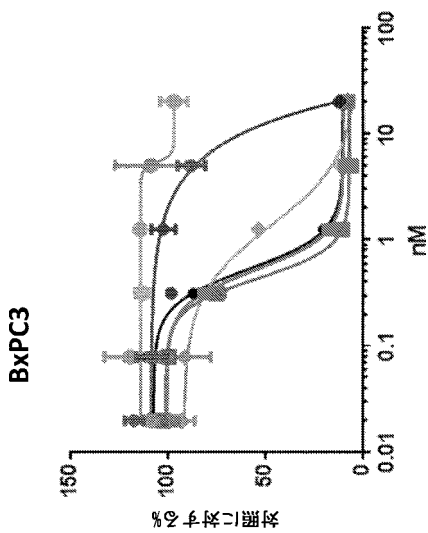




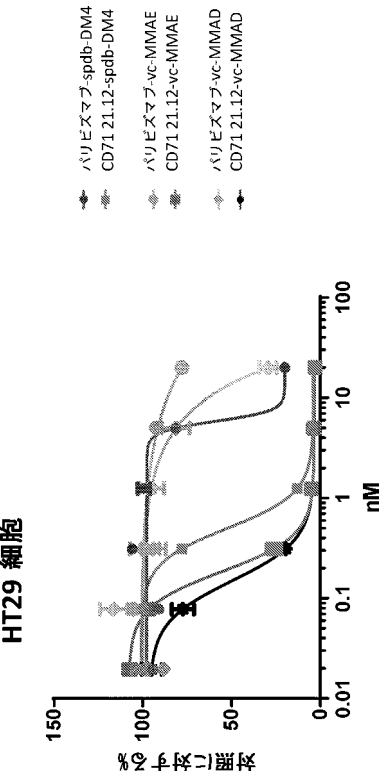
【図 16】



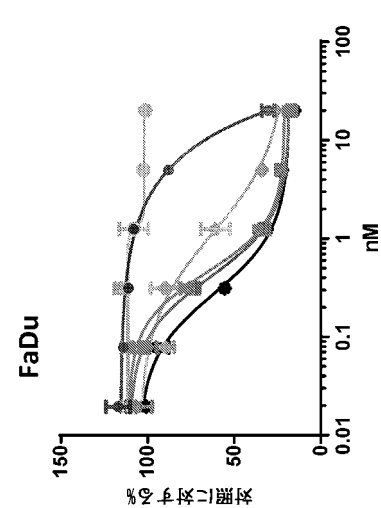
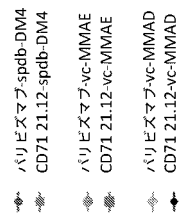
【図 17 B】



