

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7254350号

(P7254350)

(45)発行日 令和5年4月10日(2023.4.10)

(24)登録日 令和5年3月31日(2023.3.31)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 39/395

Y

A 6 1 K 47/61 (2017.01)

A 6 1 K 39/395

N Z N A

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

A 6 1 K 47/61

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/04

A 6 1 P 35/00

請求項の数 21 (全124頁)

(21)出願番号 特願2019-531127(P2019-531127)

(86)(22)出願日 平成29年12月5日(2017.12.5)

(65)公表番号 特表2020-510622(P2020-510622  
A)

(43)公表日 令和2年4月9日(2020.4.9)

(86)国際出願番号 PCT/US2017/064631

(87)国際公開番号 WO2018/106645

(87)国際公開日 平成30年6月14日(2018.6.14)

審査請求日 令和2年12月7日(2020.12.7)

(31)優先権主張番号 62/431,362

(32)優先日 平成28年12月7日(2016.12.7)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)

(73)特許権者 519203736

イネイト バイオセラピューティクス,

エルエルシー

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02

459, ニュートン, エバレット ス

トリート 16

(74)代理人 100139723

弁理士 樋口 洋

(74)代理人 100116540

弁理士 河野 香

(72)発明者 レズニック, ガブリエル オスカー

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01

730, ベドフォード, ハンコック

ストリート 75

(72)発明者 ケーン, ジョン ジェイムズ

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 - 1, 6 - グルカン治療用抗体コンジュゲート

## (57)【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

コンジュゲートの集団を含む組成物であって、各コンジュゲートは平均2～4個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに共有結合した治療用抗体であり、各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーはそれぞれ独立して5または6個のグルコースモノマー単位からなり、前記治療用抗体は、ジスルフィド結合によって相互結合された2つの重鎖と2つの軽鎖を含み、標的細胞の表面に発現する抗原を認識する、組成物。

## 【請求項2】

前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ6個のグルコースモノマー単位からなる、請求項1に記載の組成物。

## 【請求項3】

前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ5個のグルコースモノマー単位からなる、請求項1に記載の組成物。

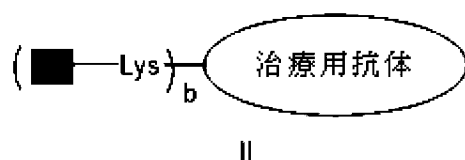
## 【請求項4】

前記抗体が平均3～4個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされている、請求項1～3のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項5】

各コンジュゲートが式 I I :

## 【化 1】



[ 式中、

10

各 L y s は治療用抗体に存在するそれぞれ別のリジン残基であり；

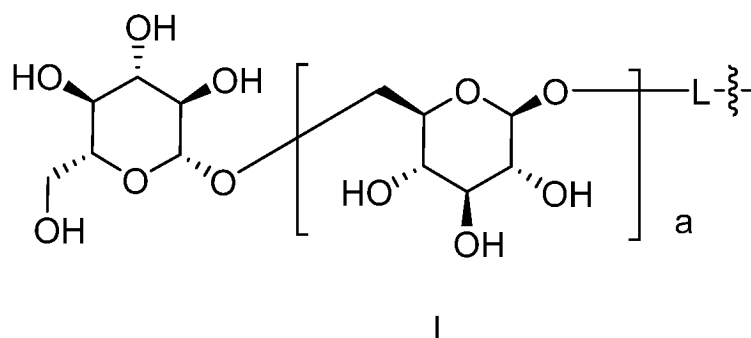
b は、組成物中の各治療用抗体分子にコンジュゲートした - 1 , 6 - グルカンオリゴマーの平均数を示し、かつ 2 ~ 4 であり；



は、5 または 6 個のグルコースモノマー単位を含む式 I の - 1 , 6 - グルカンオリゴマー；

20

## 【化 2】



30

( 式中、

a は 3 または 4 であり；

L はリンカーであり；



40

は、 - 1 , 6 - グルカンオリゴマーと治療用抗体の 1 つのリジン残基との間の結合箇所を示す) である]

で表される、請求項 1 に記載の組成物。

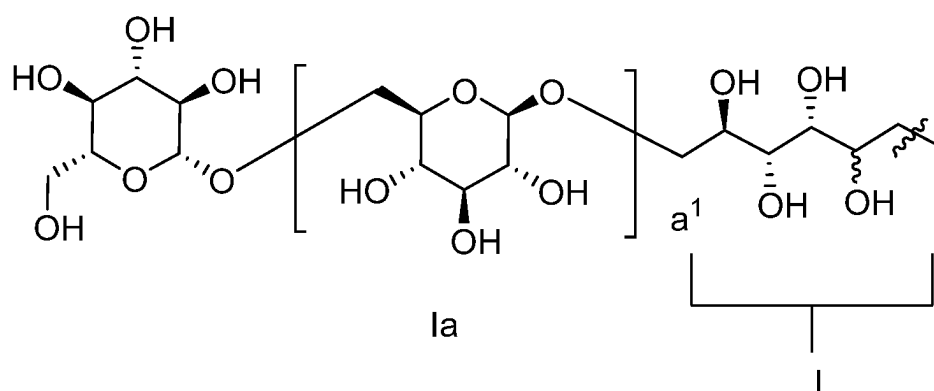
## 【請求項 6】



が式 I a の化合物：

50

## 【化 3】



10

(式中、

 $a^1$  は 3 または 4 であり；

~~~~~

20

は、L と治療用抗体の 1 つのリジン残基との間の結合箇所を示す)

である、請求項 5 に記載の組成物。

## 【請求項 7】

前記抗体が、配列番号 30、配列番号 31、及び配列番号 32 の相補性決定領域 (CDR) アミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインと、配列番号 33、配列番号 34、及び配列番号 35 の相補性決定領域 (CDR) アミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインとを含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 8】

前記抗体がトラスツマブである、請求項 7 に記載の組成物。

30

## 【請求項 9】

前記抗体が、配列番号 6、配列番号 7、及び配列番号 8 の相補性決定領域 (CDR) アミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインと、配列番号 9、配列番号 10、及び配列番号 11 の相補性決定領域 (CDR) アミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインとを含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 10】

前記抗体がセツキシマブである、請求項 9 に記載の組成物。

## 【請求項 11】

前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが化学合成されたものである、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の組成物。

40

## 【請求項 12】

前記組成物に含有されるグルカンの乾燥重量の少なくとも 90% が - 1, 6 - グルカンである、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 13】

前記組成物に含有されるグルカンの乾燥重量の 10% 未満が - 1, 3 - グルカンである、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 14】

前記組成物が - 1, 3 - グルカンを実質的に含まない、請求項 13 に記載の組成物。

## 【請求項 15】

前記治療用抗体がモノクローナル抗体である、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の組

50

成物。

【請求項 16】

前記治療用抗体が、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、または多重特異性抗体である、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 17】

前記治療用抗体が、がん細胞の表面に発現する抗原を認識する、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 18】

がん細胞抗原の過剰発現及び／または増幅に関連するがんの治療に使用するためのものである、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 19】

前記がん細胞抗原が、CEACAM5、CD20、CD33、CD52、EGFR、EGFRVIII、FAP、Glycican-3、HER2/neu、Her3、IGF1R（インスリン様成長因子1受容体）、Muc1（CanAg）、MUC18、ホスファチジルセリン（PS）、PSMA（前立腺特異的膜抗原）、RSV（Fタンパク質のA抗原部位）、及びVEGF-Aからなる群より選択される、請求項 18 に記載の組成物。

【請求項 20】

前記がん細胞抗原がHER2/neuであり、かつ前記がんが乳がんまたは胃がんである、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 21】

前記がんが、卵巣がん、唾液腺がん、膵臓がん、血液がん、皮膚がん、膀胱がん、前立腺がん、子宮内膜がん、胃がん、乳がん、肺がん、非小細胞肺がん、頭頸部がん、または大腸がんである、請求項 18 に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

治療用抗体は様々ながんの治療に使用されてきた。治療用抗体は多くのがんの治療に有効であるが、このような治療が効果的ではない患者が依然として多数存在する。したがって、患者での有効性及び／またはより広範ながん患者群にわたる有効性を改善した新たな形態の治療用抗体が必要とされている。

【0002】

例えば、トラスツズマブは、乳癌及び胃癌の治療に使用されるHER2阻害性モノクローナル抗体である。Kadcyla（登録商標）（アドトラスツズマブエムタンシン）は、細胞毒性薬エムタンシン（DM1）に結合されたモノクローナル抗体トラスツズマブからなる抗体-薬物コンジュゲートであり、転移性乳癌の治療用に承認されている。HER-2の過剰発現（スコア2/3+）及び増幅は、乳癌で最も頻繁に発生するが、膀胱癌、胃癌、子宮内膜癌、肺癌、及び卵巣癌（Modern Pathology（2007）20：192-198）、ならびに前立腺癌（Am J Clin Pathol（2001）116：234-239）といったがんを含む、18種の他の腫瘍実体にも見られる。トラスツズマブ及びKadcyla（登録商標）は、すべてではないが一部の患者、及び／またはすべてではないが一部の病態における、この種類のがん治療に有効である。したがって、がん患者での有効性及び／またはより広範ながん患者群にわたる有効性が改善された新たな形態のトラスツズマブ抗体が必要とされている。

【0003】

別の例として、セツキシマブは、頭頸部扁平上皮癌（SCCHN）及び大腸癌（例えば、KRAS野生型EGFRを発現する大腸癌）の治療に使用される上皮成長因子受容体（EGFR）阻害剤である。セツキシマブは、すべてではないが一部の患者、及び／またはすべてではないが一部の病態における、この種類のがん治療に有効である。したがって、患者での有効性及び／またはより広範ながん患者群にわたる有効性が改善された新たな形態のセツキシマブ抗体が必要とされている。

10

20

30

40

50



セルグツズマブ；イブリツモマブチウキセタン；リツキシマブ；トシツモマブ；ゲムツズマブ；アレムツズマブ；パニツムマブ；デパツキシズマブ；シプロツズマブ；コドリツズマブ；パトリツマブ；フィギツムマブ；ガニツマブ；カンツズマブ；A B X - M A 1；バビツキシマブ：J 5 9 1；パリビズマブ；またはベバシズマブを含むがこれらに限定されない他の多くの抗体が、すべてではないが一部の患者、及び／またはすべてではないが一部の病態における、がん治療に有効である。したがって、患者での有効性及び／またはより広範ながん患者群にわたる有効性が改善された新たな形態の上記及び他の治療用抗体が必要とされている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0004】

【文献】Modern Pathology (2007) 20: 192 - 198

Am J Clin Pathol (2001) 116: 234 - 239

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明は、治療用抗体が - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされている実施形態を包含する。したがって、本発明には、特に、1つ以上の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされた治療用抗体を含む組成物が含まれる。本発明は、特に、これらの - 1, 6 - グルカンコンジュゲートを製造及び／または使用方法をさらに含む。ある種の実施形態では、本発明の - 1, 6 - グルカンコンジュゲートは、治療薬としてまたは治療方法において有用である。

【0006】

ある種の実施形態では、本発明は、各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して2 ~ 10個のグルコースモノマー単位からなる、1 ~ 6個の - 1, 6 - グルカンオリゴマー（例えば、1 ~ 5個、1 ~ 4個、または1 ~ 3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマー）にコンジュゲートされた治療用抗体を含む組成物を包含する。ある種の実施形態では、各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーは独立して2 ~ 8個のグルコースモノマー単位からなるか、各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーは独立して2 ~ 6個のグルコースモノマー単位からなるか、各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーは独立して4 ~ 6個のグルコースモノマー単位からなるか、各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーは8個のグルコースモノマー単位からなるか、各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーは7個のグルコースモノマー単位からなるか、各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーは6個のグルコースモノマー単位からなるか、各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーは5個のグルコースモノマー単位からなるか、各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーは4個のグルコースモノマー単位からなるか、各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーは3個のグルコースモノマー単位からなるか、または各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーは2個のグルコースモノマー単位からなる。ある種の実施形態では、治療用抗体は、2 ~ 4個の - 1, 6 - グルカンオリゴマー、例えば3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされている。

【0007】

ある種の特定の実施形態では、治療用抗体は2 ~ 4個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、 - 1, 6 - グルカンオリゴマーはそれぞれ独立して2 ~ 10個のグルコースモノマー単位からなる。ある種の特定の実施形態では、治療用抗体は2 ~ 4個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、 - 1, 6 - グルカンオリゴマーはそれぞれ独立して2 ~ 8個のグルコースモノマー単位からなる。ある種の特定の実施形態では、治療用抗体は2 ~ 4個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、 - 1, 6 - グルカンオリゴマーはそれぞれ独立して2 ~ 6個のグルコースモノマー単位からなる。ある種の特定の実施形態では、治療用抗体は2 ~ 4個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、 - 1, 6 - グルカンオリゴマーはそれぞれ独立して4 ~ 6個のグルコースモノマー単位からなる。ある

10

20

30

40

50

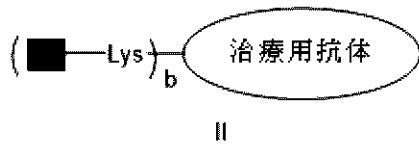
10

## 20

30

40

【化 1】



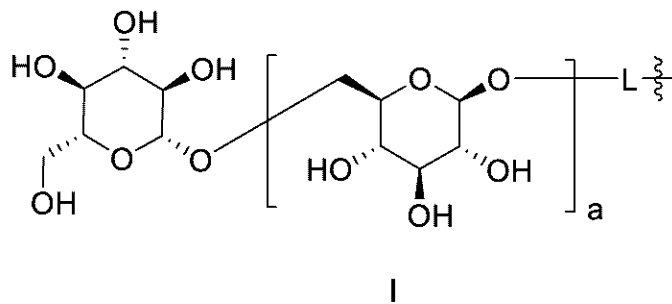
に記載の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、  
 式中、L y s はリジン残基であり；b は 1 ~ 6、1 ~ 5、1 ~ 4、または 1 ~ 3 であり；  
 ならびに

【化 2】



は式 I：

【化 3】



の化合物であり、

式中、a は 1 ~ 9、1 ~ 8、1 ~ 7、1 ~ 6、1 ~ 5、1 ~ 4、または 1 ~ 3 であり；L  
 はリンカーであり；及び「

【化 4】



」は 2 つの原子間の結合箇所を表す。

【0 0 1 0】

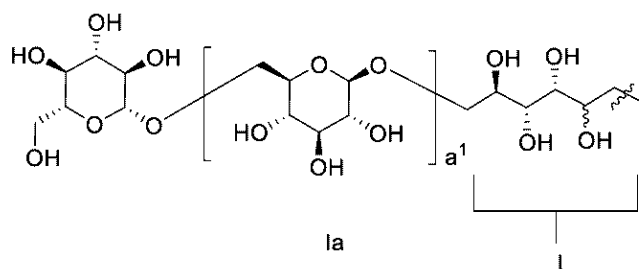
本発明のある種の実施形態では、

【化 5】



は式 I a：

【化 6】



の化合物であり、

式中、 $a^1$  は 1 ~ 9、1 ~ 8、1 ~ 7、1 ~ 6、1 ~ 5、1 ~ 4、または 1 ~ 3 であり；  
及び「

【化 7】

~~~~~

」は 2 つの原子間の結合箇所を表す。

【0011】

本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、セルグツズマブ；イブリツモマブチウキセタン；リツキシマブ；トシツモマブ；ゲムツズマブ；アレムツズマブ；セツキシマブ；パニツムマブ；デパツキシズマブ；シブロツズマブ；コドリツズマブ；トラスツズマブ；パトリツマブ；フィギツムマブ；ガニツマブ；カンツズマブ；ABX-MA1；バビツキシマブ：J591；パリビズマブ；またはベバシズマブである。

10

【0012】

本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、セルグツズマブ；イブリツモマブチウキセタン；リツキシマブ；トシツモマブ；ゲムツズマブ；アレムツズマブ；パニツムマブ；デパツキシズマブ；シブロツズマブ；コドリツズマブ；トラスツズマブ；パトリツマブ；フィギツムマブ；ガニツマブ；カンツズマブ；ABX-MA1；バビツキシマブ：J591；パリビズマブ；またはベバシズマブである。

【0013】

本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、セルグツズマブ；イブリツモマブチウキセタン；リツキシマブ；トシツモマブ；ゲムツズマブ；アレムツズマブ；パニツムマブ；デパツキシズマブ；シブロツズマブ；コドリツズマブ；パトリツマブ；フィギツムマブ；ガニツマブ；カンツズマブ；ABX-MA1；バビツキシマブ：J591；パリビズマブ；またはベバシズマブである。

20

【0014】

本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、本明細書で定義される、セルグツズマブ抗体；イブリツモマブチウキセタン抗体；リツキシマブ抗体；トシツモマブ抗体；ゲムツズマブ抗体；アレムツズマブ抗体；セツキシマブ抗体；パニツムマブ抗体；デパツキシズマブ抗体；シブロツズマブ抗体；コドリツズマブ抗体；トラスツズマブ抗体；パトリツマブ抗体；フィギツムマブ抗体；ガニツマブ抗体；カンツズマブ抗体；ABX-MA1抗体；バビツキシマブ：J591抗体；パリビズマブ抗体；ベバシズマブ抗体である。

30

【0015】

本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、本明細書で定義される、セルグツズマブ抗体；イブリツモマブチウキセタン抗体；リツキシマブ抗体；トシツモマブ抗体；ゲムツズマブ抗体；アレムツズマブ抗体；パニツムマブ抗体；デパツキシズマブ抗体；シブロツズマブ抗体；コドリツズマブ抗体；トラスツズマブ抗体；パトリツマブ抗体；フィギツムマブ抗体；ガニツマブ抗体；カンツズマブ抗体；ABX-MA1抗体；バビツキシマブ：J591抗体；パリビズマブ抗体；ベバシズマブ抗体である。

【0016】

本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、本明細書で定義される、セルグツズマブ抗体；イブリツモマブチウキセタン抗体；リツキシマブ抗体；トシツモマブ抗体；ゲムツズマブ抗体；アレムツズマブ抗体；パニツムマブ抗体；デパツキシズマブ抗体；シブロツズマブ抗体；コドリツズマブ抗体；パトリツマブ抗体；フィギツムマブ抗体；ガニツマブ抗体；カンツズマブ抗体；ABX-MA1抗体；バビツキシマブ：J591抗体；パリビズマブ抗体；ベバシズマブ抗体である。

40

【0017】

本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、表 I に列挙される配列と少なくとも 80% の同一性を有する配列を含む。本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、表 I に列挙される配列の一部と少なくとも 80% の同一性を有する配列を含む。

【0018】

50

本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、表 I に列挙される配列の少なくとも一部と少なくとも 80 % の同一性を有する配列が含まれる可変ドメインを含む。本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、表 I に列挙される配列の少なくとも一部と少なくとも 80 % の同一性を有する配列が含まれる重鎖可変ドメインを含む。本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、表 I に列挙される配列の少なくとも一部と少なくとも 80 % の同一性を有する配列が含まれる軽鎖可変ドメインを含む。

【0019】

本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、表 I に列挙される配列の少なくとも一部と少なくとも 80 % の同一性を有する配列が含まれる CDR を含む。本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、表 I に列挙される配列の少なくとも一部と少なくとも 80 % の同一性を有する配列が含まれる重鎖 CDR を含む。本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、表 I に列挙される配列の少なくとも一部と少なくとも 80 % の同一性を有する配列が含まれる軽鎖 CDR を含む。本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、表 I に列挙される配列の少なくとも一部と少なくとも 80 % の同一性を有する配列が含まれる重鎖 CDR を含む。

【0020】

本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、表 I に列挙される配列の少なくとも一部と少なくとも 80 % の同一性を有する配列が含まれる定常領域を含む。本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、表 I に列挙される配列の少なくとも一部と少なくとも 80 % の同一性を有する配列が含まれる軽鎖定常領域を含む。本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、表 I に列挙される配列の少なくとも一部と少なくとも 80 % の同一性を有する配列が含まれる重鎖定常領域を含む。本発明のいくつかの実施形態では、治療用抗体は、表 I に列挙される配列の少なくとも一部と少なくとも 80 % の同一性を有する配列が含まれるヒンジドメインを含む。

【0021】

いくつかの実施形態では、治療用抗体は、その標的への結合を親の治療用抗体と競合する。例えば、いくつかの実施形態では、セルグツズマブ抗体は、CEACAM5 などへの結合をセルグツズマブと競合する。

【0022】

様々な実施形態において、- 1, 6 - グルカンオリゴマーは化学合成される。様々な実施形態において、組成物に含有されるグルカンの乾燥重量のうち少なくとも 90 % は - 1, 6 - グルカンである。様々な実施形態において、組成物に含有されるグルカンの乾燥重量のうち 10 % 未満は - 1, 3 - グルカンである。様々な実施形態において、組成物は - 1, 3 - グルカンを実質的に含まない。

【0023】

本発明はさらに、本発明の組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む、腫瘍抗原（例えば、CEACAM5 など）の発現に関連するがんを治療する方法を提供する。例えば、いくつかの実施形態では、本方法は、各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 2 ~ 10 個のグルコースモノマー単位からなる、1 ~ 6 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマー（例えば、1 ~ 5 個、1 ~ 4 個、または 1 ~ 3 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマー）にコンジュゲートされた治療用抗体を含む、治療有効量の組成物を投与することを含む。

【0024】

いくつかの実施形態では、がんは乳癌である。いくつかの実施形態では、がんは卵巣癌である。いくつかの実施形態では、がんは膀胱癌である。いくつかの実施形態では、がんは唾液腺癌である。いくつかの実施形態では、がんは子宮内膜癌である。いくつかの実施形態では、がんは膵臓癌である。いくつかの実施形態では、がんは非小細胞肺癌（NSCLC）である。いくつかの実施形態では、がんは前立腺癌である。いくつかの実施形態では、がんは転移性である。

【0025】

10

20

30

40

50

## 定義

本明細書で使用される場合、「抗体」とは、免疫グロブリン分子の可変領域、最適化領域、または選択領域内の少なくとも1つの抗原認識部位を介して標的を認識し、それに特異的に結合する免疫グロブリン分子を意味する。本明細書で使用される場合、用語「抗体」には、インタクトポリクローナル抗体、インタクトモノクローナル抗体、抗体断片（ $Fab$ 、 $Fab'$ 、 $Fab'_2$ 、 $Fab_3$ 、 $F(ab')_2$ 、 $Fd$ 、 $Fv$ 、 $Feb$ 、 $scFv$ 、 $SMIP$ 、抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ミニボディ、マキシボディ、 $tandab$ 、 $DVD$ 、 $BiTe$ 、 $TandAb$ など、またはそれらの任意の組み合わせなど）、一本鎖 $Fv(scFv)$ 変異体、少なくとも2つのインタクト抗体から作製される二重特異性抗体などの多重特異性抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、抗体の抗原決定部分を含む融合タンパク質、及び望ましい生物活性を抗体が示す限り、抗原認識部位を含む他のあらゆる修飾免疫グロブリン分子を包含する。抗体は、それぞれアルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ、及びミューと呼ばれる重鎖定常領域ドメインの同一性に基づいた、 $IgA$ 、 $IgD$ 、 $IgE$ 、 $IgG$ 、及び $IgM$ という5つの主要なクラスの免疫グロブリン、またはそれらのサブクラス（アイソタイプ）（例えば、 $IgG1$ 、 $IgG2$ 、 $IgG3$ 、 $IgG4$ 、 $IgA1$ 、及び $IgA2$ ）のいずれでもあり得る。クラスの異なる免疫グロブリンは、異なった周知のサブユニット構造及び3次元構成を有する。抗体は、裸であっても、またはグルカン、毒素、放射性同位体などの他の分子にコンジュゲートされていてもよい。本明細書で使用される場合、抗体は、例えば「インタクト抗体」でも「抗体断片」でもあり得る。本明細書で使用される場合、「抗体」には、当技術分野で公知であり得るような種々の代替的形態、例えばラクダ抗体がさらに包含される。本明細書で使用される場合、抗体またはインタクト抗体は、ジスルフィド結合によって相互結合された4つのポリペプチド鎖、2つの重（ $H$ ）鎖、及び2つの軽（ $L$ ）鎖を含んでいる免疫グロブリン分子であり得る。各重鎖は、重鎖可変領域（ $V_H$ ）及び重鎖定常領域（ $C_H$ ）を含む。重鎖定常領域は、3つのドメイン、 $C_{H1}$ 、 $C_{H2}$ 、及び $C_{H3}$ を含む。各軽鎖は、軽鎖可変（ $V_L$ ）領域及び軽鎖定常領域（ $C_L$ ）を含む。 $V_H$ 及び $V_L$ 領域はさらに、フレームワーク領域（ $FR$ ）と呼ばれる、より保存的である領域が挿入された、相補性決定領域（ $CDR$ ）と呼ばれる超可変領域に細分することができる。他のインタクト抗体、例えばインタクトなラクダ抗体が当技術分野において公知である。

## 【0026】

本明細書で使用される場合、用語「抗体断片」とは、免疫グロブリンタンパク質の全部または一部に由来するか、またはそれらと有意な同一性を有する部分、例えば抗体の抗原結合領域または可変領域などを少なくとも含む分子を意味する。抗体断片の例として、 $Fab$ 、 $Fab'$ 、 $F(ab')_2$ 、及び $Fv$ 断片；トリアボディ；テトラボディ；直鎖抗体；一本鎖抗体分子；ならびに抗体断片から形成された多重特異性抗体に含まれる含 $CDR$ 部分が挙げられる。当業者であれば、用語「抗体断片」は、いかなる特定の生成様式も意味せず、またそれらに限定されないことを理解されよう。抗体断片は、インタクト抗体の切断、化学合成、組換え作製などを含むがこれらに限定されない任意の適切な方法論の使用を通じて作製することができる。

## 【0027】

本明細書で使用される場合、用語グルカンとは、大部分または全体がグルコースモノマー単位からなる任意のポリマー分子またはオリゴマー分子を意味する。グルカンは遊離分子でも、または抗体などの1つ以上の他の分子とコンジュゲートされている分子でもあり得る。

## 【0028】

本明細書で使用される場合、用語「コンジュゲート」とは、1つ以上のグルカンに共有結合している抗体を指す。用語「グルカンコンジュゲート」または「グルカン結合」ならびにそれらの文法上の等価表現は、1つ以上のグルカンに共有結合している抗体分子を指す。

## 【0029】

本明細書で使用される場合、用語「同一性」とは、参照核酸またはアミノ酸配列と1つ以上の他の核酸またはアミノ酸配列との間の全体的な関連性を指す。同一性はパーセンテージで表すことができる。同一性パーセントを計算するための方法は、当技術分野において公知である。同一性の計算には、配列の長さが同じかまたは類似することを必要としない。同一性パーセントの計算は、最適な比較を目的として2つの配列をアライメントすることにより実施することができる（例えば、最適なアライメントになるように第1及び第2の核酸配列の一方または両方にギャップを導入すること、ならびに比較のために同一でない配列を無視することができる）。その後、対応するヌクレオチド位置のヌクレオチドを比較することができる。第1の配列内のある位置を第2の配列内の対応する位置と同じヌクレオチドが占めている場合、配列はその位置に関して同一である。2つの配列間の同一性パーセントは、各配列が共有する同一位置の数の関数であり、通常は、例えば、各配列を最適なアライメントにするために導入される任意のギャップの数及び/または長さを考慮する。配列の比較及び2つの配列間の同一性パーセントの決定は、BLAST（登録商標）などの数学的アルゴリズムを使用して完了することができる。