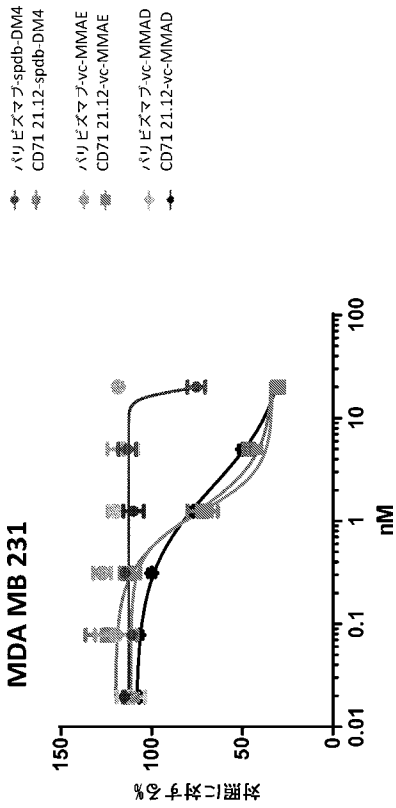
【図 17 A】



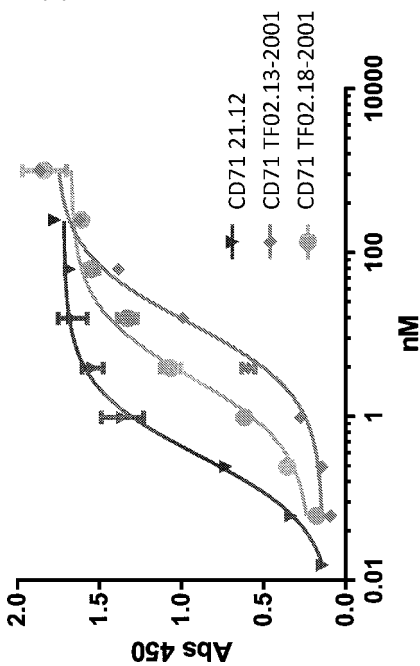
【図 17 C】



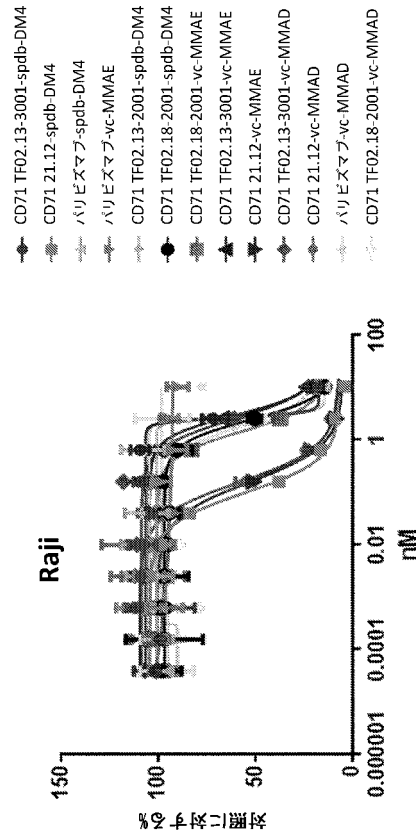
【図 17 D】



【図 19】

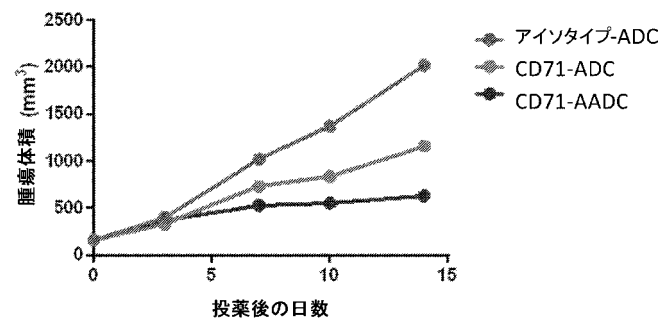


【図 18】



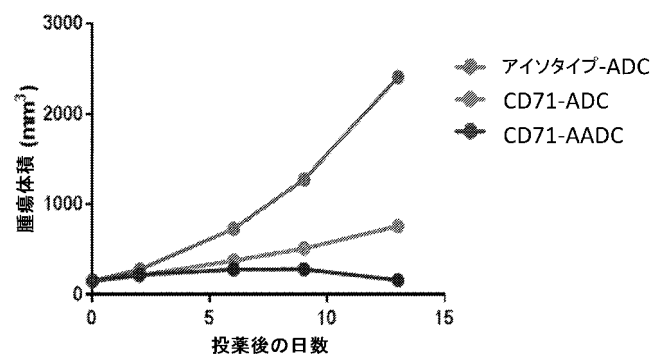
【図 20 A】

モデル LY2214

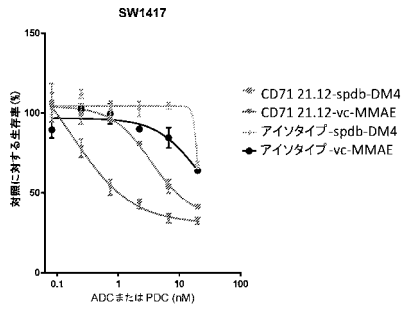


【図 20 B】

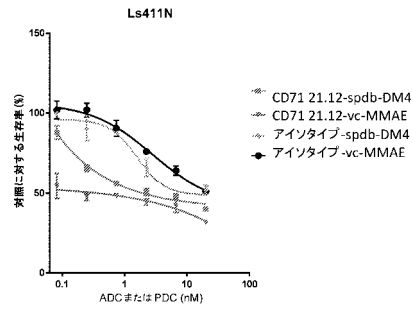
モデル LY0257



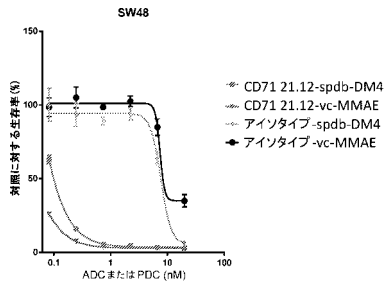
【図 2 1 A】



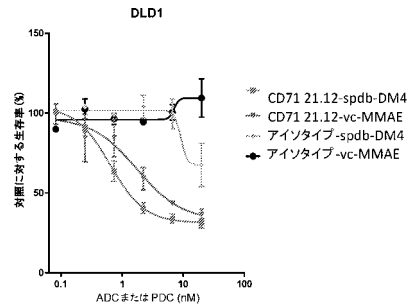
【図 2 1 C】



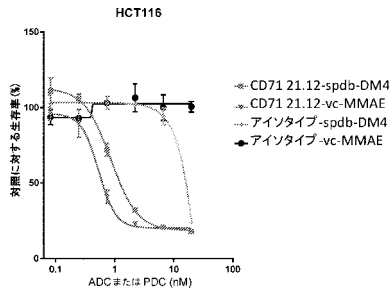
【図 2 1 B】



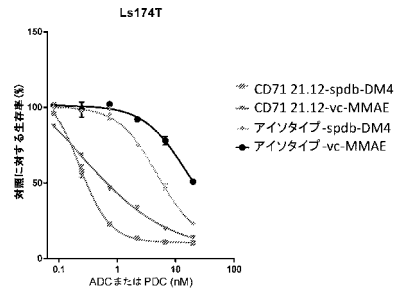
【図 2 1 D】



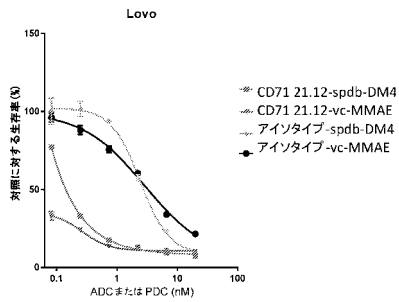
【図 2 1 E】



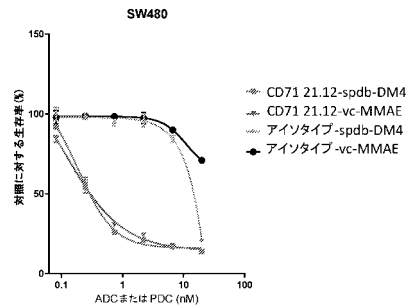
【図 2 1 G】



【図 2 1 F】

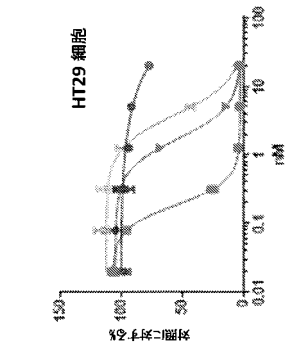


【図 2 1 H】

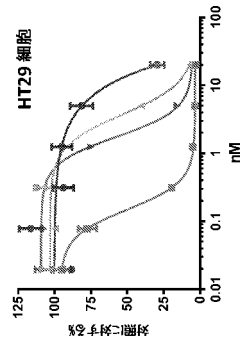


【図 2 2】

アイソタイプ-vc-MMAE  
 CD71 21.12-vc-MMAE  
 CD71 TF02.13-3001-vc-MMAE  
 CD71 TF02.18-2001-vc-MMAE

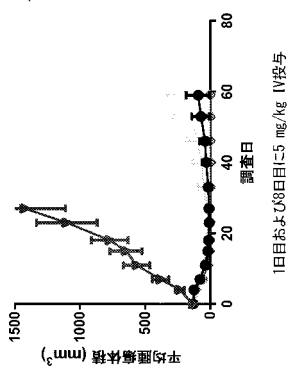
**B**

アイソタイプ-vc-MMAD  
 CD71 21.12-vc-MMAD  
 CD71 TF02.13-3001-vc-MMAD  
 CD71 TF02.18-2001-vc-MMAD

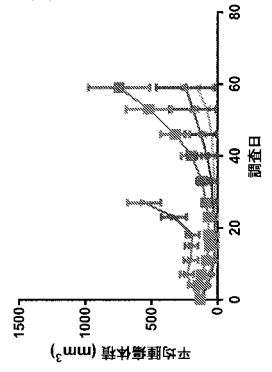


【図 2 3】

ハリビスマツ-spdb-DM4 (5 mg/kg)  
 CD71 21.12-spdb-DM4 (5 mg/kg)  
 CD71 TF02.18-2001-spdb-DM4 (5 mg/kg)  
 CD71 TF02.13-3001-spdb-DM4 (5 mg/kg)

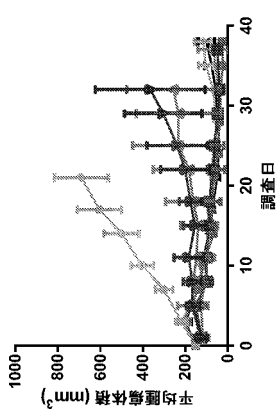
**A****B**

ハリビスマツ-vc-MMAE (3 mg/kg)  
 CD71 21.12-vc-MMAE (3 mg/kg)  
 CD71 TF02.18-2001-vc-MMAE (3 mg/kg)  
 CD71 TF02.13-3001-vc-MMAE (3 mg/kg)

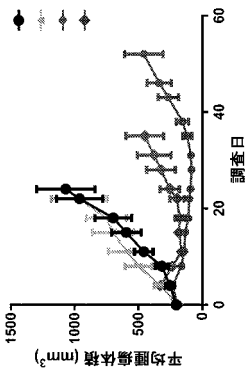


【図 2 4】

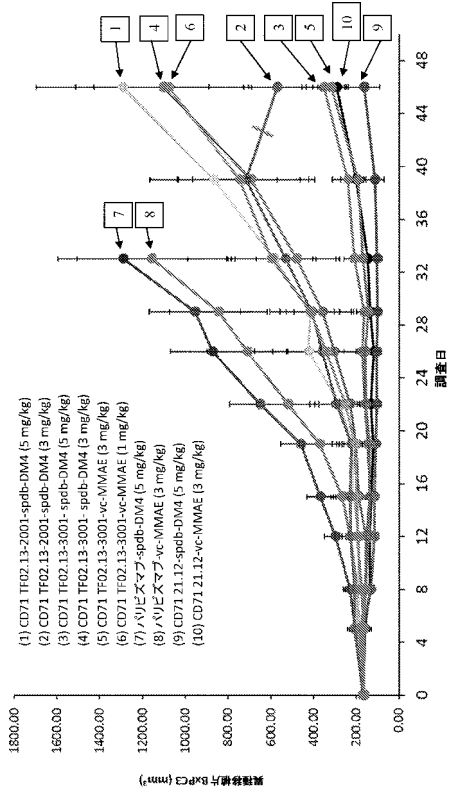
ハリビスマツ-spdb-DM4 (5 mg/kg)  
 CD71 21.12-spdb-DM4 (5 mg/kg)  
 CD71 TF02.13-2001-spdb-DM4 (5 mg/kg)  
 CD71 TF02.13-3001-spdb-DM4 (3 mg/kg)  
 CD71 TF02.13-3001-spdb-DM4 (1 mg/kg)  
 CD71 TF02.13-3001-spdb-DM4 (1 mg/kg)

**A****B**

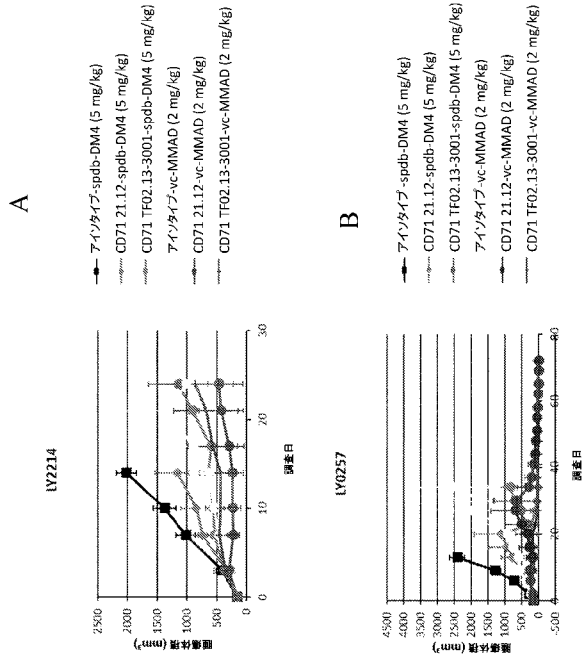
PBS 経肺投与  
 ハリビスマツ-PEG2-vc-MMAD (3 mg/kg)  
 CD71 21.12-PEG2-vc-MMAD (3 mg/kg)  
 CD71 TF01-2001-PEG2-vc-MMAD (3 mg/kg)