#### 【0030】

本明細書で使用される場合、用語「リンカー」とは、異なる要素を互いに接続する多要素の作用物質のその部分を指す。リンカーは、任意の供給源及び/または任意の手順、例えば当技術分野で公知の任意の供給源及び/または任意の手順により誘導または合成することができる。いくつかの実施形態では、リンカーは治療用抗体（例えば、表Iから選択されるもの）と - 1, 6 - グルカンオリゴマーとを結合させる。いくつかの実施形態では、リンカーは、剛直な3次元構造をとらない傾向があり、むしろ結合される要素間に柔軟性を与えることを特徴とする。

#### 【0031】

本明細書で使用される場合、用語「治療」（また「治療する」または「治療すること」と）とは、特定の疾患、障害、及び/または病態の1つ以上の症状または特徴を部分的または完全に緩和する、改善する、軽減する、抑制する、その開始を遅延する、その重症度を抑制する、及び/またはそれらの発生率を減少させる治療用分子（例えばコンジュゲート）の任意の投与を指す。そのような治療は、関連する疾患、障害、及び/または病態の徴候を示さない対象、及び/または疾患、障害、及び/または病態の初期徴候のみを示す対象の治療であり得る。あるいはまたは加えて、そのような治療は、関連する疾患、障害、及び/または病態の1つ以上の確立された徴候を示す対象の治療であり得る。

#### 【0032】

本明細書で使用される場合、用語「治療有効量」とは、投与されると、所望する効果が生じる量を意味する。いくつかの実施形態では、この用語は、治療投与レジメンに従って、疾患、障害、及び/または病態に罹患しているかまたは罹患しやすい集団に投与したときに、疾患、障害、及び/または病態を治療するのに十分である量を指す。いくつかの実施形態では、治療有効量は、疾患、障害、及び/または病態の1つ以上の症状の発生率及び/または重症度を抑制し、及び/またはその開始を遅延させるものである。当業者であれば、用語「治療有効量」には、実際に特定の対象で治療の成功がなされることを必要としないことを理解されよう。むしろ、治療有効量とは、そのような治療を必要とする対象に投与されたときに有意な数の対象において特定の望ましい薬理学的反応をもたらす量であり得る。いくつかの実施形態では、治療有効量が表す意味は、1つ以上の特定の組織（例えば、疾患、障害、または病態に侵された組織）または体液（例えば、血液、唾液、血清、汗、涙、尿など）において測定された量を指すものであり得る。当業者であれば、いくつかの実施形態では、治療有効量の特定のコンジュゲートを単回用量で製剤化及び/または投与できることを理解されよう。いくつかの実施形態では、治療有効量の特定のコンジュゲートを、例えば、投与レジメンの一部として、複数回用量で製剤化及び/または投与することができる。

#### 【0033】

いくつかの実施形態では、本発明は、一般に上記の式Iに記載されるもの、及び本明細

10

20

30

40

50

書に開示されるクラス、サブクラス、及び種ごとにさらに例示されるものを含む、化合物（例えば、 $-1, 6$ -グルカンオリゴマー及び任意のリンカー）を包含する。本明細書で各変動要素に記載された好ましい部分集合は、構造部分集合のいずれかにも同様に使用できるものと理解されたい。本明細書で使用される場合、以下の定義は、特に記載のない限り、このような化合物に適用されるものとする。

【0034】

本明細書に記載されるように、本発明において使用される化合物は、上に一般的に例示されるような、または本発明の特定のクラス、サブクラス、及び種ごとに例示されるような、1つ以上の置換基で場合により置換されていてもよい。「場合により置換される」という語句は、「置換または非置換」という語句と同義に使用されるものと理解されたい。一般に、用語「置換される」とは、用語「場合により」が先行するか否かにかかわらず、その置換の結果、安定なまたは化学的に実現可能な化合物をもたらすという条件で、指定部分の水素ラジカルが特定の置換基のラジカルで置換されることを意味する。指定された原子に関連して使用されるとき、用語「置換可能な」とは、その原子に結合したものが水素ラジカルであり、水素原子を好適な置換基のラジカルで置換できることを意味する。特に記載のない限り、「場合により置換される」基は、その基の各置換可能な位置に置換基を有していてもよく、また任意の所与の構造において特定の基から選択される複数の置換基で複数の位置を置換できる場合に、置換基が位置ごとに同じであっても異なってもよい。本発明で想定される置換基の組み合わせは、好ましくは、安定なまたは化学的に実現可能な化合物の形成をもたらすものである。

【0035】

安定な化合物または化学的に実現可能な化合物とは、湿気または他の化学反応条件の不在下で、少なくとも1週間、約 $-80$  ~ 約 $+40$  の温度に維持されたときに化学構造が実質的に変化しないものであるか、または患者への治療的投与または予防的投与に有用であるに足る十分な長い期間にわたってその完全性を維持する化合物である。いくつかの実施形態では、安定な化合物または化学的に実現可能な化合物とは、約 $-80$  ~ 約 $+25$  の温度に維持されたときに化学構造が実質的に変化しないものである。いくつかの実施形態では、安定な化合物または化学的に実現可能な化合物とは、約 $-80$  ~ 約 $+4$  の温度に維持されたときに化学構造が実質的に変化しないものである。

【0036】

本明細書で使用される場合、「1つ以上の置換基」という語句は、上記の安定な及び化学的に実現可能な条件が満たされているという条件で、1つの置換基から、利用可能な結合部位の数に基づいて可能な最大数の置換基までに相当する、いくつかの置換基を指す。

【0037】

本明細書で使用される場合、用語「脂肪族」または「脂肪族基」とは、完全に飽和しているかまたは1つ以上の不飽和単位を含む、場合により置換される直鎖または分枝鎖の $C_{1-12}$ 炭化水素を意味する。例えば、好適な脂肪族基として、場合により置換される直鎖または分枝鎖のアルキル基、アルケニル基、及びアルキニル基が挙げられる。特に指定のない限り、様々な実施形態において、脂肪族基は、 $1 \sim 12$ 、 $1 \sim 10$ 、 $1 \sim 8$ 、 $1 \sim 6$ 、 $1 \sim 4$ 、 $1 \sim 3$ 、または $1 \sim 2$ 個の炭素原子を有する。

【0038】

用語「アルキル」は、単独でまたはより大きな部分の一部として使用され、 $1 \sim 12$ 、 $1 \sim 10$ 、 $1 \sim 8$ 、 $1 \sim 6$ 、 $1 \sim 4$ 、 $1 \sim 3$ 、または $1 \sim 2$ 個の炭素原子を有する飽和の、場合により置換される直鎖または分枝鎖の炭化水素基、例えば、メチル、エチル、 $n$ -プロピル、 $i$ -プロピル、 $n$ -ブチル、 $i$ -ブチル、 $s$ -ブチル、 $t$ -ブチル、 $n$ -ペンチル、 $1$ -メチルブチル、 $2$ -メチルブチル、 $3$ -メチルブチル、ネオペンチル、 $3, 3$ -ジメチルプロピル、ヘキシル、 $2$ -メチルペンチル、ヘプチルなどを指す。

【0039】

用語「アルケニル」は、単独でまたはより大きな部分の一部として使用され、少なくとも1つの二重結合を有し、 $2 \sim 12$ 、 $2 \sim 10$ 、 $2 \sim 8$ 、 $2 \sim 6$ 、 $2 \sim 4$ 、または $2 \sim 3$

10

20

30

40

50



個の炭素原子を有する、場合により置換される直鎖または分枝鎖の炭化水素基を指す。例示的なアルケニル基としては、ビニル、プロパ - 1 - エニル、プロパ - 2 - エニル、アレニル、2 - メチルプロパ - 2 - エニル、3 - メチルブタ - 2 - エニル、ブタジエニルなどが挙げられる。

#### 【0040】

用語「アルキニル」は、単独でまたはより大きな部分の一部として使用され、少なくとも1つの三重結合を有し、2 ~ 12、2 ~ 10、2 ~ 8、2 ~ 6、2 ~ 4、または2 ~ 3個の炭素原子を有する、場合により置換される直鎖または分枝鎖の炭化水素基を指す。例示的なアルキニル基として、 $\text{CH}_3 - \text{C} \equiv \text{C} -$ 、 $\text{H} - \text{C} \equiv \text{C} - \text{CH}_2 -$ 、 $\text{CH}_3 - \text{C} \equiv \text{C} - \text{CH}_2 -$ 、 $\text{H} - \text{C} \equiv \text{C} - \text{CH}_2\text{CH}_2 -$ 、 $\text{H} - \text{C} \equiv \text{C} - \text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2 -$ 、 $\text{H} - \text{C} \equiv \text{C} - \text{CH}_2 - \text{C} \equiv \text{C} - \text{CH}_2$  が挙げられる。

10

#### 【0041】

用語「アルキレン」は、二価のアルキル基を指す。「アルキレン鎖」は、ポリメチレン基、例えば  $-(\text{CH}_2)_n-$  (式中、 $n$  は正の整数、例えば、1 ~ 6、1 ~ 4、1 ~ 3、1 ~ 2、または2 ~ 3) である。場合により置換されるアルキレン鎖は、1つ以上のメチレン水素原子が場合により置換基で置換されるポリメチレン基である。好適な置換基には、置換された脂肪族基について以下に記載されるものを含み、また本明細書に記載されるものを含む。アルキレン基の2つの置換基が一緒になって環系を形成してもよいことが理解されるであろう。ある種の実施形態では、2つの置換基は一緒になって3 ~ 7員環を形成することができる。各置換基は、同じ原子にあっても、異なる原子にあってもよい。

20

#### 【0042】

用語「アルケニレン」は、二価のアルケニル基を指す。置換されたアルケニレン鎖は、1つ以上の水素原子が置換基で置換されている、少なくとも1つの二重結合を含むポリメチレン基である。好適な置換基は、置換された脂肪族基について以下に記載されるものを含む。

#### 【0043】

用語「アルキニレン」は、二価のアルキニル基を指す。置換されたアルキニレン鎖は、1つ以上の水素原子が置換基で置換されている、少なくとも1つの三重結合を含むポリメチレン基である。好適な置換基は、置換された脂肪族基について以下に記載されるものを含む。

30

#### 【0044】

用語「アリール」及び「アラ - 」は、単独でまたはより大きな部分、例えば「アラルキル」、「アラルコキシ」、または「アリールオキシアルキル」の一部として使用され、1 ~ 3個の芳香環を含んでいる、場合により置換される  $\text{C}_{6-14}$  芳香族炭化水素部分を指す。例えば、アリール基は、 $\text{C}_{6-10}$  アリール基 (例えば、フェニル及びナフチル) である。アリール基には、限定されないが、場合により置換されるフェニル、ナフチル、アントラセニル、及びフェナントレニルを含む。本明細書で使用される場合、用語「アリール」及び「アラ - 」にはまた、アリール環が1つ以上の脂環式環と縮合されて、場合により置換される環構造を形成する基も含む (例えば、2, 3 - ジヒドロインデニル; 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフタレニル; 1, 2 - ジヒドロナフタレニル; 2, 3 - ジヒドロナフタレニル; 8, 10 - ジヒドロアントラセニル、フルオレニルなど)。

40

#### 【0045】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアルキル」は、1つ以上の官能基で場合により置換されており、炭素原子の代わりに、1つ以上の酸素原子、硫黄原子、窒素原子、リン原子、またはケイ素原子を含んでいる、本明細書に定義される直鎖、分枝鎖、及び環状のアルキル基を指す。類似する規則は、「ヘテロアルケニル」、「ヘテロアルキニル」などの他の一般用語にも適用される。さらに、本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアルキル」、「ヘテロアルケニル」、「ヘテロアルキニル」などは、置換基及び非置換基の両方を包含する。

#### 【0046】

50

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロ環」、「ヘテロシクリル」、「複素環ラジカル」、及び「複素環」は同義に使用され、飽和または部分不飽和のいずれかであり、炭素原子に加えて、1つ以上、例えば1～4個の上で定義されたようなヘテロ原子を有する、安定な3～8員単環または7～10員二環のヘテロ環部分を指す。ヘテロ環の環原子に関して使用される場合、用語「窒素」は置換された窒素を含む。例として、酸素、硫黄、または窒素から選択される0～3個のヘテロ原子を有する飽和または部分不飽和の環において、窒素は(3, 4-ジヒドロ-2H-ピロリルにおける)N、(ピロリジニルにおける)NH、または(N-置換ピロリジニルにおける)NR<sup>+</sup>であり得る。

#### 【0047】

複素環は、任意のヘテロ原子または炭素原子でそのペンダント基に結合されて安定な構造をもたらすことができ、また環原子のいずれかが場合により置換されていてもよい。そのような飽和または部分不飽和の複素環ラジカルの例としては、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロチエニル、ピペリジニル、デカヒドロキノリニル、オキサゾリジニル、ピペラジニル、ジオキサニル、ジオキサラニル、ジアゼピニル、オキサゼピニル、チアゼピニル、モルホリニル、及びチアモルホリニルが挙げられるが、これらに限定されない。ヘテロシクリル基は、単環式、二環式、三環式、または多環式、好ましくは単環式、二環式または三環式、より好ましくは単環式または二環式であり得る。用語「ヘテロシクリルアルキル」とは、ヘテロシクリルで置換されているアルキル基を指し、アルキル及びヘテロシクリル部分は独立して場合により置換される。さらに、複素環には、複素環が1つ以上のアリール環と縮合されている基も含む。

#### 【0048】

用語「ヘテロアリール」及び「ヘテロアラ-」は、単独でまたはより大きな部分、例えば「ヘテロアラルキル」または「ヘテロアラルコキシ」の一部として使用され、5～14個の環原子、好ましくは5、6、9、または10個の環原子を有する基；一連の環で共有される6、10、または14個の電子を有する基；及び炭素原子に加えて、1～5個のヘテロ原子を有する基を指す。ヘテロアリール基は、単環式、二環式、三環式、または多環式、例えば、単環式、二環式、または三環式（例えば、単環式または二環式）であり得る。用語「ヘテロ原子」とは、窒素、酸素、または硫黄を指し、窒素または硫黄の何らかの酸化形態及び塩基性窒素の何らかの四級化形態を含む。例えば、ヘテロアリールの窒素原子は塩基性窒素原子であってよく、また場合により対応するN-オキシドに酸化されていてもよい。ヘテロアリールがヒドロキシ基で置換されている場合、ヘテロアリールにはその対応する互変異性体も含まれる。本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアリール」及び「ヘテロアラ-」にはまた、芳香族複素環が1つ以上のアリール環、脂環式環、またはヘテロ脂環式環と縮合されている基も含む。ヘテロアリール基の非限定的な例としては、チエニル、フラニル、ピロリル、イミダゾリル、ピラゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、オキサジアゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、チアジアゾリル、ピリジニル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、インドリジニル、プリニル、ナフチリジニル、プテリジニル、インドリル、イソインドリル、ベンゾチエニル、ベンゾフラニル、ジベンゾフラニル、インダゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンズチアゾリル、キノリル、イソキノリル、シンノリニル、フタラジニル、キナゾリニル、キノキサリニル、4H-キノリジニル、カルバゾリル、アクリジニル、フェナジニル、フェノチアジニル、フェノキサジニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、及びピリド[2, 3-b]-1, 4-オキサジン-3(4H)-オンが挙げられる。用語「ヘテロアリール」は、用語「ヘテロアリール環」、「ヘテロアリール基」、または「ヘテロ芳香族」と同義に使用されてもよく、そのいずれの用語も場合により置換されている環を含む。用語「ヘテロアラルキル」とは、ヘテロアリールで置換されているアルキル基を指し、アルキル及びヘテロアリール部分は独立して場合により置換されている。

#### 【0049】

アリール（アラルキル、アラルコキシ、アリールオキシアルキルなどを含む）またはヘ

テロアリアル（ヘテロアラルキル及びヘテロアリアルアルコキシなどを含む）基は、1つ以上の置換基を含んでいてもよく、したがって「場合により置換され」ていてもよい。上記及び本明細書で定義した置換基に加えて、アリアル基またはヘテロアリアル基の不飽和炭素原子の好適な置換基はまた、 $-H$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-R^+$ 、 $-C(R^+)=C(R^+)_2$ 、 $-C(R^+)-C(R^+)-R^+$ 、 $-OR^+$ 、 $-SR^+$ 、 $-S(O)R^+$ 、 $-SO_2R^+$ 、 $-SO_3R^+$ 、 $-SO_2N(R^+)_2$ 、 $-N(R^+)_2$ 、 $-NR^+C(O)R^+$ 、 $-NR^+C(S)R^+$ 、 $-NR^+C(O)N(R^+)_2$ 、 $-NR^+C(S)N(R^+)_2$ 、 $-N(R^+)C(=NR^+)-N(R^+)_2$ 、 $-N(R^+)C(=NR^+)-R^+$ 、 $-NR^+CO_2R^+$ 、 $-NR^+SO_2R^+$ 、 $-NR^+SO_2N(R^+)_2$ 、 $-O-C(O)R^+$ 、 $-O-CO_2R^+$ 、 $-OC(O)N(R^+)_2$ 、 $-C(O)R^+$ 、 $-C(S)R^+$ 、 $-CO_2R^+$ 、 $-C(O)-C(O)R^+$ 、 $-C(O)N(R^+)_2$ 、 $-C(S)N(R^+)_2$ 、 $-C(O)N(R^+)-OR^+$ 、 $-C(O)N(R^+)C(=NR^+)-N(R^+)_2$ 、 $-N(R^+)C(=NR^+)-N(R^+)-C(O)R^+$ 、 $-C(=NR^+)-N(R^+)_2$ 、 $-C(=NR^+)-OR^+$ 、 $-N(R^+)-N(R^+)_2$ 、 $-C(=NR^+)-N(R^+)-OR^+$ 、 $-C(R^+)=N-OR^+$ 、 $-P(O)(R^+)_2$ 、 $-P(O)(OR^+)_2$ 、 $-O-P(O)-OR^+$ 、及び $-P(O)(NR^+)-N(R^+)_2$ を含み、また一般にそれらから選択され、ここで、 $R^+$ は独立して水素もしくは場合により置換される脂肪族基、アリアル基、ヘテロアリアル基、脂環式基、もしくはヘテロシクリル基であるか、または2つの独立して存在する $R^+$ が、その介在原子（複数可）とともに、場合により置換される5～7員のアリアル環、ヘテロアリアル環、脂環式環、またはヘテロシクリル環を形成する。各 $R^+$ は、場合により置換される脂肪族基、アリアル基、ヘテロアリアル基、脂環式基、またはヘテロシクリル基である。

#### 【0050】

脂肪族基もしくはヘテロ脂肪族基、または非芳香族炭素環もしくは複素環は、1つ以上の置換基を含んでいてもよく、したがって「場合により置換され」ていてもよい。上記及び本明細書で特に定義されない限り、脂肪族基もしくはヘテロ脂肪族基、または非芳香族炭素環もしくは複素環の飽和炭素に対する好適な置換基は、アリアル基またはヘテロアリアル基の不飽和炭素について上に列挙したものから選択され、加えて、 $=O$ 、 $=S$ 、 $=C(R^*)_2$ 、 $=N-N(R^*)_2$ 、 $=N-OR^*$ 、 $=N-NHC(O)R^*$ 、 $=N-NHCO_2R^+$ 、 $=N-NHSO_2R^+$ 、または $=N-R^*$ を含み、式中、 $R^+$ は上に定義された通りであり、各 $R^*$ は独立して、水素または場合により置換される $C_{1-6}$ 脂肪族基から選択される。

#### 【0051】

上記及び本明細書で定義した置換基に加えて、非芳香族複素環の窒素に対する任意の置換基はまた、 $-R^+$ 、 $-N(R^+)_2$ 、 $-C(O)R^+$ 、 $-C(O)OR^+$ 、 $-C(O)C(O)R^+$ 、 $-C(O)CH_2C(O)R^+$ 、 $-S(O)_2R^+$ 、 $-S(O)_2N(R^+)_2$ 、 $-C(S)N(R^+)_2$ 、 $-C(=NH)-N(R^+)_2$ 、または $-N(R^+)S(O)_2R^+$ （式中、各 $R^+$ は、上に定義された通り）を含み、また一般にそれらから選択される。ヘテロアリアル環または非芳香族複素環の環窒素原子はまた、酸化されて、対応する $N$ -ヒドロキシまたは $N$ -オキシド化合物を形成し得る。酸化された環窒素原子を有するそのようなヘテロアリアル環の非限定的な例は、 $N$ -オキシドピリジルである。

#### 【0052】

上で詳述したように、いくつかの実施形態では、2つの独立して存在する $R^+$ （または本明細書及び特許請求の範囲で同様に定義される任意の他の変動要素）が、その介在原子（複数可）とともに、3～13員脂環式、窒素、酸素、もしくは硫黄から独立して選択される1～5個のヘテロ原子を有する3～12員ヘテロシクリル、6～10員アリアル、または窒素、酸素、もしくは硫黄から独立して選択される1～5個のヘテロ原子を有する5～10員ヘテロアリアルから選択される単環または二環を形成する。

#### 【0053】

2つの独立して存在する $R^+$ （または本明細書及び特許請求の範囲で同様に定義される

10

20

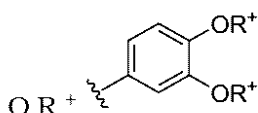
30

40

50

任意の他の変動要素)が、その介在原子(複数可)と一緒にする場合に形成される例示的な環として、以下が挙げられるが、これらに限定されない：a) 同じ原子に結合した2つの独立した $R^+$ (または本明細書または特許請求の範囲で同様に定義される任意の他の変動要素)が、その原子とともに形成する環。例えば $N(R^+)_2$ であり、ここで、存在する $R^+$ はいずれも窒素原子とともにピペリジン-1-イル、ピペラジン-1-イル、またはモルホリン-4-イル基を形成する；及びb) 異なる原子に結合した2つの独立した $R^+$ (または本明細書または特許請求の範囲で同様に定義される任意の他の変動要素)が、これら両方の原子とともに形成する環。例えば、フェニル基が2つの存在する

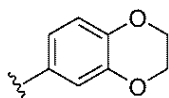
#### 【化8】



10

で置換されている場合、これらの2つの存在する $R^+$ は、それらが結合する酸素原子とともに含酸素縮合6員環

#### 【化9】



20

を形成する。2つの独立して存在する $R^+$ (または本明細書及び特許請求の範囲で同様に定義される任意の他の変動要素)は、その介在原子(複数可)とともに他の様々な環(例えばスピロ環及び架橋環)を形成することができ、上に詳述した例は限定を意図しないものと理解されたい。

#### 【0054】

特に記載のない限り、本明細書で示される構造はまた、その構造のすべての異性体(例えば、エナンチオマー、ジアステレオマー、及び幾何学的(または立体配座))型、例えば、各不斉中心のR及びS配置、(Z)及び(E)二重結合異性体、ならびに(Z)及び(E)立体配座異性体を含むことを意図する。したがって、本発明の化合物の単一の立体化学異性体、ならびにエナンチオマー、ジアステレオマー、及び幾何学的(または立体配座)混合物は、本発明の範囲内である。特に記載のない限り、本発明の化合物のすべての互変異性型が本発明の範囲内である。加えて、特に記載のない限り、本明細書で示される構造はまた、1つ以上の同位体濃縮原子の存在のみが異なる化合物を含むことを意図する。例えば、水素の代わりに重水素もしくは三重水素が存在する、または炭素の代わりに $^{13}C$ もしくは $^{14}C$ 濃縮炭素が存在する本構造を有する化合物は本発明の範囲内である。そのような化合物は、非限定的な例として、生物学的アッセイにおける分析ツールまたはプローブとして有用である。

30

#### 【図面の簡単な説明】

40

#### 【0055】

【図1】トラスツズマブ、HER2-mAbXcite(5量体)、及びHER2-mAbXcite(6量体)のHER2結合能を試験するELISAの結果を示す。

【図2】トラスツズマブ、HER2-mAbXcite(5量体)、及びHER2-mAbXcite(6量体)でのヒト抗-1,6-グルカンの存在を検出するELISAの結果を示す。

【図3】トラスツズマブ抵抗性ヒト細胞株JIMT-1を移植したヌードマウスモデルにおける、トラスツズマブ、HER2-mAbXcite(5量体)、HER2-mAbXcite(6量体)、及びKadcyla(登録商標)(T-DM1)の有効性試験の腫瘍サイズ平均の結果を示す。

50

【図 4】トラスツズマブ抵抗性ヒト細胞株 J I M T - 1 を移植したヌードマウスモデルにおける、トラスツズマブ、H E R 2 - m A b X c i t e ( 5 量体 )、H E R 2 - m A b X c i t e ( 6 量体 )、及び K a d c y l a ( 登録商標 ) ( T - D M 1 ) の有効性試験の腫瘍サイズ中央値の結果を示す。

【図 5】トラスツズマブ及び H E R 2 - m A b X c i t e ( 6 量体 ) による処置後 3 7 日目のトラスツズマブ抵抗性ヒト細胞株 J I M T - 1 を移植したヌードマウスモデルにおける、腫瘍の腫瘍サイズ平均を示す。

【図 6】トラスツズマブ及び H E R 2 - m A b X c i t e ( 6 量体 ) による処置後 5 1 日目のトラスツズマブ抵抗性ヒト細胞株 J I M T - 1 を移植したヌードマウスモデルにおける、腫瘍の腫瘍サイズ平均を示す。

【図 7】 - 1 , 6 - グルカンのコンジュゲーションがセツキシマブの E G F 受容体への結合に影響を及ぼさないことを示すグラフである。

【図 8】 - 1 , 6 - グルカンのコンジュゲーションがセツキシマブの E G F 受容体への結合に影響を及ぼさないことを示すグラフである。

【図 9】 - 1 , 6 - グルカンのコンジュゲーションがセツキシマブの E G F 受容体への結合に影響を及ぼさないことを示すグラフである。

【図 10】 - 1 , 6 - グルカンのコンジュゲーションがセツキシマブの A D C C に影響を及ぼさないことを示すグラフである。

【図 11】 - 1 , 6 - グルカンのコンジュゲーションがセツキシマブの A D C C に影響を及ぼさないことを示すグラフである。

【図 12】m A b X c i t e - セツキシマブへの抗 - 1 , 6 - グルカン I g G 2 の結合の評価を示すチャートである。

【図 13】m A b X c i t e - セツキシマブへの抗 - 1 , 6 - グルカン I g G 2 の結合の評価を示すチャートである。

【図 14】m A b X c i t e - セツキシマブへの抗 - 1 , 6 - グルカン I g G 2 の結合の評価を示す 2 枚 1 組のグラフである。

【図 15】m A b X c i t e - セツキシマブへの抗 - 1 , 6 - グルカン I g G 2 の結合の評価を示す 3 枚 1 組のグラフである。

【図 16】m A b X c i t e - セツキシマブによる好中球活性化を示す 7 枚 1 組の画像である。好中球の活性化は、すべての - 1 , 6 - グルカンサイズで観察した。

【図 17】m A b X c i t e - セツキシマブによる好中球浸潤を示す 6 枚 1 組の画像である。

【図 18】m A b X c i t e - セツキシマブへの抗 - 1 , 6 - グルカン I g G 2 の結合の評価を示すチャートである。

【図 19】 - 1 , 6 - グルカンのコンジュゲーションがセツキシマブの E G F R への結合に影響を及ぼさないことを示す 5 枚 1 組のグラフである。