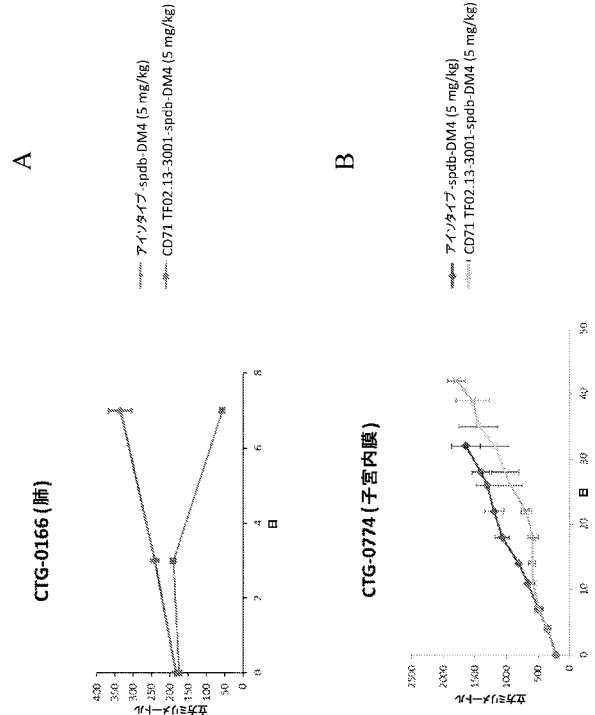
【図 2 5】



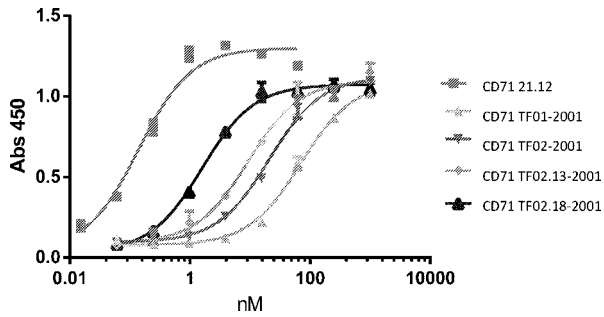
【図 26】



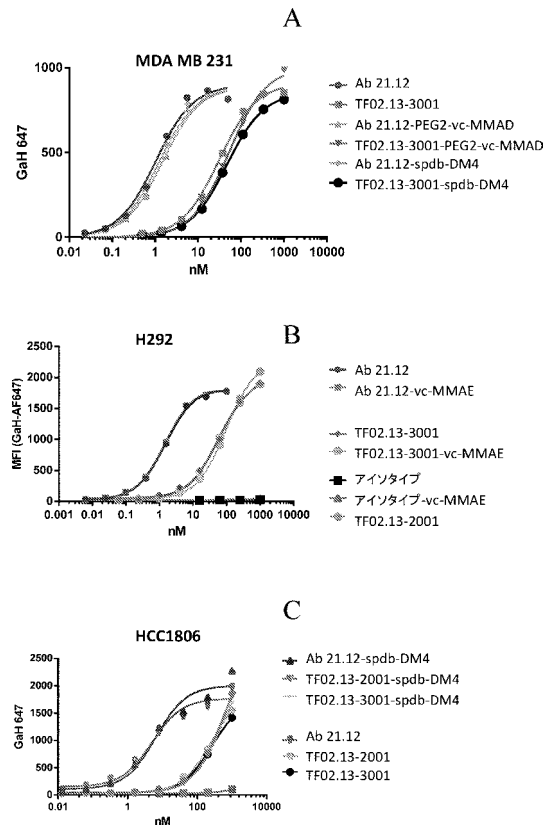
【図 27】



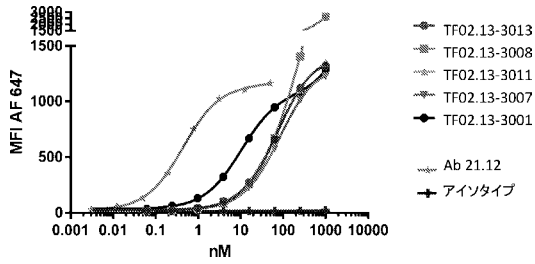
【図 28】



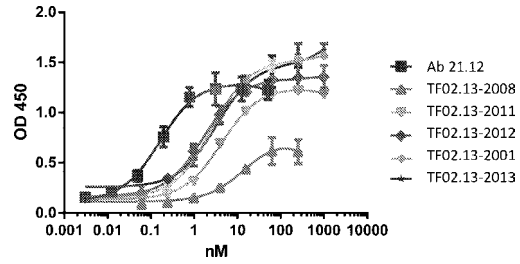
【図 29】



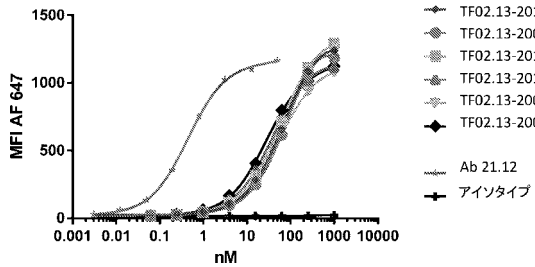
【図 30 A】



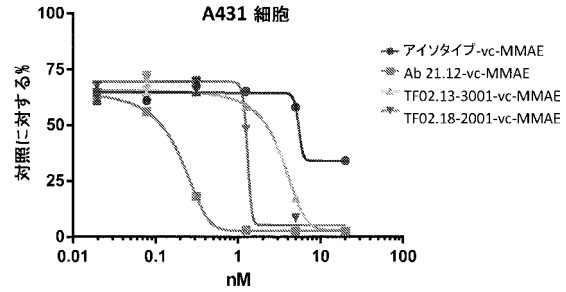
【図 30 D】



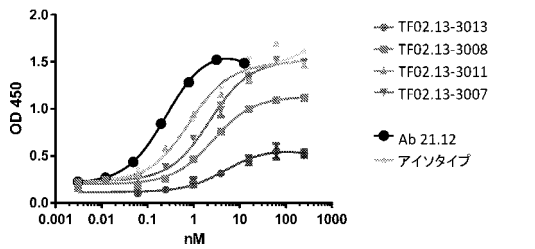
【図 30 B】



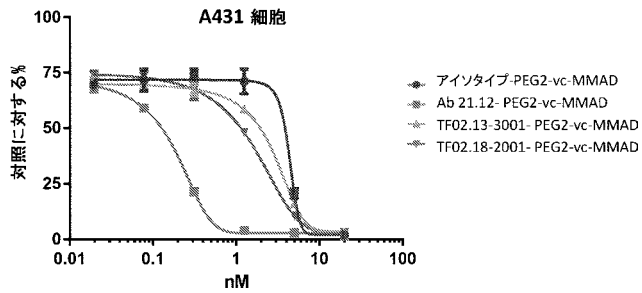
【図 31 A】



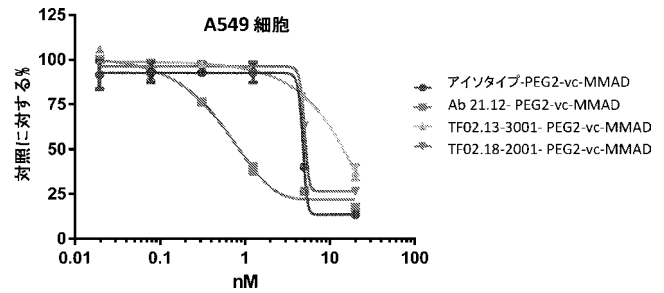
【図 30 C】



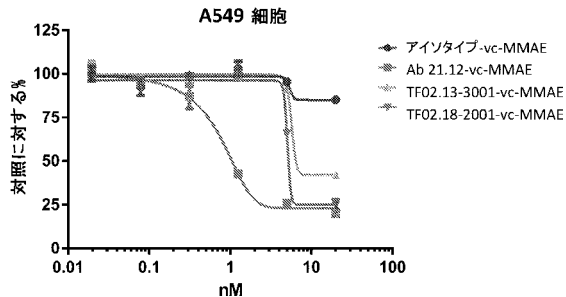
【図 31 B】



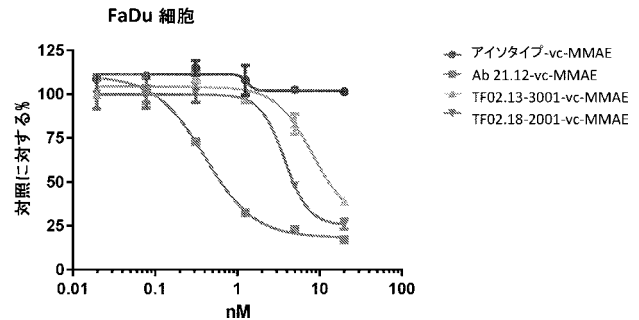
【図 31 D】



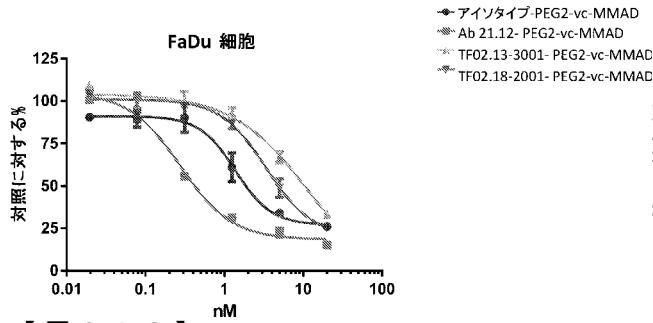
【図 31 C】



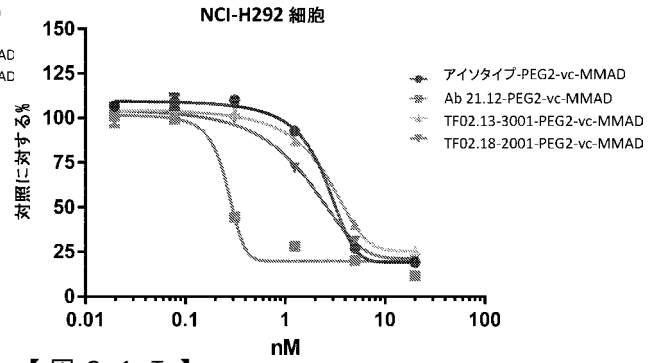
【図 31 E】



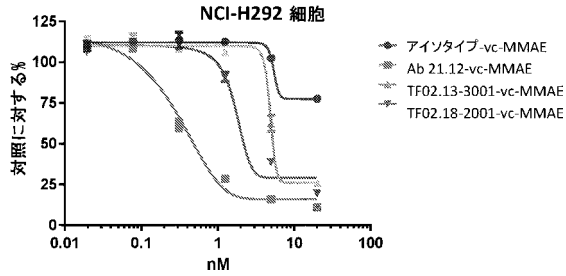