【図 20】m A b X c i t e - セツキシマブへの抗 - 1 , 6 - グルカン I g G 2 の結合の評価を示す 5 枚 1 組のグラフである。

【図 21】m A b X c i t e - セツキシマブへの抗 - 1 , 6 - グルカン I g G 2 の結合の評価を示す 4 枚 1 組のグラフである。

【図 22】m A b X c i t e - セツキシマブへの抗 - 1 , 6 - グルカン I g G 2 の結合の評価を示すグラフである。

【図 23】m A b X c i t e - セツキシマブへの抗 - 1 , 6 - グルカン I g G 2 の結合の評価を示すチャートである。

【図 24】 - 1 , 6 - グルカンのコンジュゲーションが、E G F 受容体への抗体の結合及び - 1 , 6 - グルカンへの抗 - 1 , 6 - グルカン I g G 2 の結合に与える効果を示す 2 枚 1 組のグラフである。図 1 8 のグラフ 1 は、コンジュゲーションが、E G F 受容体に結合する抗体に与える効果を示す。図 1 8 のグラフ 2 は、コンジュゲーションが、 - 1 , 6 - グルカンへの抗 - 1 , 6 - グルカン I g G 2 の結合に与える効果を示す。

【図 25】m A b X c i t e - セツキシマブがヒト血清中で安定であることを示す 2 枚 1

10

20

30

40

50

組のグラフである。図 19 の左のグラフは、ヒト血清での抗体検出を示す。図 19 の右のグラフは、ヒト血清での - 1 , 6 - グルカンの検出を示す。

【図 26】m A b X c i t e - セツキシマブがマウス血清中で安定であることを示す 2 枚 1 組のグラフである。図 20 の左のグラフはマウス血清での抗体検出を示す。図 20 の右のグラフは、マウス血清での - 1 , 6 - グルカンの検出を示す。

【図 27】m A b X c i t e - セツキシマブがヒト血清中で安定であることを示す 2 枚 1 組のグラフである。図 21 の左のグラフは、ヒト血清での抗体検出を示す。図 21 の右のグラフは、ヒト血清での - 1 , 6 - グルカンの検出を示す。

【図 28】m A b X c i t e - セツキシマブが熱不活性化ヒト血清中で安定であることを示す 2 枚 1 組のグラフである。図 22 の左のグラフは、熱不活性化ヒト血清での抗体検出を示す。図 22 の右のグラフは、熱不活性化ヒト血清での - 1 , 6 - グルカンの検出を示す。

10

【図 29】m A b X c i t e - セツキシマブがマウス血清中で安定であることを示す 2 枚 1 組のグラフである。図 23 の左のグラフはマウス血清での抗体検出を示す。図 23 の右のグラフは、マウス血清での - 1 , 6 - グルカンの検出を示す。

【図 30】薬物動態試験で試験した m A b X c i t e - セツキシマブの *in vitro* 活性 ( 抗 - 1 , 6 - グルカン I g G 2 結合 ) の評価を示すチャートである。

【図 31】腫瘍がないときの m A b X c i t e - セツキシマブの薬物動態学的な抗体安定性を示すグラフである。グラフは、 - 1 , 6 - グルカンの 5 量体とのコンジュゲーションがセツキシマブの P K に影響を及ぼさないことを示す。

20

【図 32】腫瘍がないときの m A b X c i t e - セツキシマブの薬物動態学的な抗体安定性を示すグラフである。グラフは、 - 1 , 6 - グルカンの 5 量体とのコンジュゲーションがセツキシマブの P K に影響を及ぼさないことを示す。

【図 33】腫瘍がないときの - 1 , 6 - グルカン検出の薬物動態分析を示すグラフである。

【図 34】腫瘍がないときの - 1 , 6 - グルカン検出の薬物動態分析を示すグラフである。

【図 35】腫瘍がないときの - 1 , 6 - グルカン検出の薬物動態分析を示すグラフである。

【図 36】腫瘍がないときの m A b X c i t e - セツキシマブ安定性の薬物動態分析を示すグラフである。 - 1 , 6 - グルカンの 5 量体を負荷した m A b X c i t e - セツキシマブは、最大 2 . 4 の負荷での P K を基準として安定であった。

30

【図 37】腫瘍がないときの m A b X c i t e - セツキシマブ安定性の薬物動態分析を示すグラフである。

【図 38】腫瘍がないときの m A b X c i t e - セツキシマブ安定性の薬物動態分析を示すグラフである。

【図 39】腫瘍がないときの - 1 , 6 - グルカン検出の薬物動態分析を示すグラフである。

【図 40】腫瘍がないときの - 1 , 6 - グルカン検出の薬物動態分析を示すグラフである。

40

【図 41】腫瘍がないときの - 1 , 6 - グルカン検出の薬物動態分析を示すグラフである。

【図 42】腫瘍のある動物における m A b X c i t e - セツキシマブの薬物動態を示す 2 枚 1 組のグラフである。左のグラフは、腫瘍のある動物における m A b X c i t e - セツキシマブの抗体検出を示す。右のグラフは、腫瘍のある動物における - 1 , 6 - グルカンの検出を示す。

【図 43】腫瘍のある動物における m A b X c i t e - セツキシマブの薬物動態を示す 2 枚 1 組のグラフである。左のグラフは、腫瘍のある動物における m A b X c i t e - セツキシマブの抗体検出を示す。右のグラフは、腫瘍のある動物における - 1 , 6 - グルカンの検出を示す。

50

【図44】腫瘍がないとき、または腫瘍のあるマウスでの - 1 , 6 - グルカン検出の薬物動態分析を示す2枚1組のグラフである。左のグラフは、腫瘍のあるマウスにおける - 1 , 6 - グルカン検出の薬物動態分析を示す。右のグラフは、腫瘍がないときの - 1 , 6 - グルカン検出の薬物動態分析を示す。

【図45】mAbXcite - セツキシマブの薬物動態分析を示す2枚1組のグラフである。左のグラフは、mAbXcite - セツキシマブの抗体検出を示す。右のグラフは、 - 1 , 6 - グルカンの検出を示す。

【図46】週2回の処置によるmAbXcite - セツキシマブ蓄積の薬物動態分析を示す2枚1組のグラフである。左のグラフは、mAbXcite - セツキシマブの抗体検出を示す。右のグラフは、 - 1 , 6 - グルカンの検出を示す。週2回の処置で蓄積は観察されなかった。

10

【図47】腫瘍のある動物におけるmAbXcite - セツキシマブの薬物動態分析を示す2枚1組のグラフである。左のグラフは抗体の安定性を示す。右のグラフは、 - 1 , 6 - グルカンの検出を示す。

【図48】腫瘍がないとき、または腫瘍のあるマウスでのmAbXcite - セツキシマブ安定性の薬物動態分析を示す2枚1組のグラフである。左のグラフは、腫瘍のあるマウスにおける抗体の安定性を示す。右のグラフは、腫瘍がないときの抗体の安定性を示す。

【図49】腫瘍がないとき、または腫瘍のあるマウスでのmAbXcite - セツキシマブの薬物動態分析を示す2枚1組のグラフである。左のグラフは、腫瘍のあるマウスにおける - 1 , 6 - グルカンの検出を示す。右のグラフは、腫瘍がないときの - 1 , 6 - グルカンの検出を示す。

20

【図50】DBCOまたは直接コンジュゲーション化学物質を有するmAbXcite - セツキシマブを比較する薬物動態分析を示す2枚1組のグラフである。左のグラフは抗体の安定性を示す。右のグラフは、 - 1 , 6 - グルカンの検出を示す。

【図51】BRAF変異型大腸腫瘍モデルにおけるmAbXcite - セツキシマブの有効性を示すグラフである。

【図52】BRAF変異型大腸腫瘍モデルにおけるmAbXcite - セツキシマブの有効性を示すグラフである。

【図53】BRAF変異型大腸腫瘍モデルにおけるmAbXcite - セツキシマブの有効性を示すグラフである。

30

【図54】KRAS変異型大腸腫瘍モデルにおけるmAbXcite - セツキシマブの有効性を示すグラフである。

【図55】KRAS変異型大腸腫瘍モデルにおけるmAbXcite - セツキシマブの有効性を示すグラフである。

【図56】mAbXcite - セツキシマブがKRAS変異型大腸腫瘍の増殖を阻害することを示すグラフである。

【図57】mAbXcite - セツキシマブがKRAS変異型大腸腫瘍の増殖を阻害することを示すグラフである。

【図58】mAbXcite - セツキシマブがKRAS変異型大腸腫瘍の増殖を阻害することを示すグラフである。

40

【図59】mAbXcite - セツキシマブがKRAS変異型大腸腫瘍の増殖を阻害することを示すグラフである。

【図60】mAbXcite - セツキシマブがKRAS変異型大腸腫瘍の増殖を阻害することを示すグラフである。

【図61】mAbXcite - セツキシマブがKRAS変異型大腸腫瘍の増殖を阻害することを示すグラフである。

【図62】mAbXcite - セツキシマブがKRAS変異型大腸腫瘍の増殖を阻害することを示すグラフである（平均）。

【図63】mAbXcite - セツキシマブがKRAS変異型大腸腫瘍の増殖を阻害することを示すグラフである（中央値）。

50

【図 6 4】K R A S 変異型大腸癌異種移植モデルにおいて m A b X c i t e - セツキシマブが生存を延長させることを示すグラフである。

【図 6 5】腫瘍の退縮または停滞が直接コンジュゲート m A b X c i t e - セツキシマブで観察され、免疫記憶と関連することを示す 6 枚 1 組のグラフである。個々のグラフは個々のマウスを表す。

【図 6 6】4 量体 D B C O の m A b X c i t e - セツキシマブコンジュゲートでは、腫瘍の退縮または停滞が見られないことを示す 5 枚 1 組のグラフである。個々のグラフは個々のマウスを表す。

【図 6 7】停滞への T 細胞の関与に関する証拠を示すグラフである。

【図 6 8】K R A S 変異型大腸腫瘍の増殖を示すグラフである。

10

【図 6 9】K R A S 変異型大腸腫瘍の増殖を示すグラフである。

【図 7 0】K R A S 変異型大腸腫瘍の増殖を示すグラフである。

【図 7 1】K R A S 変異型大腸腫瘍の増殖を示すグラフである。

【図 7 2】腫瘍増殖の平均を示すグラフである。

【図 7 3】腫瘍増殖の中央値を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 5 6 】

発明の詳細

本発明は、治療用抗体が - 1 , 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされている実施形態を包含する。したがって、本発明には、特に、1 つ以上の - 1 , 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされた治療用抗体を含む組成物が含まれる。本発明は、特に、これらの - 1 , 6 - グルカンコンジュゲートを製造及び/または使用方法をさらに含む。ある種の実施形態では、本発明の - 1 , 6 - グルカンコンジュゲートは、治療薬としてまたは治療方法において有用である。

20

【 0 0 5 7 】

治療用抗体

モノクローナル抗体は様々ながんの治療に有用である。抗体には、細胞表面部分を標的とするものがある。抗体には、2 本の重鎖及び 2 本の軽鎖を含むものがある。表 I に列举される重鎖配列及び軽鎖配列は当技術分野で公知である。さらに、可変ドメイン、定常ドメイン、C D R、及び F W など、重鎖及び軽鎖ドメイン内の種々のドメインが当技術分野で公知である。表 I には、そこに列举される配列の出典をいくつか記載している。出典の内容はすべて、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

30

【表 1 - 1】

表 I : 例示的な治療用抗体配列

抗体 (登録名)	標的	配列
-------------	----	----

40

50



【表 1 - 2】

抗体 (登録名)	標的	配列
セルグツズ マブ	CEACAM5	<p>出典: drugspider. com/ drug/ cergutuzumab- amunaleukin 重鎖、配列番号 49</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEW MGWINTKTGEATYVEEFKGRVFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARWDFAYYVEAMDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> <p>軽鎖、配列番号 50</p> <p>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASAAVGTYYVAWYQQKPGKAPKLL IYSASYRKRGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCHQYYTY PLFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
イブリツモ マブチウキ セタン (Zevalin( 登 録商標))	CD20	<p>出典: www. drugbank. ca/ drugs/ DB00078 重鎖、配列番号 51</p> <p>QAYLQSGAELVRPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPRQGLEW IGAIYPGNGDSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVY FCARVYYYSNSYWFYFDVWGTGTTTVTSAPSVYPLAPVCGDITGSSVT LGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTIT SSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLL GGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVDVSEDDPDVQISWVNNV EVHTAQTTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMGKEFKCKVNNKDLP APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKQVTLTCMVTDFMPED IYVEWTNNGKTELNYKNTPEVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSR</p> <p>軽鎖、配列番号 52</p> <p>QIVLSQSPAILASAPGEKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPGSSPKPWI YAPSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWSFNP PTFGAGTKLELKRADAAPTTFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFN</p>

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

抗体 (登録名)	標的	配列
リツキシマ ブ (Rituxan(登録商標))	CD20	<p>出典:エラー!ハイパーリンクの参照に誤りがあります。www.drugbank.ca/drugs/DB00073</p> <p>重鎖、配列番号 53</p> <p>QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEW IGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVY YCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKAEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> <p>軽鎖、配列番号 54</p> <p>QIVLSQSPAILASAPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKPGSSPKPWI YATSNLASGVPRFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQWTSNP PTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
トシツモマ ブ (Bexxar(登録商標))	CD20	<p>出典:www.drugbank.ca/drugs/DB00081</p> <p>重鎖、配列番号 55</p> <p>QAYLQQSGAELVRPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPRGLEW IGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVY FCARVVYYSNSYWFYFDVWGTTVTVSGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKAEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> <p>軽鎖、配列番号 56</p> <p>QIVLSQSPAILASAPGEKVTMTCRASSSVSYMHVYQQKPGSSPKPWI YAPSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQWFSNP PTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR</p>

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

抗体 (登録名)	標的	配列
ゲムツズマ ブオゾガマ イシン (Mylotarg( 登録商標)) カリケアマ イシンのク ラス由来の 細胞毒性薬 に結合され た、CD33 対 するモノク ローナル抗 体	CD33	出典:www. drugbank. ca/drugs/DB00056 重鎖 No. 1、配列番号 57 QVQLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYTFTSYRMHWVKQRPQGGLWE IGYINPSTGYTEYNQKFKDKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVY YCARGGGVFDYWGGTTTLTVSS 重鎖 No. 2、配列番号 58 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSRSALIIWVRQAPQGGLWE MGGIVPMFGPPNYAQKFQGRVTITADESTNTAYMELSSLRSEDTAFY FCAGGYGIYSPEEYNGGLTVSS 軽鎖 No. 1、配列番号 59 QIVLTQSPAISASPGEKVTITCSASSSISYMHWFQKPGTSPKLWI YTTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCHQRSTYP LTFGSGTKLELK 軽鎖 No. 2、配列番号 60 DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSINTWLAWYQQKPGKAPKLL MYKASSLESQVPSRFISGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYNSD SKMFGQGTKVEVK
アレムツズ マブ (Campath( 登 録商標))	CD52 成熟リンパ球 の表面には存 在するが、こ れらのリンパ 球が由来する 幹細胞には存 在しないタン パク質	出典:www. drugbank. ca/drugs/DB00087 重鎖、配列番号 61 QVQLQESGGLVRPSQTLSTCTVSGFTFTDFYMNWVRQPPGRGLEW IGFIRDKAKGYTTEYNPSVKGRVTMLVDTSKNQFSLRLSSVTAADTA VYYCAREGHTAAPFDYWGGSLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK 軽鎖、配列番号 62 DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNIIDKYLNWYQQKPGKAPKLL IYNTNNLQTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISLQPEDIAATYYCLQHISR PRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
セツキシマ ブ (Erbix( 登 録商標))	EGFR	表 II を参照

10

20

30

40

50

【表 1 - 5】

抗体 (登録名)	標的	配列
パニツムマ ブ (Vectibix( 登録商標))	EGFR	出典: 米国特許第 6, 235, 883 号の PTE 出願 重鎖、配列番号 63 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGL EWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLTISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAI YYCVRDRVTGAFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPCPAPPVAG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSNKGLPAP IEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG 軽鎖、配列番号 64 DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLL IYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYFCQHFHDL PLAFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
		出典: drugspider. com/ drug/ depatuxizumab 重鎖、配列番号 65 QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYSISSDFAWNWIQPPGKGLE WMGYISYSGNTRYQPSLKSRLTISRDTSKNQFFLKLNSVTAADTATY YCVTAGRGFPYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK 軽鎖、配列番号 66 DIQMTQSPSSMSVSGDRTITCHSSQDINSNIGWLQQKPGKSFKGL IYHGTLNDDGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCVYQAF PWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
デパツキシ ズマブ	EGFRVIII	出典: drugspider. com/ drug/ depatuxizumab 重鎖、配列番号 65 QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYSISSDFAWNWIQPPGKGLE WMGYISYSGNTRYQPSLKSRLTISRDTSKNQFFLKLNSVTAADTATY YCVTAGRGFPYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK 軽鎖、配列番号 66 DIQMTQSPSSMSVSGDRTITCHSSQDINSNIGWLQQKPGKSFKGL IYHGTLNDDGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCVYQAF PWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

抗体 (登録名)	標的	配列
シブロツズ マブ	FAP	<p>出典: www. imgt. org/ mAb- DB/ mAbcard? AbId= 285; 米 国 特許出願公開第 20030103968 号及び PCT 特許出願公開 第 WO 99/57151 号 重鎖、配列番号 67            QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSRYTFTEYTIHWVRQAPGQRLEW            IGGINPNNGIPNYNQKFKGRVTITVDTSASTAYMELSSLRSED TAVY            YCARRRIAYGYDEGHAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS            TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS            LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP            CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF            NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK            VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV            KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR            WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK            軽鎖、配列番号 68            DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLYSRNQKNYLAWYQQKPG            QPPKLLIFWASTRESGVPDRFSGSGFGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC            QQYFSYPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL            LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLS            KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
コドリツズ マブ	Glycipan-3	<p>出典: www. imgt. org/ mAb- DB/ mAbcard? AbId= 466; 米 国 特許第 7, 867, 734 号 重鎖、配列番号 69            QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGGLEW            MGALDPKTDGTAYSQKFKGRVTLTADKSTSTAYMELSSLTSED TAVY            YCTRFYSYTYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG            CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP            SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG            PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV            HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP            IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP            SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC            SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK            軽鎖、配列番号 70            DVVMTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSQSLVHSNRNTYLHWYLQKPGQ            SPQLLIYKVSNRFGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCS            QNTHVPPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL            NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK            ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>

10

20

30

40

50

【表 1 - 7】

抗体 (登録名)	標的	配列
トラスツズ マブ (Herceptin( 登録商標))	HER2/neu	表 III を参照
パトリツマ ブ	Her3	<p>出 典: <a href="http://www.ebi.ac.uk/chembl/compound/inspect/CHEMBL2109406">www.ebi.ac.uk/chembl/compound/inspect/CHEMBL2109406</a> 重鎖、配列番号 71</p> <p>QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEW IGEINHSGSTNYPNPSLKSRTISVETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY CARDKWTWYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> <p>軽鎖、配列番号 72</p> <p>DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSNRNYLAWYQQNPG QPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQYYSTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLS KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>

10

20

30

40

50

【表 1 - 8】

抗体 (登録名)	標的	配列
フィギツム マブ	IGF1R (インスリン 様成長因子-1 受容体)	出 典: <a href="http://www.ebi.ac.uk/chembl/compound/inspect/CHEMBL1743019">www.ebi.ac.uk/chembl/compound/inspect/CHEMBL1743019</a> 重鎖、配列番号 73 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYAMNWRQAPGKGLEW VSAISGSGGTTFYADSVKGRFTISRDNSTTLTLQMNSLRAEDTAVY YCAKDLGWSDSYIIYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSN KGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG 軽鎖、配列番号 74 DIQMTQFPPSLSASVGRVTITCRASQGIKNDLGWYQQKPKAPKRL IYAASRLHRGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSY PCSFQGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
		出典: <a href="http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?dr:D09908">www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?dr:D09908</a> 重鎖、配列番号 75 QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSNWWSWRQPPGKGLE WIGEIIYHSGSTNYPNPSLKSRTISVDKSKNQFSLKLSVTAADTAVY YCARWTGRDAFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK 軽鎖、配列番号 76 DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHSNGYNYLDWYLQKPGQ SPQLLIYLGSNRASGVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCM QGTHWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
ガニツマブ	IGF1R	出典: <a href="http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?dr:D09908">www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?dr:D09908</a> 重鎖、配列番号 75 QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSNWWSWRQPPGKGLE WIGEIIYHSGSTNYPNPSLKSRTISVDKSKNQFSLKLSVTAADTAVY YCARWTGRDAFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK 軽鎖、配列番号 76 DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHSNGYNYLDWYLQKPGQ SPQLLIYLGSNRASGVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCM QGTHWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

【表 1 - 9】

抗体 (登録名)	標的	配列
カンツズマ ブ	Muc1 (CanAg)	<p>出典:www.kegg.jp/dbget-bin/www_bget?dr:D10454 重鎖、配列番号 77</p> <p>XVQLVQSGAEVKKPGETVKISCKASDYFTYYGMNWKQAPGQGLKW MGWIDTTTGEPTYAQKFQGRIAFSLETSASTAYLQIKSLKSEDTATY FCARRGPYNWYFDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> <p>軽鎖、配列番号 78</p> <p>DIVMTQSPLSVPVTPGEPVSISSRSSKSLLSNGNTYLYWFLQRPQG SPQLLIYRMSNLVSGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCL QHLEYPFTFGPGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
ABX-MA1	MUC18	<p>出典:米国特許第 6,924,360 号 重鎖、配列番号 79</p> <p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEW IGYIYYTWSNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYY CARDQGQWLLPDAFDIWGGQGMVTVSS</p> <p>軽鎖、配列番号 80</p> <p>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLRSNGYNYLDWYLQKPGQ SPHLLIYLGSNRASGVDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCM QAQQSPITFGQGTREIK</p>

10

20

30

40

50



【表 1 - 10】

抗体 (登録名)	標的	配列
バビツキシ マブ	ホスファチジ ルセリン (PS)	<p>出典:エラー!ハイパーリンクの参照に誤りがあ ります。www.drugbank.ca/drugs/DB05136</p> <p>重鎖、配列番号 81</p> <p>EVQLQQSGPELEKPGASVKLSCKASGYSFTGYNMNWVKQSHGKSLEW IGHIDPYYGDTSYNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVY YCVKGGYYGHWYFDVWGAGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> <p>軽鎖、配列番号 82</p> <p>DIQMTQSPSSLSASLGERVSLTCRASQDIGSSLNWLQQGPDGTIKRL IYATSSLD SGVPKRFSGSRSGSDYSLTISSESEDFVDYYCLQYVSS PPTFGAGTKLELKRADAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSPVTKSFNRGEC</p>
J591	PSMA (前立腺 特異的膜抗 原)	<p>出典:米国特許第 7, 666, 414 号</p> <p>重鎖、配列番号 83</p> <p>EVQLQQSGPELKKPGTSVRISCKTSWVKQSHGKSLEWIGKATLTVDK SSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCAAWGQGTTTLTVSS</p> <p>軽鎖、配列番号 84</p> <p>DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSIICWYQQKPGQSPKLLIYGVPDRFTGS GSGTDFTLTITNVQSEDLADYFCFGAGTMLDLK</p>

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 1】

抗体 (登録名)	標的	配列
パリビズマブ (Synagis(登録商標))	RSV(F タンパク質の A 抗原部位)	<p>出典:米国特許第 6,955,717 号 重鎖、配列番号 85</p> <p>QVTLRRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMSVGVIRQPPGKAL EWLADIWDDKKDYNPSLKSRLTISKDTSKNQVVLKVTNMDPADTAT YYCARSMITNWFYDVGAGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> <p>軽鎖、配列番号 86</p> <p>DIQMTQSPSTLSASVGRVTITCKCQLSVGYMHYQQKPGKAPKLLI YDTSKLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDFFATYYCFQGSQYP FTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHK KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
ベバシズマブ (Avastin(登録商標))	VEGF-A	<p>出典:www.drugbank.ca/drugs/DB00112 重鎖、配列番号 87</p> <p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMNWVRQAPGKGLEW VGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVY YCAKYPHYGGSSHWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> <p>軽鎖、配列番号 88</p> <p>DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVL IYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTV PWTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>

## 【0058】

本明細書で使用される場合、用語「治療用抗体」は、治療用抗体（例えば、表 I に記載されるもの）、及び治療用抗体と同じ標的を認識して、それに特異的に結合し、かつ、表 I に列挙する治療用抗体の対応する配列に対して、少なくとも 80% の同一性（例えば、少なくとも 85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の同一性）を有する重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインを有する、任意の抗体または抗体断片を包含する。場合によっては、治療用抗体は、2つのそのような可変ドメイン、3つのそのような可変ドメイン、4つのそのような可変ドメイン、2つのそのような重鎖可変ドメイン、2つのそのような軽鎖可変ドメイン

、及び／または２つのそのような重鎖可変ドメインと２つのそのような軽鎖可変ドメインを含む。場合によっては、治療用抗体は、治療薬の対応する配列（例えば、表Ⅰに列挙する配列の１つ以上、もしくは配列の一部）に対して、少なくとも８０％の同一性（例えば、少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の同一性）を有する重鎖または軽鎖を含む。場合によっては、治療用抗体は、２つのそのような鎖、３つのそのような鎖、４つのそのような鎖、２つのそのような重鎖、２つのそのような軽鎖、及び／または２つのそのような重鎖と２つのそのような軽鎖を含む。したがって、治療用抗体は、例えば、インタクト抗体、抗体断片（Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fd、またはFvなど）、一本鎖Fv（scFv）、または二重特異性抗体などの多重特異性抗体であり得る。

10

**【００５９】**

いくつかの実施形態では、治療用抗体は表Ⅰに列挙される重鎖配列を含む。いくつかの実施形態では、治療用抗体は表Ⅰに列挙される重鎖配列の一部を含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される重鎖配列は重鎖可変ドメインを含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される重鎖配列は重鎖CDR１を含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される重鎖配列は重鎖CDR２を含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される重鎖配列は重鎖CDR３を含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される重鎖配列は重鎖FW１を含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される重鎖配列は重鎖FW２を含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される重鎖配列は重鎖FW３を含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される重鎖配列は重鎖FW４を含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される重鎖配列は重鎖CH１定常ドメインを含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される重鎖配列は重鎖CH２定常ドメインを含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される重鎖配列は重鎖CH３定常ドメインを含む。

20

**【００６０】**

いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される軽鎖配列は軽鎖可変ドメインを含む。いくつかの実施形態では、治療用抗体は表Ⅰに列挙される軽鎖配列の一部を含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される軽鎖配列は軽鎖CDR１を含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される軽鎖配列は軽鎖CDR２を含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される軽鎖配列は軽鎖CDR３を含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される軽鎖配列は軽鎖FW１を含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される軽鎖配列は軽鎖FW２を含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される軽鎖配列は軽鎖FW３を含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される軽鎖配列は軽鎖FW４を含む。いくつかの実施形態では、表Ⅰに列挙される軽鎖配列は軽鎖定常ドメインを含む。いくつかの実施形態では、治療用抗体はカッパ軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、治療用抗体はラムダ軽鎖を含む。

30

**【００６１】**

本発明の様々な例において、治療用抗体は、表Ⅰに列挙される重鎖配列に対して、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の同一性を有する重鎖を含む。

40

**【００６２】**

本発明の様々な例において、治療用抗体は、表Ⅰに列挙される軽鎖配列に対して、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の同一性を有する軽鎖を含む。