【図 3 1 F】



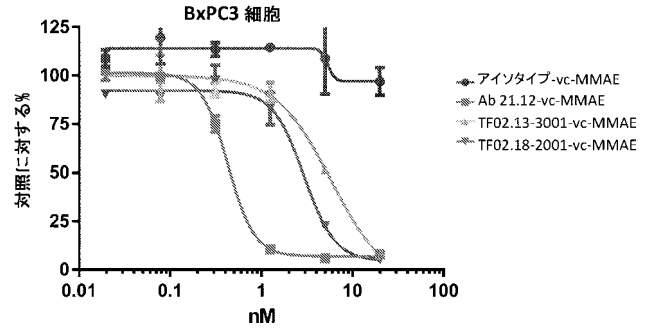
【図 3 1 H】



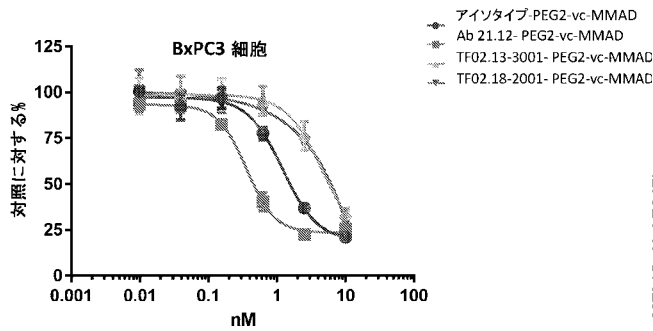
【図 3 1 G】



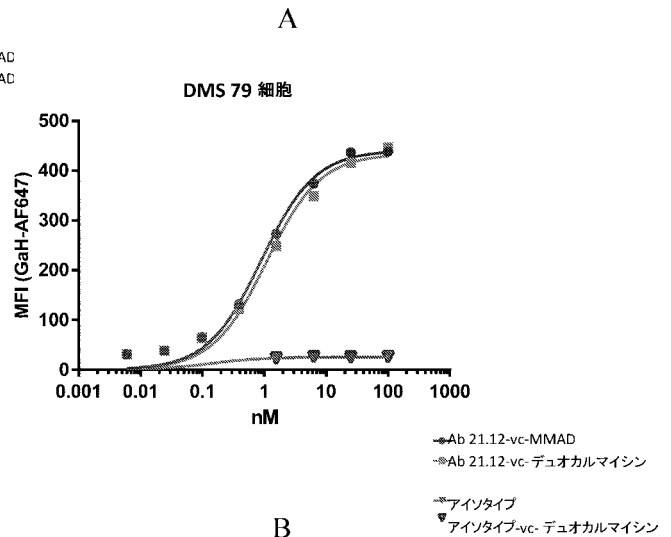
【図 3 1 I】



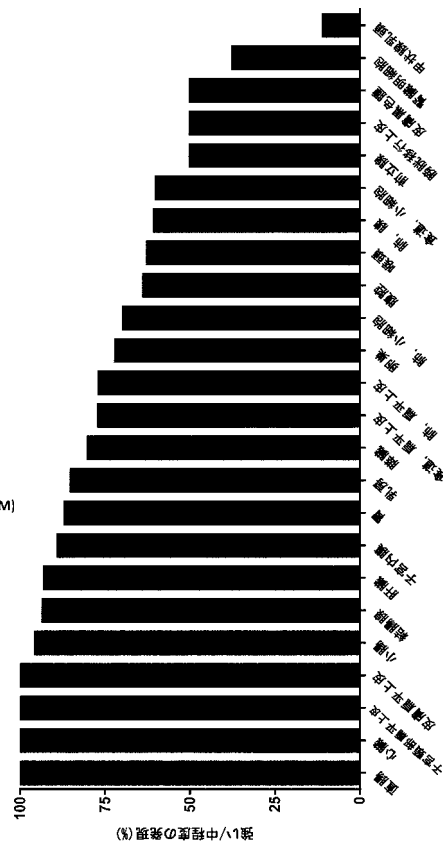
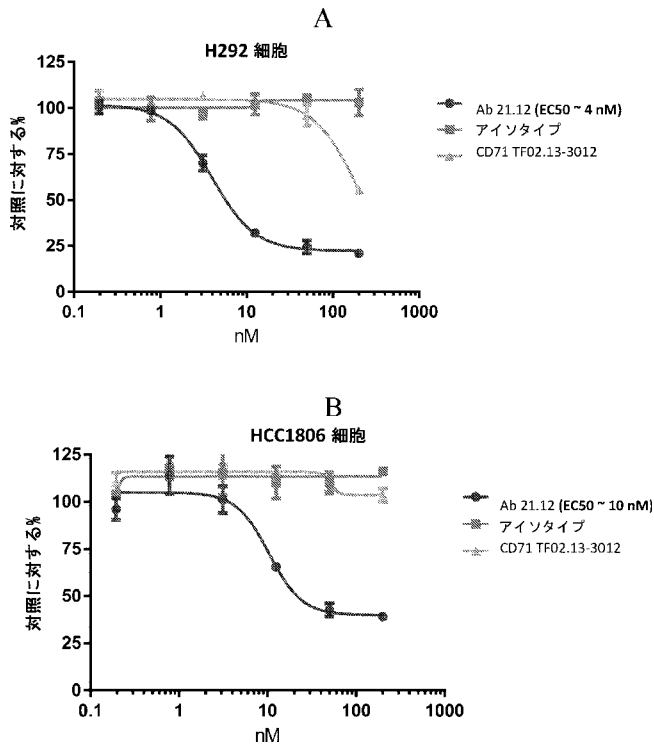
【図 3 1 J】



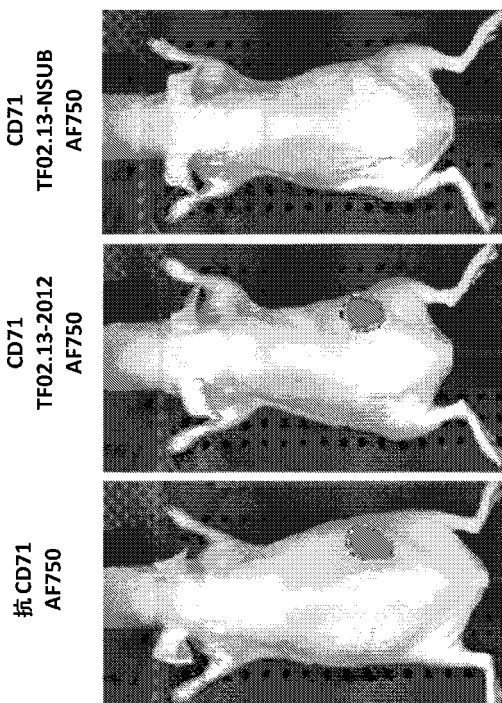
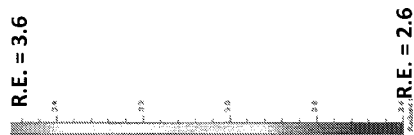
【図 3 2】