**【００６３】**

本発明の様々な例において、治療用抗体は、表Ⅰに列挙される重鎖配列に含まれる重鎖可変ドメインに対して、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少な

50

くとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99%の同一性を有する少なくとも 1つの重鎖可変ドメインを含んでいる重鎖を含む。

【0064】

本発明の様々な例において、治療用抗体は、表 I に列挙される軽鎖配列に含まれる軽鎖可変ドメインに対して、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99%の同一性を有する少なくとも 1つの軽鎖可変ドメインを含んでいる軽鎖を含む。

【0065】

本発明の様々な例において、治療用抗体は、表 I に列挙される重鎖配列に含まれる C D R 配列の配列に対して、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99%の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、治療用抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる重鎖を含む。ある特定の例では、治療用抗体は 2つのそのような重鎖を含む。

【0066】

本発明の様々な例において、治療用抗体は、表 I に列挙される同じ重鎖配列に含まれる 2つの C D R 配列に対して、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99%の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、治療用抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる重鎖を含む。ある特定の例では、治療用抗体は 2つのそのような重鎖を含む。

【0067】

本発明の様々な例において、治療用抗体は、表 I に列挙される同じ重鎖配列に含まれる 3つの C D R 配列に対して、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99%の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、治療用抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる重鎖を含む。ある特定の例では、治療用抗体は 2つのそのような重鎖を含む。

【0068】

本発明の様々な例において、治療用抗体は、表 I に列挙される軽鎖配列に含まれる配列に対して、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99%の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、治療用抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる軽鎖を含む。ある特定の例では、治療用抗体は 2つのそのような軽鎖を含む。

【0069】

本発明の様々な例において、治療用抗体は、表 I に列挙される軽鎖配列に含まれる C D R 配列に対して、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99%の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、治療用抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる軽鎖を含む。ある特定の例では、治療用抗体は 2つのそのような軽鎖を含む。

【0070】

本発明の様々な例において、治療用抗体は、表 I に列挙される同じ軽鎖配列に含まれる

10

20

30

40

50

2つのCDR配列に対して、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するCDR配列を含む。ある特定の例では、治療用抗体は、そのようなCDR配列を含んでいる軽鎖を含む。ある特定の例では、治療用抗体は2つのそのような軽鎖を含む。

【0071】

本発明の様々な例において、治療用抗体は、表Iに列挙される同じ軽鎖配列に含まれる3つのCDR配列に対して、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性または同一性を有するCDR配列を含む。ある特定の例では、治療用抗体は、そのようなCDR配列を含んでいる軽鎖を含む。ある特定の例では、治療用抗体は2つのそのような軽鎖を含む。

10

【0072】

本発明の様々な例において、治療用抗体は、表Iに列挙される重鎖配列に含まれるFWドメインの配列に対して、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有する少なくとも1つのFWドメインを含んでいる重鎖を含む。

20

【0073】

本発明の様々な例において、治療用抗体は、表Iに列挙される軽鎖配列に含まれるFWドメインの配列に対して、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有する少なくとも1つのFWドメインを含んでいる軽鎖を含む。

【0074】

本発明の様々な例において、治療用抗体は、表Iに列挙される重鎖の1つ以上の定常ドメインまたはヒンジドメインの配列に対して、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有する少なくとも1つの定常ドメインまたはヒンジドメインを含んでいる重鎖を含む。

30

【0075】

本発明の様々な例において、治療用抗体は、表Iに列挙される軽鎖配列に含まれる定常ドメインの配列に対して、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有する少なくとも1つの定常ドメインを含んでいる軽鎖を含む。

【0076】

40

本明細書に記載の様々な抗体または抗体断片は、表Iに列挙されるいずれかの配列または配列の一部に対応する配列内に、1つ以上のアミノ酸変異、例えば1つ以上のアミノ酸置換が組み込まれている。いくつかの実施形態では、1つ以上のアミノ酸置換は、当技術分野で公知であるような保存的置換であり得る。本明細書に記載の様々な重鎖及び軽鎖を利用して、抗体、例えば2つの重鎖及び軽鎖を含むモノクローナル抗体を作製することができる。

【0077】

「治療用抗体」のこの定義は、本明細書に記載される特定の治療用抗体に等しく適用されるものと理解されるべきである。例えば、「セルグツズマブ抗体」は、セルグツズマブと、表Iに示されるセルグツズマブの配列に基づいて、「治療用抗体」の定義下で上記し

50

た種類の抗体及び抗体断片のいずれにも相当する。これは、「イブリツモマブチウキセタン抗体」；「リツキシマブ抗体」；「トシツモマブ抗体」；「ゲムツズマブ抗体」；「アレムツズマブ抗体」；「セツキシマブ抗体」；「パニツムマブ抗体」；「デパツキシズマブ抗体」；「シプロツズマブ抗体」；「コドリツズマブ抗体」；「トラスツズマブ抗体」；「パトリツマブ抗体」；「フィギツムマブ抗体」；「ガニツマブ抗体」；「カンツズマブ抗体」；「ＡＢＸ－ＭＡ１抗体」；「バビツキシマブ抗体」；「Ｊ５９１抗体」；「パリビズマブ抗体」；「ベバシズマブ抗体」の定義についても同様に適用される。以下に、「セツキシマブ抗体」及び「トラスツズマブ抗体」について、この定義をより詳細に説明する。

【００７８】

いくつかの実施形態では、本発明のコンジュゲートは、セツキシマブ抗体のコンジュゲートを含まない。いくつかの実施形態では、本発明のコンジュゲートは、トラスツズマブ抗体のコンジュゲートを含まない。いくつかの実施形態では、本発明のコンジュゲートは、セツキシマブ抗体のコンジュゲートまたはトラスツズマブ抗体のコンジュゲートを含まない。

【００７９】

セツキシマブ及びセツキシマブ抗体

セツキシマブは、上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）を標的とするＩｇＧ１マウス－ヒトキメラモノクローナル抗体である。セツキシマブは、転移性大腸癌、転移性非小細胞肺癌、及び頭頸部癌の治療に使用される。

【００８０】

セツキシマブは、２本の重鎖及び２本の軽鎖を含む。セツキシマブの重鎖配列及び軽鎖配列は当技術分野で公知である。例えば、セツキシマブ重鎖または軽鎖は、（１）Ｌｉｅｔ ａｌ．，Ｃancer Cell 7：301－11，2005；（２）Ｄubois ｅｔ ａｌ．，Anal．Chem．；80：1737－45，2008；（３）当技術分野で認められたＩＭＧＴデータベース、[www.imgt.org/3Dstructure-DB/cgi/details.cgi?pdbcode=7906](http://www.imgt.org/3Dstructure-DB/cgi/details.cgi?pdbcode=7906)からオンラインで入手可能な配列；及び／または（４）Ａyoub ｅｔ ａｌ．，mAbs 5（5）：699－710，2013（補足資料を含む）のいずれかに開示される、セツキシマブ重鎖配列またはセツキシマブ軽鎖配列を有し得る。上記文献はそれぞれ、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。表ⅠⅠに、これらの出典から得た、ある特定のセツキシマブ配列を示す。なお、配列番号２は、ＩＭＧＴデータベース（上記）からのセツキシマブカップ軽鎖配列であり、配列番号３は、Ａyoub ｅｔ ａｌ．（上記）からの別のセツキシマブカップ軽鎖である。配列番号２４及び配列番号２５はそれぞれ、配列番号２及び配列番号３の定常ドメインである。

10

20

30

40

50

## 【表 2 - 1】

表 I I : セツキシマブ配列

配列番号	配列
セツキシマブ IgG1 重鎖 (配列番号 1)	QVQLKQSGPGLVQPSSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGN TDYNTPFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQG TLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSGDSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K
セツキシマブカッ パ軽鎖 (IMGT) (配列番号 2)	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESIS GIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNWPPTFGAGTKLELKRTVAA PSVFIFFPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

配列番号	配列
セツキシマブカッ パ軽鎖 (Ayoub et al.) (配列番号 3)	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESIS GIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAA PSVFIFFPSDEQLKSGTASVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGAC
セツキシマブ重鎖 可変ドメイン (1-119) (配列番号 4)	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKLEWLGVWSGGN TDYNTPFTRSLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQG TLVTVSA
セツキシマブカッ パ軽鎖可変ドメイ ン(1-108) (配列番号 5)	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESIS GIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELK
セツキシマブ重鎖 CDR1 (配列番号 6)	GFSLTNYG
セツキシマブ重鎖 CDR2 (配列番号 7)	IWSGGNT
セツキシマブ重鎖 CDR3 (配列番号 8)	ARALTYDYEFAY
セツキシマブカッ パ軽鎖 CDR1 (配列番号 9)	QSIGTN
セツキシマブカッ パ軽鎖 CDR2 (配列番号 10)	YAS
セツキシマブカッ パ軽鎖 CDR3 (配列番号 11)	QQNNNWPTT
セツキシマブ重鎖 FW1 (配列番号 12)	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVS
セツキシマブ重鎖 FW2 (配列番号 13)	VHWVRQSPGKLEWLGV
セツキシマブ重鎖 FW3 (配列番号 14)	DYNTPFTRSLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYC

10

20

30

40

50



【表 2 - 3】

配列番号	配列
セツキシマブ重鎖 FW4 (配列番号 15)	WGQGTLVTVSA
セツキシマブカッ パ軽鎖 FW1 (配列番号 16)	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRAS
セツキシマブカッ パ軽鎖 FW2 (配列番号 17)	IHWYQQRTNGSPRLLIK
セツキシマブカッ パ軽鎖 FW3 (配列番号 18)	ESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC
セツキシマブカッ パ軽鎖 FW4 (配列番号 19)	FGAGTKLELK
セツキシマブ重鎖 CH1 定常ドメイン (120-217) (配列番号 20)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV
セツキシマブ重鎖 ヒンジドメイン (218-232) (配列番号 21)	EPKSCDKTHTCPPCP
セツキシマブ重鎖 CH2 定常ドメイン (233-342) (配列番号 22)	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
セツキシマブ重鎖 CH3 定常ドメイン (343-447) (配列番号 23)	GQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSP
セツキシマブカッ パ軽鎖定常ドメイ ン (108-214) (IMGT) (配列番号 24)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

【表 2 - 4】

配列番号	配列
セツキシマブカッ パ軽鎖定常ドメイ ン (108-214) (Ayoub et al.) (配列番号 25)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGAC

50

## 【 0 0 8 1 】

本明細書で使用される場合、用語「セツキシマブ抗体」は、セツキシマブ、及び E G F R を認識して、それに特異的に結合し、かつ、セツキシマブの対応する配列（すなわち、配列番号 4 または配列番号 5）に対して、少なくとも 80 % の同一性（例えば、少なくとも 85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性）を有する重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインを少なくとも有する任意の抗体または抗体断片を包含する。場合によっては、セツキシマブ抗体は、2 つのそのような可変ドメイン、3 つのそのような可変ドメイン、4 つのそのような可変ドメイン、2 つのそのような重鎖可変ドメイン、2 つのそのような軽鎖可変ドメイン、及び / または 2 つのそのような重鎖可変ドメインと 2 つのそのような軽鎖可変ドメインを含む。場合によっては、セツキシマブ抗体は、セツキシマブの対応する配列（すなわち、配列番号 1 ~ 3 のうち 1 つ以上）に対して、少なくとも 80 % の同一性（例えば、少なくとも 85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の同一性）を有する重鎖または軽鎖を含む。場合によっては、セツキシマブ抗体は、2 つのそのような鎖、3 つのそのような鎖、4 つのそのような鎖、2 つのそのような重鎖、2 つのそのような軽鎖、及び / または 2 つのそのような重鎖と 2 つのそのような軽鎖を含む。したがって、セツキシマブ抗体は、例えば、インタクト抗体、抗体断片（F a b、F a b'、F ( a b' )<sub>2</sub>、F d、または F v など）、一本鎖 F v ( s c F v )、または二重特異性抗体などの多重特異性抗体であり得る。

10

## 【 0 0 8 2 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 1 の配列に対して、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有する重鎖を含む。

20

## 【 0 0 8 3 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 2 または配列番号 3 の配列に対して、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有する軽鎖を含む。

30

## 【 0 0 8 4 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 4 の配列に対して、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有する少なくとも 1 つの重鎖可変ドメインを含んでいる重鎖を含む。

## 【 0 0 8 5 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 5 の配列に対して、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有する少なくとも 1 つの軽鎖可変ドメインを含んでいる軽鎖を含む。

40

## 【 0 0 8 6 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 6、配列番号 7、または配列番号 8 の配列に対して、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる重鎖を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は 2 つのそのような重鎖を含む。

50

## 【 0 0 8 7 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 6 及び配列番号 7 のそれぞれに対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる重鎖を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は 2 つのそのような重鎖を含む。

## 【 0 0 8 8 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 6 及び配列番号 8 のそれぞれに対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる重鎖を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は 2 つのそのような重鎖を含む。

10

## 【 0 0 8 9 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 7 及び配列番号 8 のそれぞれに対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる重鎖を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は 2 つのそのような重鎖を含む。

20

## 【 0 0 9 0 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 6、配列番号 7、及び配列番号 8 のそれぞれに対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる重鎖を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は 2 つのそのような重鎖を含む。

30

## 【 0 0 9 1 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 9、配列番号 1 0、または配列番号 1 1 の配列に対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる軽鎖を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は 2 つのそのような軽鎖を含む。

40

## 【 0 0 9 2 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 9 及び配列番号 1 0 のそれぞれに対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる軽鎖を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は 2 つのそのような軽鎖を含む。

## 【 0 0 9 3 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 9 及び配列番号 1 1 のそれ

50

それぞれに対して、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる軽鎖を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は 2 つのそのような軽鎖を含む。

【 0 0 9 4 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 10 及び配列番号 11 のそれぞれに対して、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる軽鎖を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は 2 つのそのような軽鎖を含む。

10

【 0 0 9 5 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 9、配列番号 10、及び配列番号 11 のそれぞれに対して、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の相同性または同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる軽鎖を含む。ある特定の例では、セツキシマブ抗体は 2 つのそのような軽鎖を含む。

20

【 0 0 9 6 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、または配列番号 15 の配列に対して、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有する少なくとも 1 つの F W ドメインを含んでいる重鎖を含む。

【 0 0 9 7 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、または配列番号 19 の配列に対して、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有する少なくとも 1 つの F W ドメインを含んでいる軽鎖を含む。

30

【 0 0 9 8 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、または配列番号 23 のうち 1 つ以上の配列に対して、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有する少なくとも 1 つの定常ドメインまたはヒンジドメインを含んでいる重鎖を含む。

40

【 0 0 9 9 】

本発明の様々な例において、セツキシマブ抗体は、配列番号 24 または配列番号 25 の配列に対して、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有する少なくとも 1 つの定常ドメインを含んでいる軽鎖を含む。

【 0 1 0 0 】

50

本明細書に記載の様々なセツキシマブ抗体または抗体断片は、配列番号 1 ~ 25 のいずれかに対応する配列内に、1 つ以上のアミノ酸変異、例えば 1 つ以上のアミノ酸置換が組み込まれている。いくつかの実施形態では、1 つ以上のアミノ酸置換は、当技術分野で公知であるような保存的置換であり得る。本明細書に記載の様々な重鎖及び軽鎖を利用して、セツキシマブ抗体、例えば 2 つの重鎖及び軽鎖を含むモノクローナル抗体を作製することができる。

【0101】

トラスツズマブ及びトラスツズマブ抗体

トラスツズマブは、HER2 を標的とする IgG1 マウス - ヒトキメラモノクローナル抗体である。トラスツズマブは、乳癌及び胃癌の治療に適応する。トラスツズマブは、2 本の重鎖及び 2 本の軽鎖を含む。トラスツズマブの重鎖配列及び軽鎖配列は当技術分野で公知である。例えば、トラスツズマブ重鎖または軽鎖は、(1) 特許 (例えば、米国特許第 5,821,337 号; 同第 7,879,325 号; 同第 8,937,159 号; 米国特許公開第 2006/0275305 号; EP 特許公開第 EP2540745A9 号) に記載される配列変異体; 及び/または (2) 当技術分野で認められた IMGT データベースの配列 ([www.imgt.org/3Dstructure-DB/cgi/details.cgi?pdbcode=7637&Part=Chain&Chain=7637H](http://www.imgt.org/3Dstructure-DB/cgi/details.cgi?pdbcode=7637&Part=Chain&Chain=7637H) からオンラインで入手可能) のいずれかに開示される、トラスツズマブ重鎖配列またはトラスツズマブ軽鎖配列を有し得る。これらすべての内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。表 1 に、これらの出典から得た、ある特定のトラスツズマブ配列を示す。

10

20

30

40

50

## 【表 3 - 1】

表 I I I : トラスツズマブ配列

配列番号	配列
トラスツズマブ IgG1 重鎖 (IMGT) (配列番号 26) (CDR に下線)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSR <u>WGGDGFYAMDY</u> WGQGLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSPGK
トラスツズマブカッ パ軽鎖 (IMGT) (配列番号 27) (CDR に下線)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKA PKLLIY <u>SASFLY</u> SGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ <u>QHYTTPPT</u> FGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TLTLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
トラスツズマブ重鎖 可変ドメイン (配列番号 28) (CDR に下線)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSR <u>WGGDGFYAMDY</u> WGQGLVTVSS
トラスツズマブカッ パ軽鎖可変ドメイン (配列番号 29) (CDR に下線)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKA PKLLIY <u>SASFLY</u> SGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ <u>QHYTTPPT</u> FGQGTKVEIK

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

配列番号	配列
トラスツズマブ重鎖 CDR1 (配列番号 30)	GFNIKDTYIH
トラスツズマブ重鎖 CDR2 (配列番号 31)	RIYPTNGYTRYADSVKG
トラスツズマブ重鎖 CDR3 (配列番号 32)	WGGDGFYAMDY
トラスツズマブカッ パ軽鎖 CDR1 (配列番号 33)	RASQDVNTAVA
トラスツズマブカッ パ軽鎖 CDR2 (配列番号 34)	SASFLYS
トラスツズマブカッ パ軽鎖 CDR3 (配列番号 35)	QQHYTTPPT
トラスツズマブ重鎖 FW1 (配列番号 36)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
トラスツズマブ重鎖 FW2 (配列番号 37)	WVRQAPGKGLEWVA
トラスツズマブ重鎖 FW3 (配列番号 38)	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSR
トラスツズマブ重鎖 FW4 (配列番号 39)	WGQGLTVTVSS
トラスツズマブカッ パ軽鎖 FW1 (配列番号 40)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
トラスツズマブカッ パ軽鎖 FW2 (配列番号 41)	WYQQKPGKAPKLLIY
トラスツズマブカッ パ軽鎖 FW3 (配列番号 42)	GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

配列番号	配列
トラスツズマブカッ パ軽鎖 FW4 (配列番号 43)	FGQGTKVEIK
トラスツズマブ重鎖 CH1 定常ドメイン (配列番号 44)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
トラスツズマブ重鎖 ヒンジドメイン (配列番号 45)	EPKSCDKTHTCPPCP
トラスツズマブ重鎖 CH2 定常ドメイン (配列番号 46)	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AK
トラスツズマブ重鎖 CH3 定常ドメイン (配列番号 47)	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
トラスツズマブカッ パ軽鎖定常ドメイン (IMGT) (配列番号 48)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

## 【 0 1 0 2 】

本明細書で使用される場合、用語「トラスツズマブ抗体」は、トラスツズマブ、及び H E R 2 を認識して、それに特異的に結合し、かつ、トラスツズマブの対応する配列（例えば、配列番号 2 8 または配列番号 2 9）に対して、少なくとも 8 0 % の同一性（例えば、少なくとも 8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性）を有する重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインを少なくとも有する任意の抗体または抗体断片を包含する。場合によっては、トラスツズマブ抗体は、2 つのそのような可変ドメイン、3 つのそのような可変ドメイン、4 つのそのような可変ドメイン、2 つのそのような重鎖可変ドメイン、2 つのそのような軽鎖可変ドメイン、及び / または 2 つのそのような重鎖可変ドメインと 2 つのそのような軽鎖可変ドメインを含む。場合によっては、トラスツズマブ抗体は、トラスツズマブの対応する配列（例えば、配列番号 2 6 または配列番号 2 7 のうち 1 つ以上）に対して、少なくとも 8 0 % の同一性（例えば、少なくとも 8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性）を有する重鎖または軽鎖を含む。場合によっては、トラスツズマブ抗体は、2 つのそのような鎖、3 つのそのような鎖、4 つのそのような鎖、2 つのそのような重鎖、2 つのそのような軽鎖、及び / または 2 つのそのような重鎖と 2 つのそのような軽鎖を含む。したがって、トラスツズマブ抗体は、例えば、インタクト抗体、抗体断片（F a b、F a b'、F（a b'）<sub>2</sub>、F d、または F v など）、一本鎖 F v（s c F v）、または二重特異性抗体などの多重特異性抗体であり得る。

30

40

## 【 0 1 0 3 】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 2 6 の配列に対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する重鎖を

50



含む。

【 0 1 0 4 】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 2 7 の配列に対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する軽鎖を含む。

【 0 1 0 5 】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 2 8 の配列に対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する少なくとも 1 つの重鎖可変ドメインを含んでいる重鎖を含む。

【 0 1 0 6 】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 2 9 の配列に対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する少なくとも 1 つの軽鎖可変ドメインを含んでいる軽鎖を含む。

【 0 1 0 7 】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 3 0、配列番号 3 1、または配列番号 3 2 の配列に対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる重鎖を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は 2 つのそのような重鎖を含む。

【 0 1 0 8 】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 3 0 及び配列番号 3 1 のそれぞれに対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる重鎖を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は 2 つのそのような重鎖を含む。

【 0 1 0 9 】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 3 0 及び配列番号 3 2 のそれぞれに対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる重鎖を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は 2 つのそのような重鎖を含む。

【 0 1 1 0 】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 3 1 及び配列番号 3 2 のそれぞれに対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる重鎖を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は 2 つの

そのような重鎖を含む。

【 0 1 1 1 】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 3 0、配列番号 3 1、及び配列番号 3 2 のそれぞれに対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる重鎖を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は 2 つのそのような重鎖を含む。

【 0 1 1 2 】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 3 3、配列番号 3 4、または配列番号 3 5 の配列に対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる軽鎖を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は 2 つのそのような軽鎖を含む。

【 0 1 1 3 】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 3 3 及び配列番号 3 4 のそれぞれに対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる軽鎖を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は 2 つのそのような軽鎖を含む。

【 0 1 1 4 】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 3 3 及び配列番号 3 5 のそれぞれに対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる軽鎖を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は 2 つのそのような軽鎖を含む。

【 0 1 1 5 】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 3 4 及び配列番号 3 5 のそれぞれに対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる軽鎖を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は 2 つのそのような軽鎖を含む。

【 0 1 1 6 】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 3 3、配列番号 3 4、及び配列番号 3 5 のそれぞれに対して、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の相同性または同一性を有する C D R 配列を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は、そのような C D R 配列を含んでいる軽鎖を含む。ある特定の例では、トラスツズマブ抗体は 2 つのそのような軽鎖を含む。

【 0 1 1 7 】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 36、配列番号 37、配列番号 38、または配列番号 39 の配列に対して、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有する少なくとも 1 つの FW ドメインを含んでいる重鎖を含む。

【0118】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 40、配列番号 41、配列番号 42、または配列番号 43 の配列に対して、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有する少なくとも 1 つの FW ドメインを含んでいる軽鎖を含む。

10

【0119】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 44、配列番号 45、配列番号 46、または配列番号 47 のうち 1 つ以上の配列に対して、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有する少なくとも 1 つの定常ドメインまたはヒンジドメインを含んでいる重鎖を含む。

20

【0120】

本発明の様々な例において、トラスツズマブ抗体は、配列番号 48 の配列に対して、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有する少なくとも 1 つの定常ドメインを含んでいる軽鎖を含む。

【0121】

本明細書に記載の様々な抗体または抗体断片は、配列番号 25 ~ 48 のいずれかに対応する配列内に、1 つ以上のアミノ酸変異、例えば 1 つ以上のアミノ酸置換が組み込まれている。いくつかの実施形態では、1 つ以上のアミノ酸置換は、当技術分野で公知であるような保存的置換であり得る。本明細書に記載の様々な重鎖及び軽鎖を利用して、抗体、例えば 2 つの重鎖及び軽鎖を含むモノクローナル抗体を作製することができる。

30

【0122】

- 1, 6 - グルカンオリゴマー

本発明の - 1, 6 - グルカンオリゴマーは、任意の供給源及び/または任意の手順、例えば当技術分野で公知の任意の供給源及び/または任意の手順により誘導または合成することができる。

【0123】

いくつかの実施形態では、- 1, 6 - グルカンオリゴマーは、地衣類に由来し、一実施形態では、イワタケ属 (例えば、*U. pustulata*、及び *U. hirsute*、*U. angulata*、*U. caroliniana*、または *U. polyphylla*) に由来する。いくつかの実施形態では、- 1, 6 - グルカンは、真菌に由来し、一実施形態では、カンジダ属に由来 (例えば、*C. albicans* に由来) する。グルカンの由来元となり得る他の生物として、*Coccidioides immitis*、*Trichophyton verrucosum*、*Blastomyces dermatidis*、*Cryptococcus neoformans*、*Histoplasma capsulatum*、*Saccharomyces cerevisiae*、*Paracoccidioides brasiliensis*、*Botryosphaeria rhodina*、*Lasiodiplodia theobromae*、及び *Pythium insidiosum* が挙げられる。純粋な - グルカンは市販されており、例え

40

50

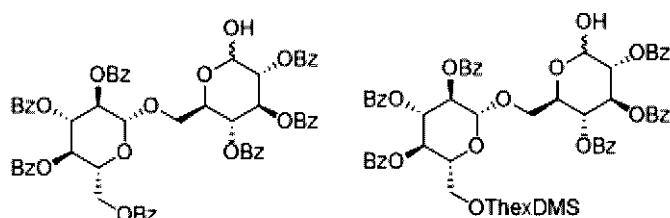
ば、プスツランは、Calbiochem及びElicitylから入手可能な、Umbilicaria papullosaから精製された - 1, 6 - グルカンである。

- グルカンはまた、例えば、Tokunaka et al., Carbohydr. Res. 316: 161 - 172, 1999に記載されるような様々な方法で真菌細胞壁から精製することができ、その生成物から、当技術分野で公知である方法によって - 1, 6 - グルカン部分を濃縮することができる。いくつかの実施形態では、 - 1, 6 - グルカンを生物から単離した後、化学修飾または酵素修飾して、例えば溶解度を増加させることができる。実際には、全長の天然グルカンは不溶性であり、メガダルトン範囲の分子量を有する。いくつかの実施形態では、本発明は、可溶性 - 1, 6 - グルカンオリゴマーを使用する。いくつかの実施形態では、可溶化は、長い不溶性グルカンを断片化することによって達成することができる。これは、例えば、加水分解により、またはいくつかの実施形態では、グルカナーゼによる消化（例えば、 - 1, 3 グルカナーゼによる消化、または - 1, 6 グルカナーゼによる制限消化）によってなし得る。

#### 【0124】

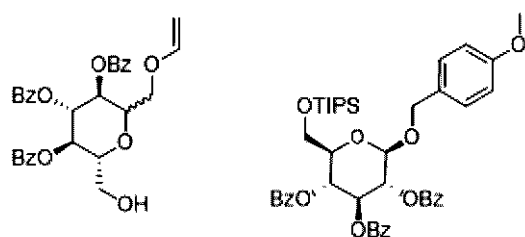
いくつかの実施形態では、 - 1, 6 - グルカンオリゴマーは、当技術分野で公知であるように化学合成される。例示的な実施形態では、 - 1, 6 - グルカンオリゴマーは、グリコシル化反応によって結合されたグルコースモノマー、ゲンチオピオースダイマー、またはアミグダリンから合成される。 - 1, 6 - グルカンオリゴマーの長さは、使用する「構成単位」の数を選択することによって制御される。例示的な実施形態では、3つの異なる「構成単位」を以下から選択することができる。

#### 【化10】



構成単位 1

構成単位 2



構成単位 3

構成単位 4

#### 【0125】

例示的な実施形態では、グルコースモノマーまたは構成単位はシュミット反応条件を経て結合される。例示的なシュミット反応条件には、グルカンモノマーの遊離ヒドロキシル基をその対応するトリクロロアセトイミダートに変換させ、続いて、 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ または $\text{TMSOTf}$ の存在下で、別のグルコースモノマーの遊離ヒドロキシル基と反応させることが含まれるが、これに限定されない。

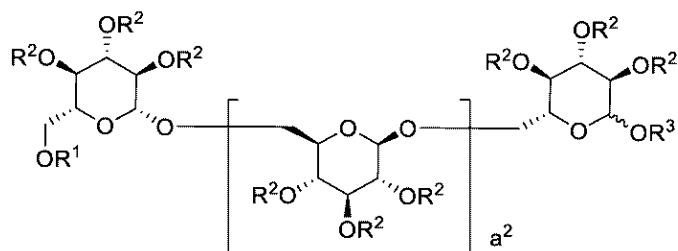
#### 【0126】

別の例示的な実施形態では、グルコースモノマーの遊離ヒドロキシル基は選択的に保護される。別の例示的な実施形態では、遊離ヒドロキシル基は、塩化ベンゾイルまたはテキシルジメチルシリルクロリドとの反応によって保護される。

#### 【0127】

別の態様では、本発明は、構造式 V :

## 【化 1 1】



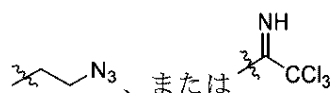
(式中、

$R^1$  は、水素またはヒドロキシル保護基であり；

$R^2$  は、水素またはヒドロキシル保護基であり；

$R^3$  は、水素、ヒドロキシル保護基、

## 【化 1 2】



であり；かつ

$a^2$  は 0 ~ 8 である )

で表され、ある特定の - 1, 6 - グルカンオリゴマーまたはオリゴマー前駆体の化学合成に使用できる、ある特定の中間体化合物を包含する。

## 【0128】

ヒドロキシル保護基は、当技術分野で周知されており、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Protecting Groups in Organic Synthesis, T. W. Greene and P. G. M. Wuts, 3<sup>rd</sup> edition, John Wiley & Sons, 1999 に詳細に記載されるものを含む。好適なヒドロキシル保護基の例として、エステル、カーボネート、スルホネートアリルエーテル、エーテル、シリルエーテル、アルキルエーテル、アリールアルキルエーテル、及びアルコキシアルキルエーテルがさらに挙げられるが、これらに限定されない。好適なエステルの例には、ギ酸エステル、酢酸エステル、プロピオン酸エステル、ペンタン酸エステル、クロトン酸エステル、及び安息香酸エステルが含まれる。好適なエステルの具体例として、ギ酸エステル、ギ酸ベンゾイル、クロロ酢酸エステル、トリフルオロ酢酸エステル、メトキシ酢酸エステル、トリフェニルメトキシ酢酸エステル、p - クロロフェノキシ酢酸エステル、3 - フェニルプロピオン酸エステル、4 - オキソペンタン酸エステル、4, 4 - (エチレンジチオ) ペンタン酸エステル、(トリメチル酢酸) ピバル酸エステル、クロトン酸エステル、4 - メトキシ - クロトン酸エステル、安息香酸エステル、p - 安息香酸ベンジル、2, 4, 6 - トリメチル安息香酸エステルが挙げられる。好適な炭酸エステルの例としては、炭酸 9 - フルオレニルメチル、炭酸 9 - フルオレニルエチル、炭酸 2, 2, 2 - トリクロロエチル、炭酸 2 - (トリメチルシリル) エチル、炭酸 2 - (フェニルスルホニル) エチル、炭酸 2 - (フェニルスルホニル) ビニル、炭酸 2 - (フェニルスルホニル) アリル、及び炭酸 p - ニトロベンジルが挙げられる。好適なシリルエーテルの例としては、トリメチルシリルエーテル、トリエチルシリルエーテル、t - ブチルジメチルシリルエーテル、t - ブチルジフェニルシリルエーテル、トリイソプロピルシリルエーテル、ジメチルヘキシルシリルエーテル、及び他のトリアルキルシリルエーテルが挙げられる。好適なアルキルエーテルの例として、メチルエーテル、ベンジルエーテル、p - メトキシベンジルエーテル、3, 4 - ジメトキシベンジルエーテル、トリチルエーテル、t - ブチルエーテル、及びアリルエーテル、またはそれらの誘導体が挙げられる。アルコキシアルキルエーテルとしては、メトキシメチルエーテル、メチルチオメチルエーテル、( 2

- メトキシエトキシ)メチルエーテル、ベンジロキシメチルエーテル、ベータ-(トリメチルシリル)エトキシメチルエーテル、及びテトラヒドロピラン-2-イルエーテルなどのアセタールが挙げられる。好適なアリールアルキルエーテルの例としては、ベンジルエーテル、p-メトキシベンジル(MPM)エーテル、3,4-ジメトキシベンジルエーテル、O-ニトロベンジルエーテル、p-ニトロベンジルエーテル、p-ハロベンジルエーテル、2,6-ジクロロベンジルエーテル、p-シアノベンジルエーテル、2-及び4-ピコリルエーテルが挙げられる。本明細書で使用されるいずれの化学用語も、化学分野で一般的に使用される通常の意味を有することを意図するものと理解されるべきである。

【0129】

したがって、例示的な実施形態では、 $R^1$ は水素である。別の実施形態では、 $R^1$ はヒドロキシル保護基である。別の実施形態では、 $R^1$ はヒドロキシル保護基であり、そのヒドロキシル保護基はジメチルヘキシルシリル(「HexDMS」)である。別の実施形態では、 $R^1$ はヒドロキシル保護基であり、そのヒドロキシル保護基はギ酸ベンゾイル(「Bz」)である。別の実施形態では、 $R^2$ は水素である。別の実施形態では、 $R^2$ はヒドロキシル保護基である。別の実施形態では、 $R^2$ はヒドロキシル保護基であり、そのヒドロキシル保護基はギ酸ベンゾイルである。

10

【0130】

別の実施形態では、 $R^3$ は水素である。別の実施形態では、 $R^3$ は

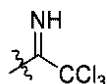
【化13】



20

である。別の実施形態では、 $R^3$ は

【化14】



である。別の実施形態では、 $R^2$ はヒドロキシル保護基である。別の実施形態では、 $R^3$ はヒドロキシル保護基であり、そのヒドロキシル保護基はギ酸ベンゾイルである。別の実施形態では、 $R^3$ はヒドロキシル保護基であり、そのヒドロキシル保護基はアリルエーテルである。

30

【0131】

別の実施形態では、 $a^2$ は、0、1、2、3、4、5、6、7、または8である。

【0132】

本明細書で使用される場合、構造に出現し、結合の位置で官能基を構造に結合する

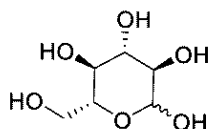
【化15】



は、一般に、例えば(R)-及び(S)-立体化学を含む、可能な異性体の混合物またはそのいずれかを示す。例えば、

40

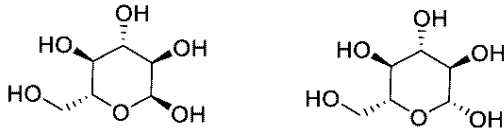
【化16】



は、以下のいずれかまたは両方を含むことを意味する。

50

## 【化 17】



## 【0133】

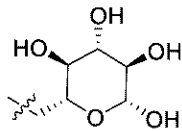
本明細書で使用される場合、結合を横切って出現する

## 【化 18】

~~~~~

は、2つの原子間の結合箇所を示す。例えば、

## 【化 19】



は、上記のグルコース環が、それが置換基である、図示されていない構造に結合していることを意味する。

## 【0134】

本発明のいくつかの実施形態では、本発明の - 1 - 6 グルカンオリゴマーは、低分子量の - 1 - 6 グルカンオリゴマー、例えば 10 個以下（例えば、9、8、7、6、5、4、3、または 2 個）のグルコースモノマー単位が含まれる - 1 - 6 グルカンオリゴマーを含む。いくつかの実施形態では、本発明の組成物は、低分子量の - 1, 6 - グルカンオリゴマー、例えば 10 個以下（例えば、9、8、7、6、5、4、3、または 2 個）のグルコースモノマー単位を含んでいる - 1 - 6 グルカンオリゴマーを含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる - 1, 6 - グルカンオリゴマーを含む。ある種の実施形態では、本発明の組成物に含有される少なくとも 80 重量%、90 重量%、95 重量%、98 重量%、99 重量%、または 100 重量%の - 1, 6 - グルカンオリゴマーは、低分子量の - 1, 6 - グルカンオリゴマー、例えば 10 個以下（例えば、9、8、7、6、5、4、3、または 2 個）のグルコースモノマー単位を含んでいる - 1, 6 - グルカンオリゴマーである。ある種の実施形態では、「重量」は「乾燥重量」を指す。

## 【0135】

ある種の実施形態では、本発明の組成物に含有される少なくとも 80 重量%、90 重量%、95 重量%、98 重量%、99 重量%、または 100 重量%のグルカンが、 - 1, 6 グルカンである。ある種の実施形態では、「重量」は「乾燥重量」を指す。ある種の実施形態では、本発明の組成物に含有される 20 重量%、10 重量%、5 重量%、2 重量%、または 1 重量%未満のグルカンが、 - 1, 3 グルカンである。ある種の実施形態では、「重量」は「乾燥重量」を指す。

## 【0136】

## コンジュゲート

本明細書に開示される治療用抗体を、1つ以上の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートすることができる。本出願は、特に、治療用抗体にコンジュゲートされる - 1, 6 - グルカンオリゴマーの長さ、治療用抗体にコンジュゲートされる - 1, 6 - グルカンオリゴマーの負荷量（例えば、各抗体にコンジュゲートされる - 1, 6 - グルカンオリゴマーの数）、及び - 1, 6 - グルカンオリゴマーを治療用抗体と結合するコンジュゲーションの種類に関する。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される治療用抗体を、リンカーを介して1つ以上の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートすることができる。

## 【 0 1 3 7 】

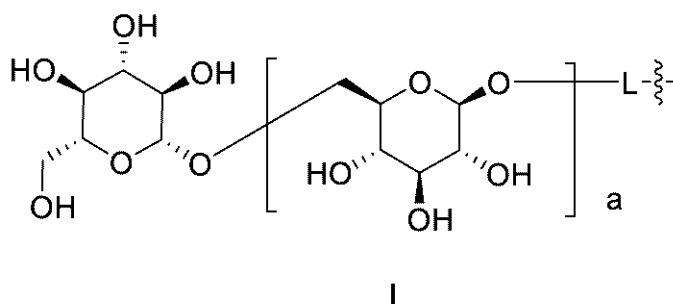
## グルカンの長さ

いくつかの実施形態では、本発明のコンジュゲートは、2～10個のグルコースモノマー単位（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のグルコースモノマー単位）で構成される - 1, 6 - グルカンオリゴマーを含む。特定の実施形態では、本発明のコンジュゲートは、3～10、3～9、3～8、3～7、3～6、3～5、3～4、4～10、4～9、4～8、4～7、4～6、4～5、4～8、5～8、5～7、5～6、6～7、または7～8個のグルコースモノマー単位からなる - 1, 6 - グルカンオリゴマーを含む。

## 【 0 1 3 8 】

いくつかの実施形態では、本発明のコンジュゲートは、式 I :

## 【 化 2 0 】



に示されるように、リンカー L を介して治療用抗体に共有結合した - 1, 6 - グルカンオリゴマーを含み、

式中、a は、1～9、1～8、1～7、1～6、1～5、1～4、または1～3であり、L はリンカーであり、及び「

## 【 化 2 1 】

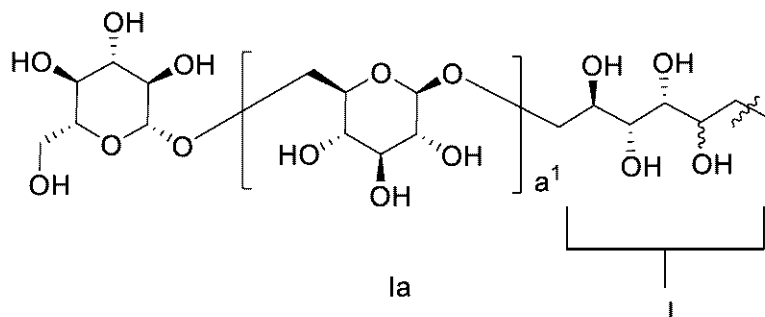
~~~~~

」は2つの原子（例えば、リンカーの原子及び治療用抗体の原子）の結合箇所を表す。

## 【 0 1 3 9 】

いくつかの実施形態では、リンカー L は、式 I a :