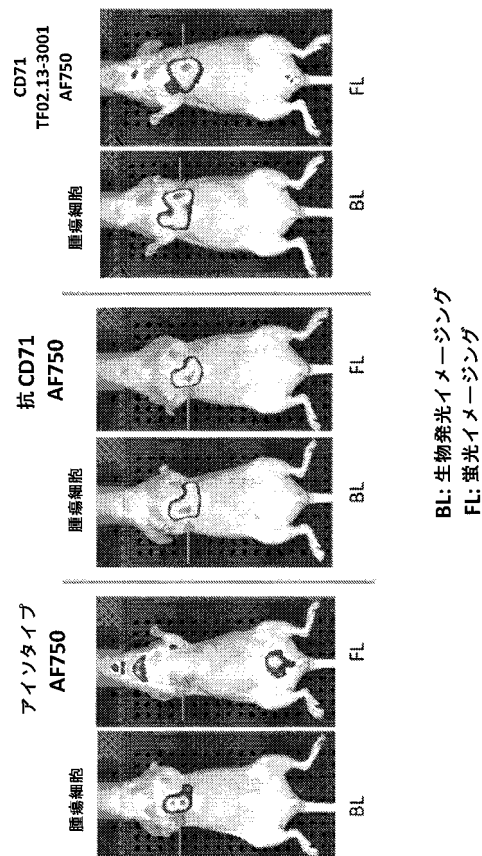
【 図 3 4 】

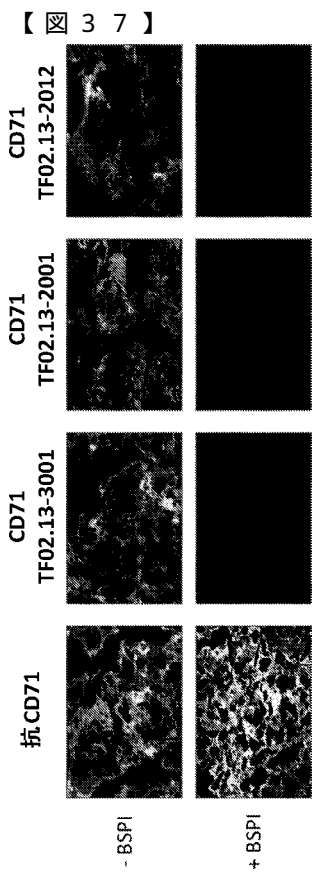


【 図 3 5 】



【 図 3 6 】





## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2016/030738

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☐ forming part of the international application as filed:
    - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
    - ☐ on paper or in the form of an image file.
  - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
  - c. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
    - ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
    - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2016/030738**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
  
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
  
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:  
1-5, 73(completely); 17, 18, 40-57, 62, 63, 81-87, 89-99(partially)

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2016/030738

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07K16/28 C07K16/30 C07K7/08 A61K47/48 A61P35/00  
ADD.

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

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K A61K A61P

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data, Sequence Search

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2014/189973 A2 (GENENTECH INC [US]; HOFFMANN LA ROCHE [CH]) 27 November 2014 (2014-11-27) cited in the application	1-5, 17, 18, 40-57, 62, 63, 73, 81-87 89-99
Y	whole document, especially Example 1; Table 5  ----- -/--	

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

## \* Special categories of cited documents :

\*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

\*E\* earlier application or patent but published on or after the international filing date

\*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

\*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

\*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

\*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 August 2016

Date of mailing of the international search report

10/11/2016

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel: (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Luyten, Kattie

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2016/030738

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FRIDEN P M ET AL: "CHARACTERIZATION, RECEPTOR MAPPING AND BLOOD-BRAIN BARRIER TRANSCYTOSIS OF ANTIBODIES TO THE HUMAN TRANSFERRIN RECEPTOR", JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS, AMERICAN SOCIETY FOR PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS, US, vol. 278, no. 3, 1 September 1996 (1996-09-01), pages 1491-1498, XP000984836, ISSN: 0022-3565	1-5,17, 18, 40-57, 62,63, 73,81-87
Y	whole document, especially the Abstract -----	89-99
X	US 2013/177579 A1 (LIN SHIH-YAO [TW] ET AL) 11 July 2013 (2013-07-11) cited in the application	1-5,17, 18, 40-57, 62,63, 73, 81-87, 89-99
Y	whole document, especially Examples 1, 3, 6; Figure 10 -----	89-99
X	US 2013/045206 A1 (POUL MARIE-ALIX [FR] ET AL) 21 February 2013 (2013-02-21) cited in the application	1-5,17, 18, 40-57, 62,63, 73, 81-87, 89-99
Y	whole document, especially Examples I-III -----	89-99