## 【 化 2 2 】



に示されるような開環グルコースモノマーであり得、

式中、a<sup>1</sup> は1～9、1～8、1～7、1～6、1～5、1～4、または1～3であり、及び「

## 【 化 2 3 】

~~~~~

」は2つの原子間の結合箇所を表す。



## 【 0 1 4 0 】

いくつかの実施形態では、用語「コンジュゲート」及びその文法上の形態は、示された分子間の何らかの会合を指す。いくつかの実施形態では、コンジュゲーションは共有結合性である。他の実施形態では、コンジュゲーションは非共有結合性である。いくつかの実施形態では、コンジュゲーションは直接的である。他の実施形態では、コンジュゲーションはリンカー分子を介する。いくつかの実施形態では、コンジュゲーションは、当技術分野において公知であり、本明細書に記載されているような任意の手段によるものである。例えば、コンジュゲーションは、それぞれの分子間、またはリンカー部分とそれぞれの分子との間のアミド形成、ウレタン結合、イミン結合、またはジスルフィド結合によるものであり得る。リンカー分子の化学骨格に関しては、制限がないものと理解されるべきである。いくつかの実施形態では、化学骨格は、生体適合性、非免疫原性、及び/または水溶性であり得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、本明細書に記載されるような結合を促進する活性化学基をさらに含む、ポリエチレングリコール ( P E G ) を含んでもよい。

10

## 【 0 1 4 1 】

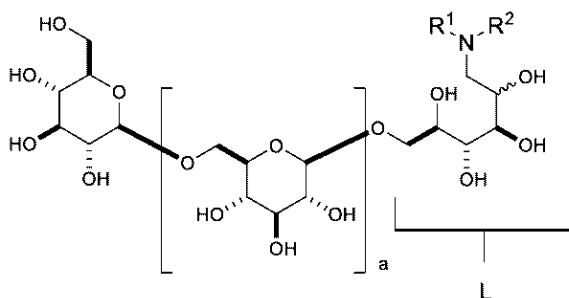
いくつかの実施形態では、リンカー L は、アルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロアルキル、 $-N_3$  (アジジル)、 $-C(O)H$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)-$ アルキル、 $-C(O)-$ アリールで場合により置換されるアルキル、アルキレニル、アルキニル、アリール、ヘテロアルキル、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールである。いくつかの実施形態では、リンカー L は、ポリエステル、ポリイミン、ポリ酸、タンパク質、またはペプチドである。他の実施形態では、リンカー分子は、アルキレン、アルケニレン、アルキニレン、ヘテロアルキレン、ヘテロアルケニレン、またはヘテロアルキニレン部分を含む。

20

## 【 0 1 4 2 】

したがって、いくつかの実施形態では、コンジュゲートは、以下の構造式：

## 【 化 2 4 】



30

から形成されるか、またはそれから誘導され、

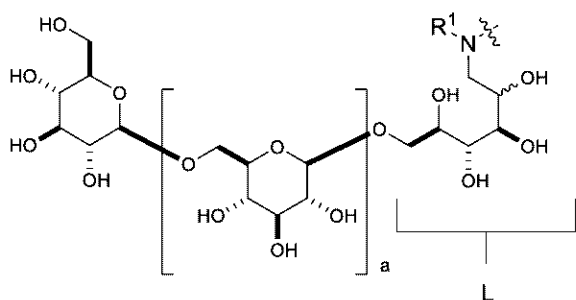
式中、 $a$  は上に定義されており、 $R^1$  は H、アルキル、アリール、またはヘテロアリールであり； $R^2$  は、アジジルで場合により置換されるアルキル、 $R^3$  で場合により置換されるアルキル、 $-C(O)-$ アルキル、 $-C(O)-$ アリール、 $-C(O)O-$ アルキル、 $-C(O)O-$ アリール、またはヘテロアリールであり； $R^3$  は、アルキル- $C(O)H$ 、アリール- $C(O)H$ 、アルキル- $C(O)OH$ 、またはアリール- $C(O)OH$  で場合により置換されるヘテロアリールである。

40

## 【 0 1 4 3 】

いくつかの実施形態では、コンジュゲートは、以下の構造式：

## 【化 2 5】



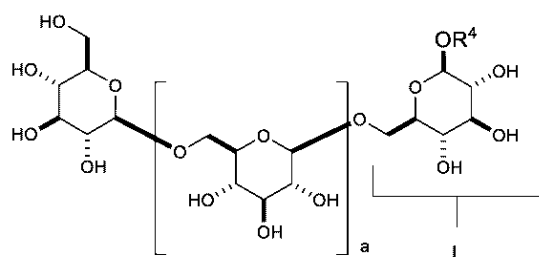
10

を含むことができ、  
式中、 $a$  及び  $R^1$  は上で定義されている。

## 【 0 1 4 4】

いくつかの実施形態では、コンジュゲートは、以下の構造式：

## 【化 2 6】



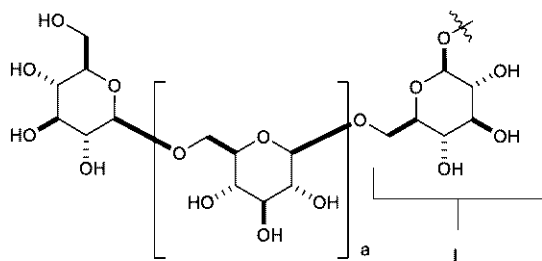
20

を含むことができ、  
式中、 $a$  は上で定義されており、 $R^4$  は、 $R^5$  で場合により置換されるアルキル、 $-C(O)-$ アルキル、 $-C(O)-$ アリール、 $-C(O)O-$ アルキル、 $-C(O)O-$ アリールであり； $R^5$  は、アルキル $-C(O)H$ 、アリール $-C(O)H$ 、アルキル $-C(O)OH$ 、またはアリール $-C(O)OH$ で場合により置換されるヘテロアリールである。

## 【 0 1 4 5】

いくつかの実施形態では、コンジュゲートは、以下の構造式：

## 【化 2 7】



40

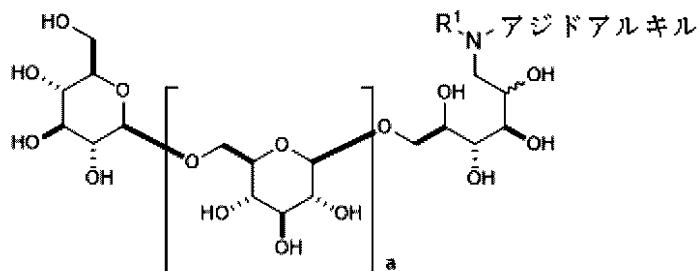
を含むことができ、  
式中、 $a$  は上で定義されている。

## 【 0 1 4 6】

いくつかの実施形態では、コンジュゲートは、以下の構造式：

50

## 【化 2 8】



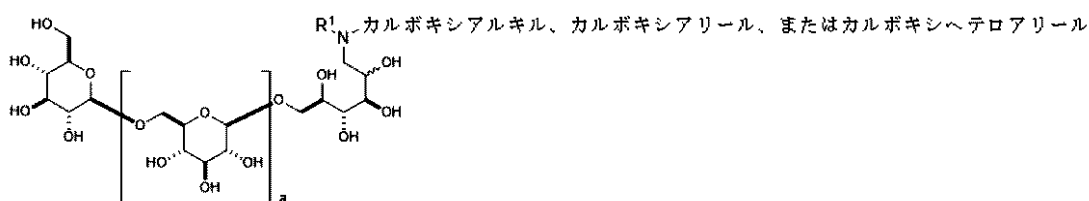
10

から形成されるか、またはそれから誘導され、  
式中、 $a$  及び  $R^1$  は上で定義されている。

## 【0 1 4 7】

いくつかの実施形態では、コンジュゲートは、以下の構造式：

## 【化 2 9】



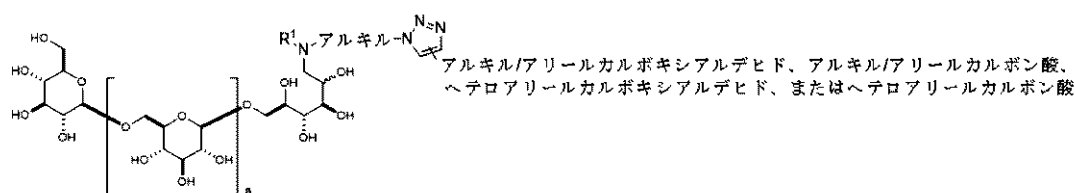
20

から形成されるか、またはそれから誘導され、  
式中、 $a$  及び  $R^1$  は上で定義されている。

## 【0 1 4 8】

いくつかの実施形態では、コンジュゲートは、以下の構造式：

## 【化 3 0】



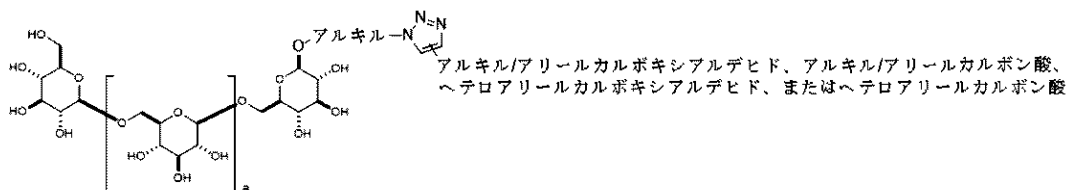
30

から形成されるか、またはそれから誘導され、  
式中、 $a$  及び  $R^1$  は上で定義されている。

## 【0 1 4 9】

いくつかの実施形態では、コンジュゲートは、以下の構造式：

## 【化 3 1】



40

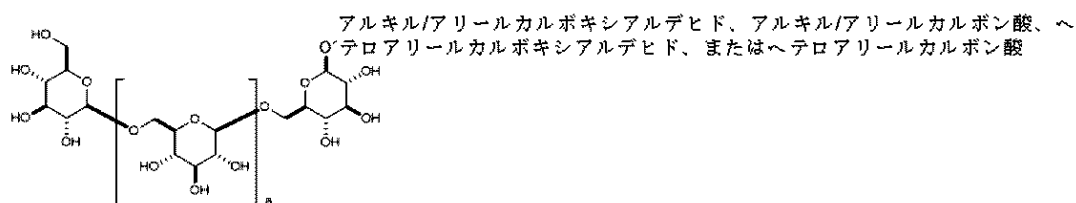
から形成されるか、またはそれから誘導され、  
式中、 $a$  は上で定義されている。

## 【0 1 5 0】

いくつかの実施形態では、コンジュゲートは、以下の構造式：

50

## 【化 3 2】



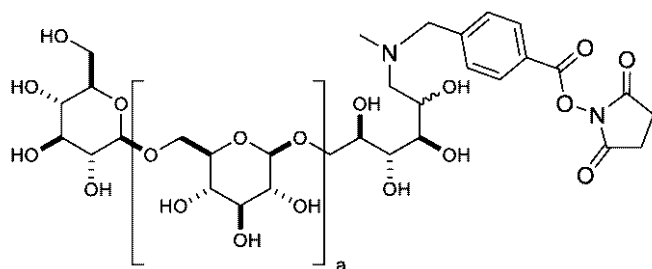
から形成されるか、またはそれから誘導され、  
式中、a は上で定義されている。

10

## 【0 1 5 1】

いくつかの実施形態では、コンジュゲートは、以下の構造式：

## 【化 3 3】



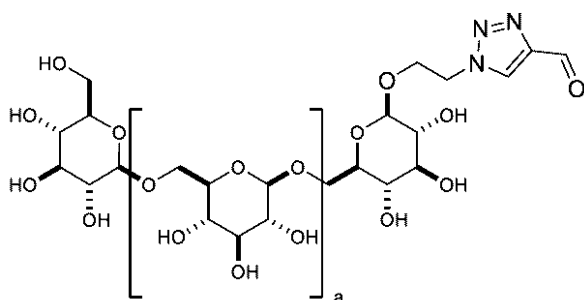
20

から形成されるか、またはそれから誘導され、  
式中、a は上で定義されている。

## 【0 1 5 2】

いくつかの実施形態では、コンジュゲートは、以下の構造式：

## 【化 3 4】



30

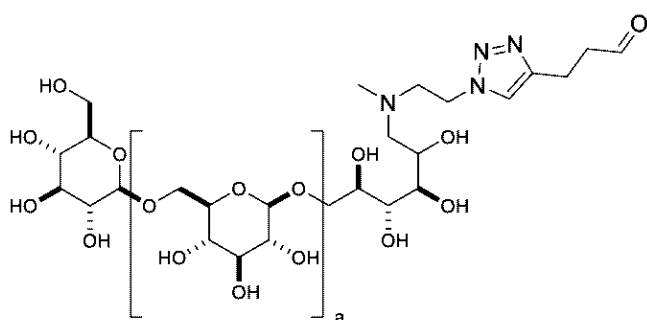
から形成されるか、またはそれから誘導され、  
式中、a は上で定義されている。

## 【0 1 5 3】

いくつかの実施形態では、コンジュゲートは、以下の構造式：

40

## 【化 3 5】



50

から形成されるか、またはそれから誘導され、  
式中、 $a$  は上で定義されている。

#### 【0154】

コンジュゲートにいくつかの  $-1, 6$ -グルカンオリゴマーが含まれる場合、またはコンジュゲートの集団を含む組成物について考察する場合、上述の値及び範囲は、コンジュゲートされた  $-1, 6$ -グルカンオリゴマーに存在するグルコースモノマー単位の実際の数を指す場合もあれば、平均数を指す場合もあるものと理解されるべきである。 $-1, 6$ -グルカンオリゴマーの長さ（グルコースモノマー単位の数に基づいて定義）は、例えば、単一の  $-1, 6$ -グルカンオリゴマー、またはそれぞれ同じ長さを有する  $-1, 6$ -グルカンオリゴマーの集団を指す場合、整数であり得る。 $-1, 6$ -グルカンオリゴマーの集団の長さを指す場合にも、 $-1, 6$ -グルカンオリゴマーの長さは整数であり得るが、その場合、整数の長さは、集団中の少なくとも90%の  $-1, 6$ -グルカンオリゴマー（例えば、集団中の少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の  $-1, 6$ -グルカンオリゴマー）の実際の長さを表す。 $-1, 6$ -グルカンオリゴマーの長さは、集団が2つ以上の異なる長さを有する  $-1, 6$ -グルカンオリゴマーの混合物を含む場合、端数で表される場合がある。端数は、集団中の  $-1, 6$ -グルカンオリゴマーの平均長さの仮定値、予想値、概算値、または測定値を示す場合がある。したがって、2つの整数間の値として表される長さは、その間にある任意の整数の端数を包含する。

#### 【0155】

$-1, 6$ -グルカンオリゴマー中のモノマーグルコース単位の数を決定する様々な方法が、当技術分野で公知である。様々な例において、 $-1, 6$ -グルカンオリゴマー中のモノマーグルコース単位の数は、治療用抗体とのコンジュグーション前に得るかまたは決定する。例えば、場合によっては、 $-1, 6$ -グルカンオリゴマーまたは  $-1, 6$ -グルカンオリゴマー前駆体は、特定の既知の長さを有するように合成される。実施例28にゲンチオペントースの合成を記載している。実施例29に2-アジドエチルゲンチオテトロースの合成を記載している。実施例30に2-アジドエチルゲンチオヘキソースの合成を記載している。本明細書に記載の上記及び他の構成単位を使用して、公知の合成方法（例えば本明細書に記載のもの）に従って、長さが異なる  $-1, 6$ -グルカンオリゴマー及び他の  $-1, 6$ -グルカンオリゴマー前駆体を作製できることが理解されよう。ある特定の例では、特定の数（または範囲）のモノマーグルコース単位を有する  $-1, 6$ -グルカンオリゴマーが、オリゴマーの集団、例えばブスツラン由来のオリゴマーの集団から、例えばブスツランの分解または修飾などにより単離される。様々な例において、それぞれ特定の数のモノマーグルコース単位を有する  $-1, 6$ -グルカンオリゴマーの集団を提供し、オリゴマーあたりのモノマーグルコース単位の数をクロマトグラフィー（例えば、サイズ排除クロマトグラフ）及び/または質量分析法（例えばMALDI）によって決定する。様々な例において、様々な数のモノマーグルコース単位を有するオリゴマーを含む  $-1, 6$ -グルカンオリゴマーの集団を提供し、オリゴマーあたりのモノマーグルコース単位の数をクロマトグラフィー（例えば、サイズ排除クロマトグラフ）及び/または質量分析法（例えばMALDI）によって決定する。様々な例において、特定の数のモノマーグルコース単位を有する1つ以上の  $-1, 6$ -グルカンオリゴマーを選択または単離する。様々な例において、 $-1, 6$ -グルカンオリゴマー中のモノマーグルコース単位の数は、例えば質量分析法（例えばMALDI）によって、治療用抗体とのコンジュグーション後に得るかまたは決定する。

#### 【0156】

##### グルカン負荷量

いくつかの実施形態では、本発明のコンジュゲートに存在する治療用抗体分子を、1つ以上の  $-1, 6$ -グルカンオリゴマーにコンジュゲートすることができる。ある種の実施形態では、1~6個の  $-1, 6$ -グルカンオリゴマー（例えば、1~5個、1~4個、または1~3個の  $-1, 6$ -グルカンオリゴマー、例えば、1、2、3、4、5、ま

たは6個の - 1, 6 - グルカンオリゴマー)にコンジュゲートされている。ある種の実施形態では、2 ~ 4 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされている。ある種の実施形態では、2または3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされている。ある種の実施形態では、3または4個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされている。ある種の実施形態では、3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされている。2つ以上の - 1, 6 - グルカンオリゴマーが同じ治療用抗体分子にコンジュゲートされている場合、その2つ以上の - 1, 6 - グルカンオリゴマーの長さは、同じであっても異なってもよいものと理解されるべきである。いくつかの実施形態では、2つ以上の - 1, 6 - グルカンオリゴマーは同じ長さを有する。

10

【0157】

本明細書で使用される場合、式IIまたは式IIaの「グルカン負荷量」または変数「b」という用語は、各治療用抗体分子にコンジュゲートされている個々の - 1, 6 - グルカンオリゴマーの実際の数または平均数を指す。グルカン負荷量は、例えば、単一のコンジュゲートまたはそれぞれが同じ負荷量を有するコンジュゲートの集団の負荷量を指す場合、整数であり得る。コンジュゲートの集団の負荷量を指す場合にも、グルカン負荷量は整数であり得るが、その場合、整数の負荷量は、集団中の少なくとも90%のコンジュゲート(例えば、集団中の少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の分子)に見出される実際の負荷量を表す。集団が負荷量の異なる2つ以上のコンジュゲートの混合物を含む場合、グルカン負荷量は端数で表される場合がある。端数は、集団中のコンジュゲートの平均負荷量の仮定値、予想値、概算値、または測定値を示す場合がある。したがって、2つの整数間の値として表されるグルカン負荷量は、その間にある任意の整数の端数を包含する。

20

【0158】

- 1, 6 - グルカンオリゴマーの負荷量を決定する様々な方法が、当技術分野で公知である。様々な例において、コンジュゲートは特定の負荷量を有するように合成される。様々な例において、コンジュゲート、またはそれぞれ特定の負荷量を有するコンジュゲートの集団を提供し、負荷量をクロマトグラフィー(例えば、サイズ排除クロマトグラフ)及び/または質量分析法(例えばMALDI)及び/またはSDS-PAGEによって決定する。様々な例において、様々な負荷量を有するコンジュゲートの集団を提供し、負荷量をクロマトグラフィー(例えば、サイズ排除クロマトグラフ)及び/または質量分析法(例えばMALDI)及び/またはSDS-PAGEによって決定する。様々な例において、特定の負荷量を有するコンジュゲートを選択または単離する。

30

【0159】

コンジュゲーション

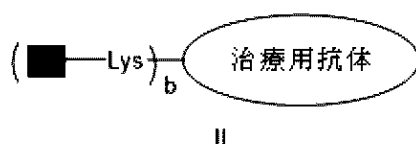
本発明の様々な実施形態において、1つ以上の上述の - 1, 6 - グルカンオリゴマーが治療用抗体に、本明細書に記載されるようにコンジュゲートされている。特定の実施形態では、1つ以上の - 1, 6 - グルカンオリゴマーがリンカーを介してコンジュゲートされている。いくつかの実施形態では、1つ以上の - 1, 6 - グルカンオリゴマーは、それぞれ独立して、例えばリジン残基を介して治療用抗体にコンジュゲートされている。

40

【0160】

いくつかの実施形態では、本発明の組成物は、式II:

【化36】



のものであり

式中:

50

L y s はリジン残基であり；

b は 1 ～ 6、1 ～ 5、1 ～ 4、または 1 ～ 3 であり；かつ

【化 3 7】



は式 I または式 I a の化合物である。

【0161】

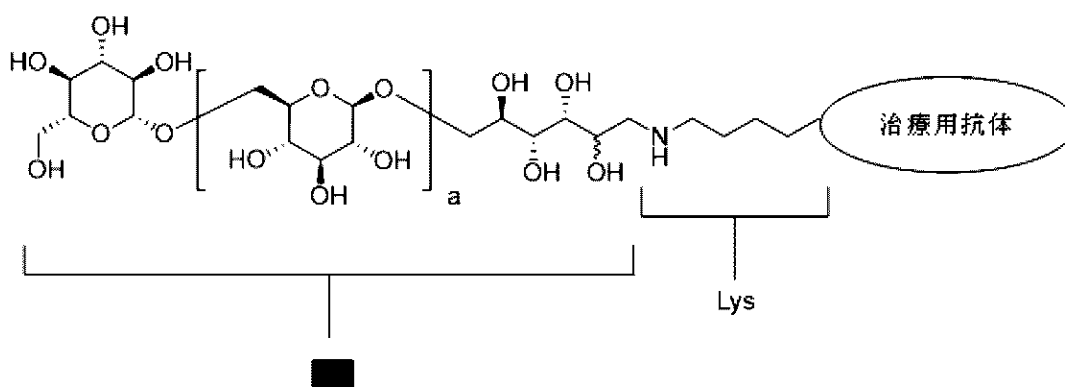
式 I I は、式 I または式 I a の化合物と治療用抗体とのコンジュゲートの模式図を表している。それによれば、b が 1 であり、

【化 3 8】



が式 I a の化合物であるとき、式 I I のコンジュゲートは、以下：

【化 3 9】

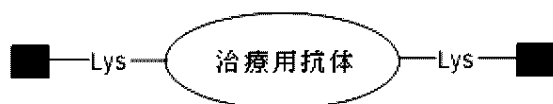


(式中、「L y s」はリジン残基の脂肪族鎖及び末端アミン部分を示す)のように図示することができる。

【0162】

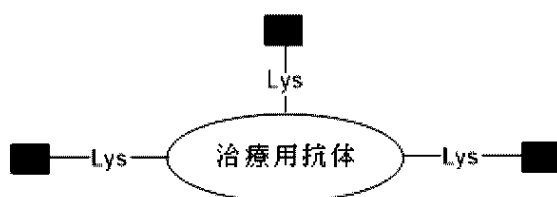
加えて、上記構造は、複数例の式 I または式 I a の化合物がコンジュゲートの一部であり得ることを表すことを意図する。例えば、上記式 I I において b が 2 であるとき、コンジュゲートは以下の模式図：

【化 4 0】



によって表され、式 I I において b が 3 であるとき、コンジュゲートは以下の模式図：

【化 4 1】



によって表される。

【0163】

10

20

30

40

50

### 例示的なコンジュゲート

治療用抗体を、1つ以上の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートすることができる。本出願は、特に、治療用抗体にコンジュゲートされる - 1, 6 - グルカンオリゴマーの長さ、治療用抗体にコンジュゲートされる - 1, 6 - グルカンオリゴマーの負荷量（例えば、各抗体にコンジュゲートされる - 1, 6 - グルカンオリゴマーの数）、及び - 1, 6 - グルカンオリゴマーを治療用抗体と結合するコンジュゲーションの種類に関する。いくつかの実施形態では、治療用抗体を、リンカーを介して1つ以上の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートすることができる。

#### 【0164】

本発明のいくつかの例示的な実施形態では、コンジュゲートが以下の特徴を有し得る（または組成物が、以下の特徴を有するコンジュゲートを含み得る）：

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して2～10個のグルコースモノマー単位からなる1～6個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して2～10個のグルコースモノマー単位からなる1～5個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して2～10個のグルコースモノマー単位からなる1～4個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して2～10個のグルコースモノマー単位からなる1～3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して2～10個のグルコースモノマー単位からなる2～4個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して2～10個のグルコースモノマー単位からなる2.5～3.5個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；または

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して2～10個のグルコースモノマー単位からなる3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して2～8個のグルコースモノマー単位からなる3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して3～7個のグルコースモノマー単位からなる3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して4～6個のグルコースモノマー単位からなる3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して4個のグルコースモノマー単位からなる3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して5個のグルコースモノマー単位からなる3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して6個のグルコースモノマー単位からなる3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して7個のグルコースモノマー単位からなる3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して8個のグルコースモノマー単位からなる3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている。

#### 【0165】

本発明のいくつかの例示的な実施形態では、コンジュゲートが以下の特徴を有し得る（または組成物が、以下の特徴を有するコンジュゲートを含み得る）：



10

本発明のいくつかの例示的な実施形態では、コンジュゲートが以下の特徴を有し得る（または組成物が、以下の特徴を有するコンジュゲートを含み得る）：

20

本発明のいくつかの例示的な実施形態では、コンジュゲートが以下の特徴を有し得る（または組成物が、以下の特徴を有するコンジュゲートを含み得る）：

30

## 40

50

れている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 4 . 5 ~ 5 . 5 個のグルコースモノマー単位からなる 2 . 5 ~ 3 . 5 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；または

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 4 . 5 ~ 5 . 5 個のグルコースモノマー単位からなる 3 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている。

#### 【 0 1 6 9 】

本発明のいくつかの例示的な実施形態では、コンジュゲートが以下の特徴を有し得る（または組成物が、以下の特徴を有するコンジュゲートを含み得る）：

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 8 個のグルコースモノマー単位からなる 1 ~ 6 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 8 個のグルコースモノマー単位からなる 1 ~ 5 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 8 個のグルコースモノマー単位からなる 2 ~ 4 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 8 個のグルコースモノマー単位からなる 2 . 5 ~ 3 . 5 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；または

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 8 個のグルコースモノマー単位からなる、3 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている。

#### 【 0 1 7 0 】

本発明のいくつかの例示的な実施形態では、コンジュゲートが以下の特徴を有し得る（または組成物が、以下の特徴を有するコンジュゲートを含み得る）：

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 7 個のグルコースモノマー単位からなる 1 ~ 6 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 7 個のグルコースモノマー単位からなる 1 ~ 5 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 7 個のグルコースモノマー単位からなる 2 ~ 4 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 7 個のグルコースモノマー単位からなる 2 . 5 ~ 3 . 5 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；または

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 7 個のグルコースモノマー単位からなる 3 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている。

#### 【 0 1 7 1 】

本発明のいくつかの例示的な実施形態では、コンジュゲートが以下の特徴を有し得る（または組成物が、以下の特徴を有するコンジュゲートを含み得る）：

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 6 個のグルコースモノマー単位からなる 1 ~ 6 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 6 個のグルコースモノマー単位からなる 1 ~ 5 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 6 個のグルコースモノマー単位からなる 2 ~ 4 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 6 個のグルコースモノマー単位からなる 2 . 5 ~ 3 . 5 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている；または

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 6 個のグルコースモノマー単位からなる 3 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている。

#### 【 0 1 7 2 】



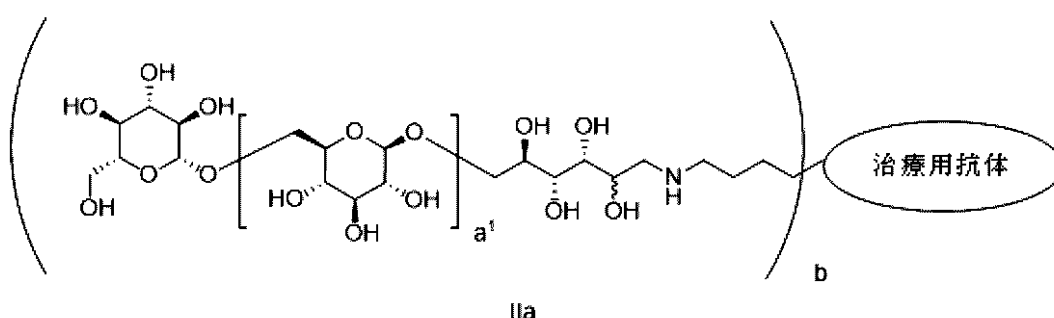
各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 2 個のグルコースモノマー単位からなる 1 ~ 5 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている ;  
 各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 2 個のグルコースモノマー単位からなる 4 ~ 6 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている ;  
 各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 2 個のグルコースモノマー単位からなる 5 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている ;  
 各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 2 個のグルコースモノマー単位からなる 2 ~ 4 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている ; または  
 各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 2 個のグルコースモノマー単位からなる 2 ~ 3 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに治療用抗体がコンジュゲートされている。

10

【0176】

本発明のいくつかの例示的な実施形態では、コンジュゲートは、式 II a :

【化42】



20

によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 1 ~ 9 であり ;  $b$  は 1 ~ 6 である。他の実施形態では、 $a^1$  は、1、2、3、4、5、6、7、8、または 9 である。他の実施形態では、 $b$  は、1、2、3、4、5、または 6 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 II a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 1 ~ 9 であり ;  $b$  は 2 ~ 4 である。

【0177】

別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 II a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 1 ~ 9 であり ;  $b$  は 3 である。

30

【0178】

別の実施形態では、コンジュゲートは式 II a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 1 ~ 3 であり ;  $b$  は 1 ~ 6 である。他の実施形態では、 $a$  は、1、2、または 3 である。他の実施形態では、 $b$  は、1、2、3、4、5、または 6 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 II a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 1 ~ 3 であり ;  $b$  は 2 ~ 4 である。

【0179】

別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 II a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 1 ~ 3 であり ;  $b$  は 3 である。

40

【0180】

別の実施形態では、コンジュゲートは式 II a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 2 ~ 4 であり ;  $b$  は 1 ~ 6 である。他の実施形態では、 $a^1$  は、2、3、または 4 である。他の実施形態では、 $b$  は、1、2、3、4、5、または 6 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 II a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 2 ~ 4 であり ;  $b$  は 2 ~ 4 である。

【0181】

別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 II a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 2 ~ 4 であり ;  $b$  は 3 である。

【0182】

50

別の実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 3 であり； $b$  は 1 ~ 6 である。他の実施形態では、 $b$  は、1、2、3、4、5、6 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 3 であり； $b$  は 2 ~ 4 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 3 であり； $b$  は 3 である。

#### 【0183】

別の実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 4 であり； $b$  は 1 ~ 6 である。他の実施形態では、 $b$  は、1、2、3、4、5、6 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 4 であり； $b$  は 2 ~ 4 または 4 ~ 6 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 4 であり； $b$  は 3 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 4 であり； $b$  は 5 である。

#### 【0184】

別の実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 5 であり； $b$  は 1 ~ 6 である。他の実施形態では、 $b$  は、1、2、3、4、5、6 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 5 であり； $b$  は 2 ~ 4 または 4 ~ 6 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 5 であり； $b$  は 3 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 5 であり； $b$  は 5 である。

#### 【0185】

別の実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 6 であり； $b$  は 1 ~ 6 である。他の実施形態では、 $b$  は、1、2、3、4、5、6 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 6 であり； $b$  は 2 ~ 4 または 4 ~ 6 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 6 であり； $b$  は 3 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 6 であり； $b$  は 5 である。

#### 【0186】

別の実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 7 であり； $b$  は 1 ~ 6 である。他の実施形態では、 $b$  は、1、2、3、4、5、6 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 7 であり； $b$  は 2 ~ 4 または 4 ~ 6 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 7 であり； $b$  は 3 である。別の例示的な実施形態では、コンジュゲートは式 I I a によって表すことができ、式中、 $a^1$  は 7 であり； $b$  は 5 である。

#### 【0187】

##### コンジュゲートの特性

本明細書に記載の様々な実施形態のいずれにおいても、本発明の治療用抗体コンジュゲートはその標的への結合が可能であり得る。いくつかの実施形態では、標的は、がんまたは腫瘍細胞によって増幅及び/または過剰発現する。いくつかの実施形態では、本発明の治療用抗体コンジュゲートは、その標的への結合を親抗体と競合する。いくつかの実施形態では、コンジュゲーションにより、補体 (C3) 沈着が増強される。C3 沈着は、C3 のアルファ鎖またはベータ鎖に対するモノクローナル抗体を用いたウエスタン分析または FACS 分析を含む任意の公知の方法によってアッセイすることができる。いくつかの実施形態では、コンジュゲーションにより、抗 - 1, 6 - グルカン抗体による結合が増強される。抗 - 1, 6 - グルカン抗体による結合は、抗ヒト IgG2 抗体を用いた ELISA 分析を含む任意の公知の方法によってアッセイすることができる。これら様々な実施形態における増強は、非コンジュゲート等価物と比較して、少なくとも 5 %、少なくとも

10

20

30

40

50

10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも75%、少なくとも100%、またはそれ以上であり得る。

【0188】

使用及び投与

以下の使用及び方法は、本明細書に記載のいずれのコンジュゲートにも適用される。本発明の治療用抗体コンジュゲートは、例えばがんの治療、例えば標的抗原（例えばタンパク質または他の部分）の増幅及び/または過剰発現を伴うがんの治療に使用することができる。本発明のコンジュゲートは、例えばがんの治療に使用することができる。いくつかの実施形態では、がんは乳癌である。いくつかの実施形態では、がんは卵巣癌である。いくつかの実施形態では、がんは膀胱癌である。いくつかの実施形態では、がんは唾液腺癌である。いくつかの実施形態では、がんは子宮内膜癌である。いくつかの実施形態では、がんは膵臓癌である。いくつかの実施形態では、がんは前立腺癌である。いくつかの実施形態では、がんは非小細胞肺癌（NSCLC）である。いくつかの実施形態では、がんは血液癌である。いくつかの実施形態では、がんは皮膚癌である。

10

【0189】

いくつかの実施形態では、がんは転移性である。様々な実施形態において、本明細書に記載の治療用抗体コンジュゲートの投与によって治療されるがんまたは腫瘍は、再発性または治療抵抗性のがんまたは腫瘍（例えば、非コンジュゲート治療用抗体による治療に抵抗性であるがんまたは腫瘍）である。そのような治療は、例えば、そのようながんに罹患しているか、罹患が疑われるか、または罹患していると診断された対象におけるものであり得る。様々な実施形態において、本明細書に記載のコンジュゲートは、がんまたは腫瘍に罹患しているか、罹患が疑われるか、または罹患していると診断された対象に投与すると、細胞増殖抑制性、細胞傷害性となるか、またはがんもしくは腫瘍の増殖を緩徐化、遅延化、または阻害する。様々な実施形態において、本明細書に記載のコンジュゲートは、がんまたは腫瘍に罹患しているか、罹患が疑われるか、または罹患していると診断された対象に投与すると、対象の生存期間を延長するか、または生存の可能性を高める。様々な実施形態において、本明細書に記載のコンジュゲートは、がんまたは腫瘍に罹患しているか、罹患が疑われるか、または罹患していると診断された対象に投与すると、がんまたは腫瘍の退縮または停滞を誘発させる。様々な実施形態において、本明細書に記載のコンジュゲートは、がんまたは腫瘍に罹患しているか、罹患が疑われるか、または罹患していると診断された対象に投与すると、がんまたは腫瘍の再発を阻害するのに有効な免疫反応を誘発させる。様々な実施形態において、本明細書に記載のコンジュゲートは、例えば標的とするがんまたは腫瘍に好中球を動員する。様々な実施形態において、本明細書に記載のコンジュゲートは、例えば標的とするがんまたは腫瘍の好中球浸潤を引き起こすかまたは促進する。様々な実施形態において、がんまたは腫瘍に罹患しているか、罹患が疑われるか、または罹患していると診断された対象に、本明細書に記載のコンジュゲートを投与しても、有害作用、例えばサイトカインストームまたは敗血症を誘発しない。

20

30

【0190】

いくつかの実施形態では、本発明のコンジュゲートは、その非コンジュゲート等価物（例えば、治療用抗体）と比較して、腫瘍をもつ対象において増強された治療反応を生じさせる。例えば、いくつかの実施形態では、コンジュゲーションは、腫瘍細胞に対する食作用及び/または細胞傷害性応答を増強するか、またはいくつかの実施形態では、腫瘍細胞の補体介在性の溶解を増強する。いくつかの実施形態では、これらの応答に好中球及び/またはマクロファージが介在する。食作用及び/または溶解は、タイムラプス顕微鏡または蛍光活性化細胞選別（FACS）を含む任意の公知の方法によって評価することができる。これら様々な実施形態における増強は、非コンジュゲート等価物と比較して、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも75%、少なくとも100%、またはそれ以上であり得る。

40

【0191】

50

様々な実施形態において、本明細書に記載のコンジュゲートを医薬組成物に組み込むことができる。そのような医薬組成物は、例えばがんまたは腫瘍の治療、例えば本明細書に記載のがんまたは腫瘍の治療に有用であり得る。本発明の医薬組成物は、当業者に公知の方法（例えば、その内容が参照により本明細書に組み込まれる、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22nd edition, ed. Lloyd Allen, Pharmaceutical Press and Philadelphia College of Pharmacy at University of the Sciences, 2012に記載される方法）によって製剤化することができる。

#### 【0192】

医薬組成物は、治療有効量の明細書に記載のコンジュゲートを含むことができる。そのような有効量は、部分的には、投与される組成物の効果、または複数の薬剤が使用される場合には、コンジュゲートと1つ以上の追加の活性薬との組み合わせ効果に基づいて当業者が容易に決定することができる。明細書に記載のコンジュゲートの治療有効量はまた、個体の病状、年齢、性別、及び体重、ならびに組成物（及び1つ以上の追加の活性薬）が所望する反応、例えば、少なくとも1つの病態パラメーターの改善、例えば、疾患または障害の少なくとも1つの症状の改善を個体に誘発する能力などの要因に応じて異なる可能性がある。対象に投与される用量に影響を与える他の要因には、例えば、疾患または障害の種類または重症度が含まれる。他の要因には、例えば、対象が同時期にまたは以前に罹患している他の医学的障害、対象の健康状態全般、対象の遺伝的素因、食事、投与時間、排泄頻度などが含まれ得る。明細書に記載の組成物のいずれかに適したヒト用量を、例えば、第I相用量漸増試験でさらに評価することができる。

#### 【0193】

投与経路は、非経口投与、例えば注射による投与であり得る。医薬組成物は、水または別の薬学的に許容される液体の滅菌溶液または滅菌懸濁液を含む注射用製剤の形態で非経口投与することができる。例えば、医薬組成物は、治療用分子を滅菌水及び生理食塩水などの薬学的に許容されるビヒクルまたは媒体、及び他の好適な賦形剤と適切に組み合わせた後、一般に認められた薬務に必要な単位剤形で混合することによって製剤化することができる。医薬組成物に含まれるコンジュゲートの量は、指定された範囲内の適切な用量が供給されるような量である。製剤化した注射剤を好適なアンプルに封入することができる。

#### 【実施例】

#### 【0194】

本明細書に記載の実施例は、特に、種々のmAbXciteコンジュゲート（1つ以上の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに結合された治療用抗体）の作製に使用するための、プスツランからのグルカンの精製、種々のmAbXcite - コンジュゲートの生成及び特性決定、合成 - 1, 6 - グルカンの製造方法、及び治療用抗体を1つ以上の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートするための好適な結合化学を実証する。

#### 【0195】

HER2 - mAbXciteコンジュゲートまたはmAbXcite - トラストズマブコンジュゲート（1つ以上の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにトラストズマブを結合）の、異なる長さ（例えば、トラストズマブ分子あたり約3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーに4～6個のグルコースモノマー単位）の - 1, 6 - グルカンオリゴマーとのコンジュゲーションの効果に関する試験もまた本明細書に記載する。 - 1, 6 - グルカンオリゴマーとコンジュゲートされたときのHER2へのトラストズマブの結合を試験したところ、コンジュゲートされていないトラストズマブと同様であることが見出された。本発明の実施例に記載される結果のなかには、HER2 - mAbXciteコンジュゲートで処置されたトラストズマブ抵抗性腫瘍異種移植マウスモデルにおける前臨床での成功結果が含まれている。

#### 【0196】

EGFR - mAbXciteコンジュゲートまたはmAbXcite - セツキシマブコ

ンジュゲート（１つ以上の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにセツキシマブを結合）の、異なる長さ（例えば４～９個のグルコースモノマー単位）、及び異なる負荷量（例えばセツキシマブ分子あたり平均１～６個の - 1, 6 - グルカンオリゴマー）の - 1, 6 - グルカンオリゴマーとのコンジュゲーションの効果に関する試験もまた本明細書に記載する。 - 1, 6 - グルカンオリゴマーとコンジュゲートされたときの E G F R へのセツキシマブの結合に加え、その抗体依存性細胞介在性細胞傷害（A D C C）を試験したところ、コンジュゲートされていないセツキシマブと同様であることが見出された。本発明の実施例に記載の結果のうち、m A b X c i t e - セツキシマブコンジュゲートは好中球を動員することがライブイメージング技術及び組織学によって確認された。本明細書に記載の結果にはまた、B R A F 及び K R A S 変異を有する腫瘍異種移植マウスモデルにおける前臨床での成功結果が含まれている。

10

#### 【 0 1 9 7 】

本発明は、２つの異なる治療用抗体（トラスツズマブ及びセツキシマブ）を使用して得られたこれらの結果、例えば特定の長さの - 1, 6 - グルカンオリゴマー及び特定の負荷量の - 1, 6 - グルカンオリゴマーを使用した場合に観察される改善が、本明細書に記載のものを含む他の治療用抗体に一般化できるという認識を包含する。

#### 【 0 1 9 8 】

ある種の本発明の実施例において、 - 1, 6 - グルカンコンジュゲートの試験に有用なモデルとしてマウスを選択した。その理由は、この哺乳動物が低力価の内因性抗 - 1, 6 - グルカンしか有さないためである。その結果、抗 - 1, 6 - グルカン抗体のレベルを、I V I G の投与によって制御することができた。

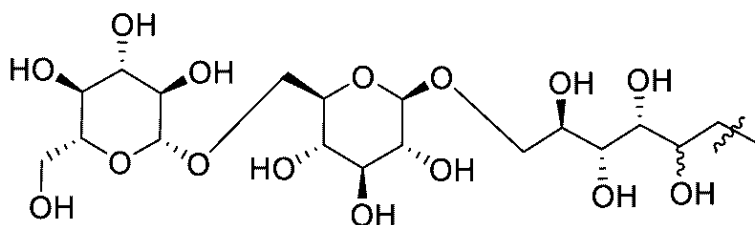
20

#### 【 0 1 9 9 】

以下の実施例で使用されるように、グルカンは「# 量体」と呼ばれる場合があり、ここでの「#」はトラスツズマブまたはセツキシマブとのコンジュゲーション前に存在していたグルコースモノマー単位の数である。例えば、限定するものではないが、コンジュゲーション前に３つのグルコースモノマー単位を含むグルカンを、「３量体」または「3 m e r」として識別し、４つのグルコースモノマー単位を含むグルカンを、「４量体」または「4 m e r」として識別し、５つのグルコースモノマー単位を含むグルカンを、「５量体」または「5 m e r」などとして識別することができる。グルカンが還元的アミノ化（直接コンジュゲーション）を介してコンジュゲートされる場合、グルコースモノマー単位のうちの１つが開環して、残りのグルコースモノマー単位とトラスツズマブまたはセツキシマブとの間に「リンカー」を形成する。したがって、「３量体」を用いた直接コンジュゲーションによって調製されたコンジュゲートを指す場合、以下の構造：

30

#### 【 化 4 3 】



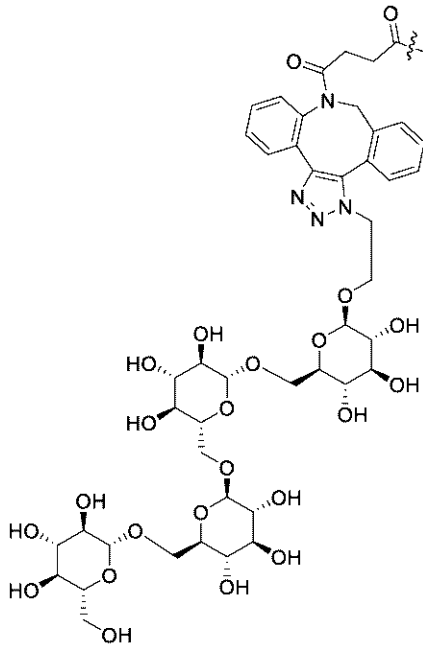
40

を含むと考えられ、例えば N H S D B C O のような非グルコース系のリンカーが、例えば、「４量体」とともに使用される場合、得られるコンジュゲートは以下の構造：

50



## 【化 4 4】



10

を含むと考えられる。

20

## 【0200】

各実施例において例示的な実施形態が詳細に記載されているが、添付の特許請求の範囲に定義されるような本発明の趣旨及び範囲から逸脱することなく、様々な変更、置換、及び改変が各実施形態になされ得るものと理解されるべきである。

## 【0201】

実施例1：プスツランからのオリゴマーの精製

プスツランの分解

プスツラン (Elicityl-Oligotech) を  $100\text{ mg/ml}$  で濃塩酸に懸濁させた。得られたスラリーを室温で  $1.25$  時間激しく攪拌する間に、混合物の粘度は著しく低下した。次いで、微細な黒色スラリーを、7 容量の  $n$ -プロパノールを入れたビーカーに移すと、黄褐色の固体が沈殿した。15 分間激しく攪拌した後、混合物を数本のチューブに移し、遠心分離 ( $3600 \times g$ 、5 分間) により不溶性固体を液体から分離した。上清をデカントして、薄茶色のペレットを残した。ペレットをエタノール及び  $n$ -プロパノールで順次洗浄し、微量の低級糖 (単糖類及び二糖類) を除去した。各チューブに水を添加し、引き続き混合物を室温で一晩攪拌した。これらの攪拌混合物の遠心分離 ( $3600 \times g$ 、15 分間) により、暗褐色のペレット及び透明で淡色の上清を得た。上清をプールして凍結し、凍結乾燥させ、出発物質のプスツランを基準として  $15$  質量% の回収率で、 $-1, 6$ -グルカンのラダーを黄褐色の粉末として得た。X Bridge BEH HILIC Amide OBD 分取カラムによる混合物の LC-MS 分析によって決定したところ、得られたオリゴ糖のサイズは  $3\text{ mer} \sim 14\text{ mer}$  までの範囲であり、それより大きいオリゴ糖 ( $14$  超) は LC では存在するが MS の検出限界外であった (X Bridge BEH Amide HILIC OBD 分取カラム、 $130$ 、 $5\text{ }\mu\text{m}$ 、 $19\text{ mm} \times 250\text{ mm}$ 、及び X Bridge BEH Amide HILIC 分析カラム、 $3.5\text{ }\mu\text{m}$ 、 $3\text{ mm} \times 100\text{ mm}$ 、Waters から入手、使用前に製造業者による記載の通りに予備洗浄;  $0.1\%$  ギ酸を含む  $95 \sim 40\%$  アセトニトリル/水、 $50$ 、 $0.75\text{ mL/分}$  で  $15$  分間)。加えて、ELS D 分析によって決定したところ、物質の大部分を  $3\text{ mer} \sim 8\text{ mer}$  が占めていた。

30

40

## 【0202】

P2 によるオリゴ糖ラダーのバルクサイズ分画

XK50 カラム (Biorad から入手した P2 極細樹脂。製造業者による記載の通り

50

に前処理し、2つのXK50 100cm長カラムの充填に利用した)を、Agilent 1100アイソクラティックポンプに並列に接続した。ポンプの下流に外部圧力計を設置し、カラム圧力をモニターした。分離はすべて、0.1M酢酸を利用して流速3.5ml/分で実施した。オリゴ糖ラダーを水に溶解して総容量を最大12mLにし、13mlのループを備える手動注入器を通してカラムに注入した。約500分間かけて分離を行い、最初の240分は分流して廃棄した。残りのフローを6mL画分ずつ合計288画分採取した。画分をMALDI/TOFによって分析し、異なったサイズの-1,6-グルカンを含む画分をまとめてプールして凍結し、凍結乾燥させた。

#### 【0203】

HILIC及びC18/C18AQクロマトグラフィーによるオリゴ糖の最終精製

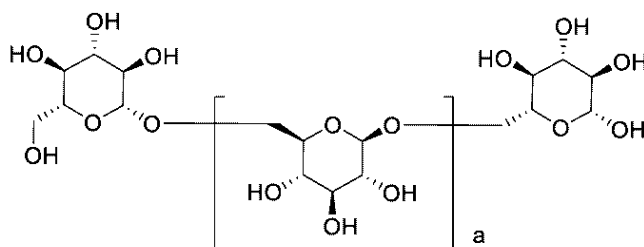
P2精製からの乾燥試料を最少量の水に溶解し、さらにXBridge BEH Amide HILIC OBD分取カラムで分離した(XBridge BEH Amide HILIC OBD分取カラム、130、5µm、19mm×250mm、及びXBridge BEH Amide HILIC分析カラム、3.5µm、3mm×100mm、Watersから入手、使用前に製造業者による記載の通りに予備洗浄;130、5µm、19mm×250mm、0.1%ギ酸を含む95~40%アセトニトリル/水、25mL/分で30分間)。LC/MSによって決定される異なったサイズのオリゴ糖を含む精製画分を凍結し、凍結乾燥させた。完全に乾燥させた後、0.1%ギ酸を含む最少量の水にオリゴ糖を再溶解し、順列に接続したC18 AQ及びC18カラム(Teledyne ISCOから入手し、使用前に製造業者の推奨に従って予備洗浄したC18及びC18AQカートリッジ;10倍wt/wtベッドサイズ)に通し、生成物を0.1%ギ酸を含む水(10カラム容量)で溶出した。フロースルーを凍結し、凍結乾燥させて白色粉末とした。

#### 【0204】

実施例2: -1,6-グルカンオリゴマーのトラスツズマブへのコンジュゲーション  
還元的アミノ化による -1,6-グルカンオリゴマーのトラスツズマブへのコンジュゲーション

実施例1に記載のようにプスツランから得た -1,6-グルカンオリゴマーを、還元的アミノ化によってトラスツズマブにコンジュゲートした。 -1,6-グルカンオリゴマーは式V:

#### 【化45】



V

のものであり、式中、aは3~5である。トラスツズマブをTFF(50kDa膜)によって保存溶液から0.2Mホウ酸Na、pH8.0へ緩衝液交換し、トラスツズマブを濃縮させた(10~20mg/ml)。 -1,6-オリゴマーを、エンドトキシンプリーの0.1M水溶液として調製した。エンドトキシンプリー水中の0.3Mシアノ水素化ホウ素ナトリウム、及び10:90のPEG2000:エンドトキシンプリー水の溶液に、pHが約8.0になるまで0.1Mホウ酸ナトリウムを添加した。トラスツズマブの濃度が5mg/mLになるまでトラスツズマブを添加した。230倍モル過剰の -1,6-オリゴマー溶液を21で添加し、反応物を23時間攪拌した。100倍モル比のリジン

をオリゴ糖に添加することによってコンジュゲーションを停止させた。反応停止溶液は、

0.1 M 酢酸 Na、pH 8.0 中、1 M リジンであった。

#### 【0205】

コンジュゲーション後、反応混合物を、50 kDa の TFF 膜を用いて、46.7% トレハロース脱水物、0.74% L-ヒスチジン、及び 1.15% L-ヒスチジン塩酸塩一水和物に、1 倍から 10 倍に希釈した。最終のトラスツズマブ-オリゴ糖コンジュゲートを 1 mg/ml に調整した。保存緩衝液は、4 の、46.7% トレハロース脱水物、0.74% L-ヒスチジン、1.15% L-ヒスチジン塩酸塩一水和物、及び 0.01% のポリソルベート 20 であった。コンジュゲートされていないオリゴ糖は、オリゴ糖-トラスツズマブコンジュゲートの濃度の 0.1% 未満であった。平均 MW 2000 の PEG は、オリゴ糖-トラスツズマブコンジュゲートの濃度の 0.1% 未満であった。

10

#### 【0206】

分析方法：

a) SEC 分離

a. 未修飾トラスツズマブ

b. オリゴ糖-トラスツズマブコンジュゲート

c. SEC 分離は、TSK gel Super SW3000、4 mm、250 シリカ、4.6 mm 内径 × 30 cm を利用。移動相 0.4 M の NaClO<sub>4</sub>、0.05 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、pH 7.2 を使用、λ = 280 nm での UV 検出を利用

b) MALDI による負荷量の推定 (AB Sciex MALDI/Q-TOF 4800 または同等の機器)。注：オリゴ糖は親水性のため、HIC により個々の負荷を決定することはできない。

20

a. リニア高質量ポジティブモードで BSA (MW 66341) を検量線標準 (AB Sciex) として使用

b. シナピン酸 (Sigma) をマトリックスとして利用

c. ネイティブのトラスツズマブを対照として使用

d. トラスツズマブコンジュゲートの平均 m/z を未修飾のトラスツズマブの平均 m/z から減算し、推定負荷量を求め、単位負荷量の質量で除算して、コンジュゲートの負荷量を決定する。データの平均標準偏差は、0.2 ~ 0.3 負荷量単位である

c) HABA (Sigma) をマトリックスとして使用した、MALDI によるオリゴ糖の m/z 測定 (AB Sciex 4800 または同等の機器)。

30

d) XBridge 3 mm × 10 cm、3.5 μm 粒径 (Waters) を使用して LC-MS によりオリゴ糖の m/z を測定。移動相 A：水 / 0.1% 酢酸、B：100% アセトニトリル / 0.1% 酢酸を使用。質量分析に ZQ (Waters) を使用する。

#### 【0207】

実施例 3：ELISA による HER2-mAbXcite の結合有効性

本実施例は、実施例 2 に記載するように調製した HER2-mAbXcite コンジュゲートの HER2 への結合能試験について記載する。ELISA プレートのウェルを HER2 抗原でコーティングした。PBS 対照、トラスツズマブ、HER2-mAbXcite (5 量体)、及び HER2-mAbXcite (6 量体) をウェルに加え、インキュベートした。ウェルを洗浄し、標識した抗ヒト IgG 抗体をウェルに添加した。インキュベーション後、ウェルを洗浄し、検出試薬を塗布して、プレートを読み取った。図 1 に示すように、PBS 対照のシグナルは陰性であり、トラスツズマブ、HER2-mAbXcite (5 量体)、及び HER2-mAbXcite (6 量体) の結合が検出された。

40

#### 【0208】

実施例 4：ELISA による HER2-mAbXcite の検出

本実施例は、実施例 2 に記載するように調製した HER2-mAbXcite コンジュゲートを検出するための選択的 ELISA について記載する。ELISA プレートのウェルを HER2 抗原でコーティングした。PBS 対照、トラスツズマブ、HER2-mAbXcite (5 量体)、及び HER2-mAbXcite (6 量体) をウェルに加え、インキュベートした。ウェルを洗浄し、ヒト抗 - 1, 6 - グルカンポリクローナル抗体を

50

ウェルに添加した。インキュベーション後、ウェルを洗浄し、標識した抗ヒト I g G 2 抗体をウェルに添加した。インキュベーション後、ウェルを洗浄し、検出試薬を塗布して、プレートを読み取った。図 2 に示すように、P B S 対照及びトラスツズマブのシグナルは陰性であり、H E R 2 - m A b X c i t e ( 5 量体)、及び H E R 2 - m A b X c i t e ( 6 量体) は検出された。

#### 【 0 2 0 9 】

実施例 5：ヌードマウスにおける H E R 2 - m A b X c i t e ( 5 量体) 及び ( 6 量体) の有効性試験

本実施例では、実施例 2 に記載するように調製した H E R 2 - m A b X c i t e コンジュゲートの有効性を、トラスツズマブ抵抗性ヒト細胞株 J I M T - 1 を移植したヌードマウスモデルにおいて試験した。本試験は、還元的アミノ化 ( 直接) 化学反応、抗体あたり約 3 オリゴマーの負荷量である 5 量体または 6 量体オリゴマーをコンジュゲーションに利用した H E R 2 - m A b X c i t e に関するものであった。

10

#### 【 0 2 1 0 】

本実施例では、7 週齢の雌ヌードマウスに  $2.5 \times 10^6$  個の J I M T - 1 細胞を移植した。腫瘍の大きさが  $150 \sim 182 \text{ mm}^3$  に達したら、マウスを 5 つの試験処置群に無作為に割り付けた。その結果、各群の平均腫瘍体積は約  $160 \text{ mm}^3$  であった。各抗体の投与前に、プールしたヒト抗体 ( I V I G ) 約  $500 \text{ mg} / \text{kg}$  (  $0.1 \text{ mL}$  ) をすべてのマウスに腹腔内 ( I P ) 注射した。I V I G 投与の 2 時間後、I P 注射により以下の処置のうちの 1 つを各群に施した：P B S 対照； $15 \text{ mg} / \text{kg}$  のトラスツズマブ； $15 \text{ mg} / \text{kg}$  の H E R 2 - m A b X c i t e ( 5 量体) ； $15 \text{ mg} / \text{kg}$  の H E R 2 - m A b X c i t e ( 6 量体) ；または K a d c y l a ( 登録商標) ( T - D M I ) 。

20

#### 【 0 2 1 1 】

本試験を通して、週 2 回腫瘍をモニターし、外カリパスを用いて腫瘍増殖率を測定した。処置初日の前後に腫瘍を測定した。体重も週 2 回収集した。最大腫瘍体積が  $2000 \text{ mm}^3$  に達したときにマウスを安楽死させた。腫瘍が潰瘍化した場合、腫瘍が歩行を妨げた場合、または身体状態の悪化があった場合にも、マウスを安楽死させた。元の体重からの減少が 15 % を超えた場合にも、マウスを安楽死させた。

#### 【 0 2 1 2 】

本実験から収集したデータの分析を実施した。腫瘍体積は、以下の式に基づいて計算した： $TV (\text{mm}^3) = \{ \text{長さ} (\text{mm}) \times \text{幅} (\text{mm})^2 \} / 2$ 。図 3 は、腫瘍の大きさを平均値で表した結果を示す。図 4 は、腫瘍の大きさを中央値で表した結果を示す。

30

#### 【 0 2 1 3 】

H E R 2 - m A b X c i t e ( 6 量体) は、H E R 2 - m A b X c i t e ( 5 量体) よりも、試験期間にわたる腫瘍の大きさの平均値及び中央値の減少に有効であることが観察された。図 5 及び 6 に示すように、H E R 2 - m A b X c i t e ( 6 量体) は、それぞれ処置後 37 日目及び 51 日目の時点でトラスツズマブよりも有効であることが示された。

#### 【 0 2 1 4 】

実施例 6：ヌードマウスにおける H E R 2 - m A b X c i t e ( 5 量体)、( 6 量体)、及び ( 7 量体) の有効性試験

40

本実施例では、実施例 2 に記載するように調製した H E R 2 - m A b X c i t e コンジュゲートの有効性を、トラスツズマブ抵抗性ヒト細胞株 J I M T - 1 を移植したヌードマウスモデルにおいて試験する。本試験は、還元的アミノ化 ( 直接) 化学反応、抗体あたり約 3 オリゴマーの負荷量である 5 量体、6 量体、または 7 量体オリゴマーをコンジュゲーションに利用した H E R 2 - m A b X c i t e に関するものである。

#### 【 0 2 1 5 】

本実施例では、7 ~ 9 週齢の雌ヌードマウスに  $2.5 \times 10^6$  個の J I M T - 1 細胞を移植する。腫瘍の大きさが約  $150 \sim 180 \text{ mm}^3$  に達したら、マウスを 5 つの試験処置群に無作為に割り付ける。各抗体の投与前に、プールしたヒト抗体 ( I V I G ) 約  $500 \text{ mg} / \text{kg}$  (  $0.1 \text{ mL}$  ) をすべてのマウスに腹腔内 ( I P ) 注射する。I V I G 投与の

50

2 時間後、I P 注射により以下の処置のうちの 1 つを各群に施す：P B S 対照；トラスツズマブ；H E R 2 - m A b X c i t e ( 5 量体 )；H E R 2 - m A b X c i t e ( 6 量体 )；または H E R 2 - m A b X c i t e ( 7 量体 )。

【 0 2 1 6 】

本試験を通して、週 2 回腫瘍をモニターし、外カリパスを用いて腫瘍増殖率を測定する。処置初日の前後に腫瘍を測定する。体重も週 2 回収集する。最大腫瘍体積が  $2000\text{ mm}^3$  に達したときにマウスを安楽死させる。腫瘍が潰瘍化する場合、腫瘍が歩行を妨げる場合、または身体状態の悪化がある場合にも、マウスを安楽死させる。元の体重からの減少が 15 % を超えた場合にも、マウスを安楽死させる。本実験から収集したデータの分析を実施する。腫瘍体積は、以下の式に基づいて計算する： $TV(\text{mm}^3) = \{ \text{長さ}(\text{mm}) \times \text{幅}(\text{mm})^2 \} / 2$ 。

10

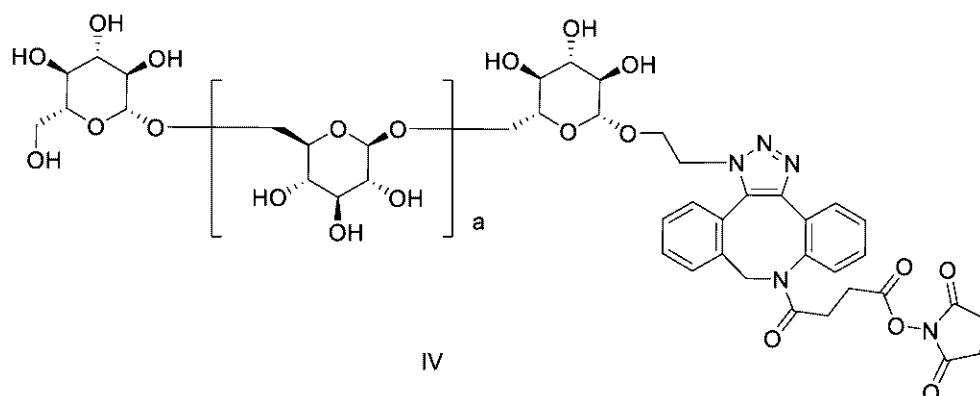
【 0 2 1 7 】

実施例 7： - 1, 6 - グルカンオリゴマーのセツキシマブへのコンジュゲーション

戦略 1：NHS - DBCO による - 1, 6 - グルカンオリゴマーのセツキシマブへのコンジュゲーション

式 I V の化合物：

【 化 4 6 】



20

をセツキシマブ ( P B S 中  $1\text{ mg/mL}$ 、 $\text{pH } 7.2$  ) にコンジュゲートした。それには、P B S (  $\text{pH } 7.2$ 、3 % D M S O 含有 ) の反応溶液に 1.2 倍過剰の上記化合物の合成物を添加し、反応物を 21 で 30 分間撹拌した。N H S - D B C O - オリゴ糖に対して 100 倍比のリジンを添加することによって反応を停止させた。次に、P B S (  $\text{pH } 7.2$  ) を用いて  $50\text{ kDa}$  の T F F 膜で混合物を緩衝液交換した。最終のセツキシマブ - オリゴ糖コンジュゲートを  $1\text{ mg/mL}$  に調整した。保存緩衝液は 4、 $\text{pH } 7.2$  の P B S である。コンジュゲートされないオリゴ糖は、オリゴ糖 - セツキシマブコンジュゲートの濃度の 0.1 % 未満である。

30

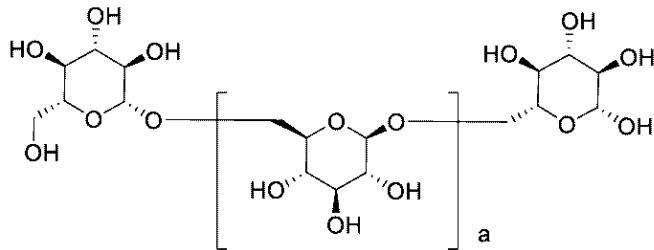
【 0 2 1 8 】

戦略 2：還元的アミノ化による - 1, 6 - グルカンオリゴマーのセツキシマブへのコンジュゲーション