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/US2016/030738

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2014189973 A2	27-11-2014	AR 096364 A1 AU 2014268726 A1 CA 2908743 A1 CL 2015003406 A1 CN 105358578 A CR 20150618 A EA 201592213 A1 EP 2999716 A2 HK 1215584 A1 JP 2016526878 A KR 20160011198 A PH 12015502565 A1 SG 11201509566R A TW 201500373 A US 2015110791 A1 WO 2014189973 A2	23-12-2015 19-11-2015 27-11-2014 15-07-2016 24-02-2016 08-02-2016 29-04-2016 30-03-2016 02-09-2016 08-09-2016 29-01-2016 29-02-2016 30-12-2015 01-01-2015 23-04-2015 27-11-2014
US 2013177579 A1	11-07-2013	AU 2013203422 A1 TW 201333040 A US 2013177579 A1 WO 2013103800 A1	18-07-2013 16-08-2013 11-07-2013 11-07-2013
US 2013045206 A1	21-02-2013	CA 2784404 A1 CN 102741282 A EP 2513143 A1 FR 2953841 A1 JP 2013527129 A US 2013045206 A1 WO 2011073943 A1	23-06-2011 17-10-2012 24-10-2012 17-06-2011 27-06-2013 21-02-2013 23-06-2011

International Application No. PCT/ US2016/ 030738

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-5, 73(completely); 17, 18, 40-57, 62, 63, 81-87, 89-99(partially)

An isolated antibody or an antigen binding fragment thereof (AB) that specifically binds to mammalian CD71, wherein the AB specifically binds human CD71 and cynomolgus monkey CD71.  
---

2. claims: 6-16, 19-39, 58-61, 64-72, 74-80, 88(completely); 17, 18, 40-57, 62, 63, 81-87, 89-99(partially)

An activatable antibody that, in an activated state, specifically binds mammalian CD71, as defined in claims 6, 33, 34, 38, 39, 74 or 81.  
---

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード ( 参考 )
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5	4 H 0 4 5
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/04	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	
A 6 1 K 47/66 (2017.01)	A 6 1 K 39/395 N	
A 6 1 K 47/64 (2017.01)	A 6 1 K 39/395 E	
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 39/395 T	
A 6 1 K 38/02 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 47/65 (2017.01)	A 6 1 K 47/66	
A 6 1 K 49/00 (2006.01)	A 6 1 K 47/64	
A 6 1 K 51/10 (2006.01)	A 6 1 K 47/68	
A 6 1 K 38/05 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 C	
A 6 1 K 31/537 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 L	
A 6 1 K 31/407 (2006.01)	A 6 1 K 38/02	
A 6 1 K 31/4738 (2006.01)	A 6 1 K 47/65	
A 6 1 K 38/08 (2006.01)	A 6 1 K 49/00	
A 6 1 K 31/7034 (2006.01)	A 6 1 K 51/10 2 0 0	
A 6 1 K 31/551 (2006.01)	A 6 1 K 38/05	
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	A 6 1 K 31/537	
C 0 7 K 7/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/407	
C 0 7 K 5/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/4738	
	A 6 1 K 38/08	
	A 6 1 K 31/7034	
	A 6 1 K 31/551	
	C 1 2 N 15/63 Z	
	C 0 7 K 7/00	
	C 0 7 K 5/00	

- (31)優先権主張番号 62/277,775  
 (32)優先日 平成28年1月12日(2016.1.12)  
 (33)優先権主張国 米国(US)  
 (31)優先権主張番号 62/310,553  
 (32)優先日 平成28年3月18日(2016.3.18)  
 (33)優先権主張国 米国(US)  
 (31)優先権主張番号 62/315,276  
 (32)優先日 平成28年3月30日(2016.3.30)  
 (33)優先権主張国 米国(US)

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

(74)代理人 100142929

- 弁理士 井上 隆一  
(74)代理人 100148699  
弁理士 佐藤 利光  
(74)代理人 100128048  
弁理士 新見 浩一  
(74)代理人 100129506  
弁理士 小林 智彦  
(74)代理人 100205707  
弁理士 小寺 秀紀  
(74)代理人 100114340  
弁理士 大関 雅人  
(74)代理人 100114889  
弁理士 五十嵐 義弘  
(74)代理人 100121072  
弁理士 川本 和弥  
(72)発明者 サガート ジェイソン ゲイリー  
アメリカ合衆国 9 4 4 0 3 カリフォルニア州 サンマテオ ローリー メドウズ ロード 2  
3 1 アpartment 1 5 3  
(72)発明者 チプトン キンバリー アン  
アメリカ合衆国 9 4 1 2 2 カリフォルニア州 サンフランシスコ オルテガ ストリート 4  
5 0  
(72)発明者 テレット ジョナサン アレクサンダー  
アメリカ合衆国 9 5 0 1 4 カリフォルニア州 クパチーノ メイプルウッド ロード 1 0 6  
7 8  
(72)発明者 シン シュウェータ  
アメリカ合衆国 9 4 5 5 5 カリフォルニア州 フレモント タン オーク ドライブ 5 7 4  
1  
(72)発明者 ウィーバー アニー ヤング  
アメリカ合衆国 9 4 4 0 3 カリフォルニア州 サンマテオ アラメダ デ ラス ブルガス  
2 6 1 0  
(72)発明者 デノアイエ リュック ローランド  
アメリカ合衆国 9 4 1 2 7 カリフォルニア州 サンフランシスコ クレアモント ブールバー  
ド 2 5 0

F ターム(参考) 4B064 AG27 CA10 CA19 CC24 DA05  
4C076 AA95 CC41 EE59  
4C084 AA02 AA03 AA19 BA01 BA08 BA14 BA16 BA23 BA41 BA42  
BA44 DA32 MA02 NA05 NA13 ZB211 ZB212 ZB261 ZB262 ZC411  
ZC412 ZC421  
4C085 AA13 AA14 AA15 AA25 AA26 AA27 BB31 BB41 BB43 CC23  
CC31 DD62 EE01 EE03 GG02 GG04 GG05 GG08 GG10 HH03  
HH11 KA03 KA04 KA27 KA29 KB82 LL18  
4C086 AA01 CB03 CB05 CB11 CB22 EA08 MA01 MA02 MA04 NA13  
ZB21 ZB26 ZC41  
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 BA50 DA76 DA83 EA28 FA74