別法として、還元的アミノ化により - 1, 6 - グルカンオリゴマーをセツキシマブにコンジュゲートした。 - 1, 6 - グルカンオリゴマーは式 V：

40

## 【化 4 7】



V

10

のものであり、式中、 $a$ は0～8である。セツキシマブをTFF（50 kDa膜）によって保存溶液から0.2 M 酢酸Na、pH 8.0へ緩衝液交換し、セツキシマブを濃縮させた（10～20 mg/ml）。-1,6-オリゴマーを、エンドキシンプリーの0.1 M水溶液として調製した。

## 【0219】

エンドキシンプリー水中の0.3 Mシアノ水素化ホウ素ナトリウム、及び10:90のPEG 2000:エンドキシンプリー水の溶液に、pHが約8.0になるまで0.1 M 酢酸ナトリウムを添加した。セツキシマブの濃度が5 mg/mlになるまでセツキシマブを添加した。230倍モル過剰の-1,6-オリゴマー溶液を21で添加し、反応物を23時間撹拌した。100倍モル比のリジンをオリゴ糖に添加することによってコンジュゲーションを停止させる。反応停止溶液は、0.1 M 酢酸Na、pH 8.0中、1 M リジンである。

20

## 【0220】

コンジュゲーション後、反応混合物をPBS（pH 7.2）で1倍から10倍に希釈し、PBS（pH 7.2）を用いて50 kDaのTFF膜で緩衝液交換した。最終のセツキシマブ-オリゴ糖コンジュゲートを1 mg/mlに調整した。保存緩衝液は4、pH 7.2のPBSであった。コンジュゲートされないオリゴ糖は、オリゴ糖-セツキシマブコンジュゲートの濃度の0.1%未満であった。平均MW 2000のPEGは、オリゴ糖-セツキシマブコンジュゲートの濃度の0.1%未満であった。

30

## 【0221】

分析方法：

e) SEC分離

d. 未修飾セツキシマブ

e. オリゴ糖-セツキシマブコンジュゲート

f. SEC分離は、TSK gel Super SW3000、4 mm、250 シリカ、4.6 mm内径×30 cmを利用。移動相0.4 MのNaClO<sub>4</sub>、0.05 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、pH 7.2を使用、 $\lambda = 280$  nmでのUV検出を利用

f) MALDIによる負荷推定（AB Sciex MALDI/Q-TOF 4800または同等の機器）。注：オリゴ糖は親水性のため、HICにより個々の負荷を決定することはできない。

40

e. リニア高質量ポジティブモードでBSA（MW 66341）を検量線標準（AB Sciex）として使用

f. シナピン酸（Sigma）をマトリックスとして利用

g. ネイティブのセツキシマブを対照として使用

h. セツキシマブコンジュゲートの平均 $m/z$ を未修飾のセツキシマブの平均 $m/z$ から減算し、推定負荷量を求め、単位負荷量の質量で除算して、コンジュゲートの負荷量を決定する。データの平均標準偏差は0.2～0.3負荷量単位である

g) HABA（Sigma）をマトリックスとして使用した、MALDIによるオリゴ糖の $m/z$ 測定（AB Sciex 4800または同等の機器）。

50

h) X B r i d g e 3 m m × 1 0 c m、3 . 5 μ m 粒径 ( W a t e r s ) を使用して L C - M S によりオリゴ糖の m / z を測定。移動相 A : 水 / 0 . 1 % ギ酸、B : 1 0 0 % アセトニトリル / 0 . 1 % ギ酸を使用。質量分析に Z Q ( W a t e r s ) を使用する。

【 0 2 2 2 】

実施例 8 : セツキシマブのグルカンとのコンジュゲーションは E G F R への結合を変化させない

コンジュゲーションがセツキシマブの E G F R への結合に影響を与えるかどうかに関する試験を行った。これらの実験は、対照としてセツキシマブ及びリツキシマブを使用して行った。ヒト抗 - 1 , 6 - グルカンのポリクローナル抗体及びマウス抗ヒト I g G - F I T C を用いて試料を検出した。ブロッキング及び染色緩衝液 ( P B S、p H 7 . 2 + 2 % B S A ) 及び洗浄緩衝液 ( P B S、p H 7 . 2 ) も利用した。

10

【 0 2 2 3 】

2 × 1 0 <sup>5</sup> 個の A 4 3 1 ( 上皮細胞、類表皮癌 ) 細胞を P B S - B S A 中にて室温で 1 時間ブロックした後、m A b X c i t e - セツキシマブ、セツキシマブ、またはリツキシマブ ( 陰性対照 ) と、染色緩衝液中にて室温で 1 時間インキュベートした。次いで細胞を洗浄し ( 3 回 )、検出抗体 ( マウス抗ヒト I g G - F I T C ) を 1 : 1 0 0 希釈で添加した。さらに 3 回洗浄した後、細胞を遠心沈降させ、P B S に再懸濁して、F A C S C a l i b u r ( B D B i o s c i e n c e s ) を使用して F A C S により分析した。細胞を F A C S ( F I T C に対する F L 1 ) によって分析した。

【 0 2 2 4 】

20

- 1 , 6 - グルカンのコンジュゲーションは、セツキシマブの E G F R への結合を妨害しなかった。m A b X c i t e - セツキシマブの E G F R への結合は、非特異的対照 ( 「抗体なし」 ) であるリツキシマブ、セツキシマブ、及び m A b X c i t e - セツキシマブ ( 6 量体、7 量体、または 8 量体の - 1 , 6 - グルカンオリゴマー ) を用い、抗体あたり 1 ~ 5 個の - 1 , 6 - グルカンオリゴマーの範囲の負荷について ( 図 7、8、及び 9 )、F A C S により評価した。結果は、どのコンジュゲートまたは負荷量 ( 具体的には、1 もしくは 2 負荷量の 8 量体の - 1 , 6 - グルカンオリゴマー、または 3 ~ 5 負荷量の 5 量体の - 1 , 6 - グルカンオリゴマー ) も、セツキシマブ対照と比較した場合に、E G F R への結合が損なわれなかったことを示している。直接コンジュゲーションに関連した本明細書で考察する本実施例及び他の実施例では、- 1 , 6 - グルカンオリゴマーをプスツランから精製した。実施例 1 に記載したように、プスツランを処理して - 1 , 6 - グルカンのラダーを得て、それから、例えば分画及び精製により、所望の長さを有するオリゴマーを調製した。

30

【 0 2 2 5 】

実施例 9 : セツキシマブのグルカンとのコンジュゲーションは A D C C を変化させない。

本発明者らはまた、グルカンとのコンジュゲーションがセツキシマブの抗体依存性細胞介在性細胞傷害 ( A D C C ) に影響を及ぼすかどうかを調べた。本アッセイでの測定値は、N F A T 応答要素によって駆動されるホタルルシフェラーゼの発現による発光シグナルであった。

【 0 2 2 6 】

40

これらの実験も、対照としてセツキシマブ及びリツキシマブを使用して行った。標的細胞として A D C C B i o a s s a y E f f e c t o r ヒト及び上皮癌細胞株 A 4 3 1 を使用して、m A b X c i t e - セツキシマブに対する A D C C レポーターバイオアッセイ応答を試験した。実験は A D C C R e p o r t e r B i o a s s a y ( P r o m e g a ) を使用して実施した。簡潔には、標的細胞 ( A 4 3 1 ) を完全培地にウェルあたり 5 , 0 0 0 細胞の密度で播種し、一晩置いた。バイオアッセイ日に、抗体 ( セツキシマブ、セツキシマブ - m A b X c i t e、及び対照であるリツキシマブ ) を段階希釈した。細胞培地を注意深く除去した後、様々な濃度のコンジュゲート及び抗体を細胞に添加し、続いて A D C C B i o a s s a y E f f e c t o r 細胞を添加した。E : T 比は 1 5 : 1 であった。3 7 ° C で 6 時間誘導した後、B i o - G l o ( 商標 ) ルシフェラーゼアッセイ試薬

50

を添加し、Envision照度計を使用して発光を測定した（図10及び11）。

【0227】

GraphPad Prism（登録商標）ソフトウェアを使用して、データを4PL曲線にフィッティングした。セツキシマブ/A431標的細胞を用いた応答のEC<sub>50</sub>は約20 ng/mlであった。この結果は、ADCC Bioassay Effector細胞及びA431標的細胞を使用したADCCレポーターバイオアッセイにおいて、-1, 6-グルカンコンジュゲーションがセツキシマブ対照と比較してセツキシマブのADCC（2.5、3、または4負荷量の5量体オリゴマーを有するmAbXcite-セツキシマブ）を変化させなかったことを実証している。

【0228】

実施例10：mAbXcite-セツキシマブコンジュゲートでの-1, 6-グルカンオリゴマーの長さ及び負荷量

in vitroでの抗体活性を評価するために、2つの主要効力アッセイを開発した。

【0229】

1つ目の当該アッセイでは、抗-1, 6-グルカンのELISAを使用して抗体活性を評価した。このELISAでは、組換えEGFRペプチドをELISAプレートに吸着させた。セツキシマブまたはmAbXcite-セツキシマブの結合に続いて、-1, 6-オリゴマーを抗-1, 6-グルカン抗体によって検出した。このアッセイの結果は、MALDI-TOFにより評価された平均オリゴマー負荷量と良好に相関する。

【0230】

2つ目の当該アッセイでは、抗-1, 6-グルカンのFACSを使用して抗体活性を評価した。このアッセイでは、抗体をEGFRペプチドではなく生細胞に添加した。-1, 6-オリゴマーを抗-1, 6-グルカン抗体によって検出した。このアッセイの結果もまた、MALDI-TOFにより評価された平均オリゴマー負荷量と良好に相関する。

【0231】

ELISAアッセイ

本試験は、抗-1, 6-グルカン抗体のmAbXcite-セツキシマブへの結合を評価するために実施した。本実験では、-1, 6-グルカンオリゴマーの長さがmAbXcite-セツキシマブ活性に与える影響を評価するため、オリゴマーの負荷量は2または6であり、オリゴマーの長さは4量体～9量体であり、グルカンのセツキシマブとの結合はDBCOまたは直接のいずれかであった。セツキシマブを対照として使用した。ブロッキング及び染色緩衝液（PBS、pH7.2+2%BSA）及びPBS-Tween緩衝液（pH7.2、0.05%Tween）も利用した。ELISAは、1-Step（商標）Ultra TMB-ELISA（Pierce）を使用して実施した。

【0232】

組換えEGFRペプチド（R&D製のrhEGFR/Fcキメラペプチド）をELISAプレート（MaxiSorp）に4で一晩吸着させた。3回洗浄した後、非特異的結合部位を室温で1時間ブロックした。次いで、セツキシマブまたはmAbXcite-セツキシマブを加え、室温で1時間、プレートシェーカー上でインキュベーションを行い、続いてさらに3回洗浄した。-1, 6-グルカンオリゴマーの検出を可能にするために、抗-1, 6-グルカン抗体（ヒト抗-1, 6-グルカンのポリクローナル抗体）をプレートに添加し（3 µg/ウェル）、室温で45分間インキュベートした。ウェルを3回洗浄し、1:5000希釈の抗ヒトIgG2（Fc）-HRP抗体（マウス抗ヒトIgG2（Fc）-HRP）と室温で45分間インキュベートした。十分に洗浄を行い（5回）、100 µLのTMB基質を用いて視覚化を行った。

【0233】

OD620 nmでプレートを直に読み取った。また読み取りは1時間にわたり毎分行った。示されたデータは3つの複製ウェルの平均+/-標準偏差である（図12及び13）。DBCO（A）及び直接（B）コンジュゲートへの結合をELISAによって評価した。試験したmAbXcite-セツキシマブのコンジュゲートはすべて、本アッセイにお

10

20

30

40

50



いて活性であった。飽和に達した場合、オリゴマーの長さ（最大 7 ～ 8 量体）が増加すると活性の増加が観察された。

#### 【 0 2 3 4 】

##### F A C S アッセイ

本試験は、m A b X c i t e - セツキシマブが生細胞上の E G F R に結合したときに、すべての長さの - 1 , 6 - グルカンオリゴマーが抗 - 1 , 6 - グルカン抗体によって認識されるかどうかを確認するために行った。セツキシマブを対照とし、コンジュゲートの m A b X c i t e - セツキシマブを使用してデータを取得した。本実験では、- 1 , 6 - グルカンオリゴマーの負荷量は 1 ～ 6 であり、オリゴマーの長さは 4 量体 ～ 9 量体の範囲であり、グルカンのセツキシマブとの結合は D B C O であった。

10

#### 【 0 2 3 5 】

$2 \times 10^5$  個の A 4 3 1（上皮細胞、類表皮癌）細胞を P B S - B S A（P B S p H 7 . 2 + 2 % B S A）中にて室温で 1 時間ブロックした後、m A b X c i t e - セツキシマブ、及びセツキシマブまたはリツキシマブ（陰性対照）と、染色緩衝液中にて室温で 1 時間インキュベートした。3 回洗浄した後（P B S、p H 7 . 2）、細胞を、精製した抗 - 1 , 6 - グルカン抗体（ヒト抗 - 1 , 6 - グルカンのポリクローナル抗体）と室温で 1 時間インキュベートした。次いで細胞を洗浄し（3 回）、検出抗体（マウス抗ヒト I g G 2 - P E）を 1 : 1 0 0 希釈で添加した。さらに 3 回洗浄した後、細胞を遠心沈降させ、P B S に再懸濁して、F A C S により分析した。細胞は、F A C S C a l i b u r（B D B i o s c i e n c e s）を使用して F A C S（F L 2）によって分析した。m A b X c i t e - セツキシマブの結合は、非特異的対照（「抗体なし」）であるリツキシマブ、セツキシマブ、及び m A b X c i t e - セツキシマブ（4 量体 ～ 9 量体）を用いて、F A C S により評価した。結果を図 1 4 及び 1 5 に示す。A 4 3 1 細胞上の E G F R への結合及び抗 - 1 , 6 - グルカン抗体の沈着について本セクションで分析した m A b X c i t e - セツキシマブはすべて、i n v i t r o で機能的であった。

20

#### 【 0 2 3 6 】

##### 実施例 1 1 : m A b X c i t e - セツキシマブの好中球浸潤

本実施例の試験は、ヌードマウスにおける薬力学（P D）を評価するために行った。具体的には、長さの異なるオリゴマーとのコンジュゲーションが好中球浸潤に与える効果を、ルミノールアッセイを用いたライブイメージング及び抗好中球抗体を用いた組織学という 2 種類のアプローチを用いて評価した。

30

#### 【 0 2 3 7 】

##### ライブイメージングアッセイ

本アッセイでは、ルミノールをミエロペルオキシダーゼ（好中球特異的酵素であり、活性化された好中球のマーカーである）と反応させ、得られる生物発光を I V I S イメージャーで検出する。これらの実験には、D B C O 化学反応、4 量体 ～ 8 量体オリゴマー長、及び抗体あたり 2 オリゴマーの負荷量を用いた m A b X c i t e - セツキシマブを含めた。セツキシマブ及びプスツラン（サイズ未定義のコンジュゲートされていない - 1 , 6 - グルカン）を対照として使用した。

#### 【 0 2 3 8 】

$2 \times 10^6$  個の A 4 3 1（上皮細胞、類表皮癌）細胞をマウスに S C 移植した。本発明者らがイメージングに理想的であることを見出した  $300 \sim 400 \text{ mm}^3$  に腫瘍体積が達した時点で、I V I G をマウスに投与し、その 2 時間後に m A b X c i t e - セツキシマブ、セツキシマブ、またはビヒクル対照を投与した。処置開始から 5 時間後、マウスをイソフルラン吸入により麻酔し、ルミノールを投与し（ $200 \text{ mg / kg}$ 、I P）、7 ～ 15 分以内に I V I S 100 生物発光イメージングシステム（C a l i p e r L i f e s c i e n c e s）で撮像した。

40

#### 【 0 2 3 9 】

定量化のため、I V I S ソフトウェアによって光子束の合計を計算し、バックグラウンドを減算した。処置の前日にすべてのマウスを撮像して、ベースラインを評価した。撮像

50

後、腫瘍及び血液を採取した。腫瘍を組織検査に送った（イメージングとの相関性を求めるため）。P B S 及びセツキシマブを陰性対照として、及び（I T 注射した）プスツランを陽性対照として用い、好中球の活性化をライブイメージングによって評価した。腫瘍上の輝点は陽性細胞を示す。

#### 【0240】

試験したm A b X c i t e - セツキシマブ構築物（4量体～8量体オリゴマーを有する）はすべて、本アッセイにおいて好中球活性化をもたらした。図16を参照のこと。

#### 【0241】

##### 組織学アッセイ

本試験は、m A b X c i t e - セツキシマブ処置時の腫瘍における好中球浸潤を評価するために行った。グルカンのコンジュゲーションには直接化学反応を用いた。抗体あたり3オリゴマーの負荷量である5量体オリゴマーを使用した。

#### 【0242】

本アッセイでは、セツキシマブ及びプスツラン（サイズ未定義のコンジュゲートされていない - 1, 6 - グルカン）を対照として、m A b X c i t e - セツキシマブを試験した。2 × 10<sup>6</sup>個のA 4 3 1（上皮細胞、類表皮癌）細胞をマウスにS C 移植した。腫瘍の体積が300～400mm<sup>3</sup>に達した時点でマウスにI V I Gを投与し、その2時間後にm A b X c i t e - セツキシマブ、セツキシマブ、またはビヒクル対照を投与した。処置開始から5時間後、腫瘍を収集して組織検査に送り、好中球浸潤を評価した。腫瘍はホルマリンで固定し、パラフィンブロックに包埋して、好中球特異的検出抗体（抗好中球（L y 6 G）抗体（A b c a m N o . 2 5 5 7））で染色した。好中球浸潤を、免疫組織化学染色（濃い染色は陽性細胞を示す）によって評価した。上記のライブイメージング試験と相関して、組織学によっても、試験したすべてのm A b X c i t e - セツキシマブ（4量体～8量体のオリゴマーを有する）で処置されたときに好中球浸潤が観察された。図17を参照のこと。

#### 【0243】

実施例12：様々なオリゴマー負荷量を有するm A b X c i t e - セツキシマブと抗 - 1, 6 - グルカン抗体またはE G F Rとの結合

##### E L I S A アッセイ

抗 - 1, 6 - グルカン抗体のm A b X c i t e - セツキシマブへの結合を、対照としてセツキシマブを使用し、E L I S Aを用いて評価した。本試験に利用したm A b X c i t e - セツキシマブのコンジュゲーションには、抗体あたり1～3オリゴマーの負荷量の6量体オリゴマーを使用したクリックケミストリー（D B C O）を利用した。

#### 【0244】

E L I S Aは、1 - S t e p（商標）U l t r a T M B - E L I S A（P i e r c e）を使用して実施した。ヒト組換えE G F Rペプチド（r h E G F R / F cキメラ（R & D製ペプチド））をE L I S Aプレート（M a x i S o r p）に4 で一晩吸着させた。2、3回洗浄した後、非特異的結合部位をP B S - B S A緩衝液（ブロッキング及び染色緩衝液：P B S p H 7 . 2 + 2 % B S A）中にて室温で1時間ブロックした。次いで、セツキシマブまたはm A b X c i t e - セツキシマブを加え、室温で1時間、プレートシェーカー上に置き、続いてさらに3回洗浄した。 - 1, 6 - グルカンオリゴマーの検出を可能にするために、抗 - 1, 6 - グルカン抗体（ヒト抗 - 1, 6 - グルカンのポリクローナル抗体）をプレートに添加し（3 u g / ウェル）、室温で45分間インキュベートした。ウェルを3回洗浄し（P B S - T w e e n緩衝液（p H 7 . 2、0 . 0 5 % T w e e n））、1 : 5 0 0 0希釈の抗ヒトI g G 2（F c）- H R P抗体（マウス抗ヒトI g G 2（F c）- H R P）と室温で45分間インキュベートした。十分に洗浄を行い（5回）、100 u LのT M B基質を用いて視覚化を行った。O D 6 2 0 n mでプレートを直に読み取った（1時間にわたり毎分）。図18に示す結果は3つの複製ウェルの平均 + / - 標準偏差である。結合はE L I S Aで評価した。様々な負荷量でコンジュゲートされたm A b X c i t e - セツキシマブはすべて、本アッセイにおいて活性であり、活性は負荷

10

20

30

40

50

量が増加するにつれて増加した。

#### 【0245】

##### FACSアッセイ

FACS試験を実施して、mAbXcite - セツキシマブがEGFR結合及び抗 - 1, 6 - グルカンのIgG2沈着に与える効果を評価した。本試験に利用したmAbXcite - セツキシマブのコンジュゲーションには、抗体あたり1～6オリゴマーの負荷量の4量体～9量体オリゴマーを使用したクリックケミストリー（DBCO）を利用した。セツキシマブを対照として使用した。検出する抗体には、ヒト抗 - 1, 6 - グルカンのポリクローナル抗体及びマウス抗ヒトIgG2 - PEまたはマウス抗ヒトIgG - FITCが含まれていた。

10

#### 【0246】

$2 \times 10^5$  個のA431（上皮細胞、類表皮癌）細胞をPBS - BSA中にて室温で1時間ブロックした後、mAbXcite - セツキシマブ、セツキシマブ、またはリツキシマブ（陰性対照）と、染色緩衝液（PBS pH 7.2 + 2% BSA）中にて室温で1時間インキュベートした。次いで細胞を洗浄し（3回；PBS pH 7.2）、検出抗体（マウス抗ヒトIgG2 - PEまたはマウス抗ヒトIgG - FITC）を1：100希釈で添加した。さらに3回洗浄した後、細胞を遠心沈降させ、PBSに再懸濁して、FACSにより分析した。FACSCalibur（BD Biosciences）内でFACS（PEに対するFL2、またはFITCに対するFL1）によって細胞を分析した。

#### 【0247】

mAbXcite - セツキシマブの結合は、対照（「抗体なし」）である緩衝液、セツキシマブ、及びmAbXcite - セツキシマブ（1～6の範囲の負荷量）を用いて、FACSにより評価した。セツキシマブと様々な負荷量のオリゴマーとのコンジュゲーションは、セツキシマブのEGFRへの結合に影響を及ぼさなかった。さらに、抗 - 1, 6 - グルカン抗体の沈着は、低負荷量または高負荷量いずれのオリゴマーでも損なわれなかった。これらのアッセイでは、最小負荷量1が抗 - 1, 6 - グルカンIgG2によって検出された。図19、20、21、及び22を参照のこと。

20

#### 【0248】

実施例13：様々なオリゴマー負荷量を有するmAbXcite - セツキシマブと抗 - 1, 6 - グルカン抗体またはEGFRとの結合

30

##### ELISAアッセイ

本試験では、直接還元的アミノ化化学反応、5量体オリゴマー、及び抗体あたり1～5オリゴマーの負荷量によりコンジュゲーションを実施したmAbXcite - セツキシマブを利用した。抗 - 1, 6 - グルカンのmAbXcite - セツキシマブへの結合をELISAを用いてアッセイした。セツキシマブを対照として使用した。ELISAは、1 - Step（商標）Ultra TMB - ELISA（Pierce）を使用して実施した。検出する抗体には、ヒト抗 - 1, 6 - グルカンのポリクローナル抗体及びマウス抗ヒトIgG2（Fc） - HRPが含まれていた。

#### 【0249】

ヒト組換えEGFRペプチド（rhEGFR / Fcキメラ（R&D製ペプチド））をELISAプレート（Maxisorp）に4 で一晩吸着させた。2、3回洗浄した後、非特異的結合部位をPBS - BSA緩衝液（PBS pH 7.2 + 2% BSA）中にて室温で1時間ブロックした。次いで、セツキシマブまたはmAbXcite - セツキシマブを加え、室温で1時間、プレートシェーカー上に置き、続いてさらに3回洗浄した（pH 7.2、0.05% Tween）。 - 1, 6 - グルカンオリゴマーの検出を可能にするために、抗 - 1, 6 - グルカン抗体をプレートに添加し（3ug / ウェル）、室温で45分間インキュベートした。ウェルを3回洗浄し、1：5000希釈の抗ヒトIgG2（Fc） - HRP抗体と室温で45分間インキュベートした。十分に洗浄を行い（5回）、100uLのTMB基質を用いて視覚化を行った。OD620nmでプレートを直に読み取った（1時間、毎分）。示されたデータは3つの複製ウェルの平均 + / - 標準偏差であ

40

50

る。クリックケミストリー（D B C O）で観察されたものと同様に、還元的アミノ化を用いて作製されたm A b X c i t e - セツキシマブコンジュゲートはすべて、本アッセイにおいて活性であり、活性はオリゴマーの負荷量が増加するにつれて増加した。図 2 3 及び 2 4 を参照のこと。

#### 【 0 2 5 0 】

##### F A C S アッセイ

これらの試験は、m A b X c i t e - セツキシマブが E G F R 結合及び抗 - 1 , 6 - グルカンの I g G 2 沈着に与える効果を評価するために実施した。本試験では、直接還元的アミノ化化学反応、5 量体オリゴマー、及び抗体あたり 3 ~ 5 オリゴマーの負荷量によりコンジュゲーションを実施したm A b X c i t e - セツキシマブを利用した。セツキシマブを対照として使用した。検出する抗体には、ヒト抗 - 1 , 6 - グルカンのポリクローナル抗体及びマウス抗ヒト I g G 2 - P E またはマウス抗ヒト I g G - F I T C が含まれていた。

#### 【 0 2 5 1 】

4 × 1 0 <sup>5</sup> 個の A 4 3 1（上皮細胞、類表皮癌）細胞を P B S - B S A 中にて室温で 1 時間ブロックした後、m A b X c i t e - セツキシマブ、セツキシマブ、またはリツキシマブ（陰性対照）と、染色緩衝液（P B S p H 7 . 2 + 2 % B S A）中にて室温で 1 時間インキュベートした。次いで、細胞を洗浄し（3 回；P B S p H 7 . 2）、染色緩衝液に再懸濁し、細胞の半分は E G F R への結合について分析し、もう半分は抗 - 1 , 6 - グルカン抗体の沈着について分析した。検出抗体（マウス抗ヒト I g G 2 - P E またはマウス抗ヒト I g G - F I T C）を 1 : 1 0 0 希釈で細胞に添加し、室温で 4 5 分間インキュベートした。さらに 3 回洗浄した後、細胞を遠心沈降させ、P B S に再懸濁して、F A C S C a l i b u r（B D B i o s c i e n c e s）を使用して F A C S により分析した。m A b X c i t e - セツキシマブの結合は、緩衝液対照（「抗体なし」）、セツキシマブ、及びm A b X c i t e - セツキシマブ（様々な負荷量）を用いて、F A C S（F I T C に対する F L 1；P E に対する F L 2）により評価した（図 2 4）。この結果は、様々なオリゴマー負荷量でのセツキシマブのコンジュゲーションが、セツキシマブの E G F R への結合に影響を及ぼさないことを実証している。さらに、抗 - 1 , 6 - グルカン I g G 2 抗体の結合は、低負荷量または高負荷量いずれのオリゴマーでも損なわれなかった。検出は負荷量 4 及び 5 では類似しており、負荷量 3 を有するコンジュゲートではわずかに弱かった。

#### 【 0 2 5 2 】

##### 実施例 1 4：血清中の m A b X c i t e - セツキシマブ安定性

本実施例では、対照としてセツキシマブを使用して、m A b X c i t e - セツキシマブでの安定性分析を実施した。本試験に利用したm A b X c i t e - セツキシマブのコンジュゲーションには、D B C O または直接化学反応、4 量体 ~ 5 量体のオリゴマー、及び抗体あたり 3 オリゴマーの負荷量を利用した。E L I S A は、1 - S t e p（商標）U l t r a T M B - E L I S A（P i e r c e）検出キットを使用して実施した。検出する抗体には、ヒト抗 - 1 , 6 - グルカンのポリクローナル抗体、マウス抗ヒト I g G 2（F c）- H R P、及びヤギ抗ヒト I g G（H & L）- H R P が含まれていた。ブロッキング及び染色緩衝液（P B S 中のカゼイン（P i e r c e））及び P B S - T w e e n 緩衝液（P H 7 . 2、0 . 0 5 % T w e e n）も利用した。

#### 【 0 2 5 3 】

m A b X c i t e - セツキシマブまたはセツキシマブ対照を、マウスにおける投与量 5 m g / k g に相当する濃度（5 0 μ g / m L）で血清（ヒトまたはマウス血清）に添加し、3 7 °C で 1、2、3、4、5、1 4、4 8、7 2、または 9 6 時間インキュベートした。次いで、抗体（I g G 濃度）及び - 1 , 6 - グルカンオリゴマーの存在を E L I S A によって決定した。

#### 【 0 2 5 4 】

組換え E G F R（S i n o B i o l o g i c a l 製の h E G F R ペプチド）でコーテ

10

20

30

40

50

イングした96ウェルプレート中で血清をインキュベートした。抗体を検出する際の希釈は1:500であり、セツキシマブにコンジュゲートした-1,6-グルカンを検出する際の希釈は1:10であった。総ヒト抗体結合(セツキシマブまたはmAbXcite-セツキシマブ)を、HRPコンジュゲート抗ヒトIgG(H&L)を用いて検出した。TMB Substrate Kit(Pierce)によって顕色した。

#### 【0255】

セツキシマブにコンジュゲートされた-1,6-グルカンオリゴマーを特異的に検出するために、アフィニティー精製したヒト抗-1,6-グルカン抗体(ヒト抗-1,6-グルカンのポリクローナル抗体)を使用した(ウェルあたり3µg、室温で1時間)。検出は、抗ヒトIgG2(Fc)-HRP抗体(マウス抗ヒトIgG2(Fc)-HRP)を用いて実施した。SuperSignal ELISA基質(SuperSignal ELISA Pico Chemiluminescent Substrate(Pierce))を添加し、発光をEnvisionルミノメーターを使用して測定した。620nmのODを1時間にわたり、毎分読み取った。2つの複製からの結果を平均し、標準偏差を決定した。抗体レベルを、セツキシマブまたはmAbXcite-セツキシマブに対する時間の関数としてプロットした。血清中の各抗体の半減期は、半減するまでに要した時間で決定した。セツキシマブまたはmAbXcite-セツキシマブは、37の血清中で最大4日間安定であった。-1,6-グルカンオリゴマーもまた検出され、これは-1,6-グルカンオリゴマーが抗体とコンジュゲートされたときに安定であることを示唆した。図25~29を参照のこと。

#### 【0256】

実施例15: *in vitro*及びマウスでのPKの評価

-1,6-グルカンの好中球認識はオプソニンのであり、試験されたすべてのヒト血清に存在する内因性IgG、ならびに補体系のタンパク質を必要とする。セツキシマブに結合している小さいサイズの-1,6-グルカンオリゴマーは、非コンジュゲート型では短すぎて、これらの内因性IgG及び循環中の補体タンパク質に結合することができない。だが、セツキシマブとコンジュゲートした場合、結合活性により、プレートアッセイまたは細胞上の高密度のEGFRのいずれでも内因性抗体によって容易に認識される。以下の試験は、オリゴマーの長さ及び負荷量がPKに与える影響を調べるために実施した。

#### 【0257】

*in vitro*での薬物動態(PK)

本試験では、抗体あたり1、2、及び2.5オリゴマーの負荷量での直接化学反応を使用して、5量体~8量体のオリゴマーをコンジュゲートしたmAbXcite-セツキシマブを利用した。セツキシマブを対照として使用した。検出する抗体には、ヒト抗-1,6-グルカンのポリクローナル抗体及びマウス抗ヒトIgG2(Fc)-HRPが含まれていた。ELISAは、1-Step(商標)Ultra TMB-ELISA(Pierce)を使用して実施した。

#### 【0258】

ヒト組換えEGFRペプチド(rhEGFR/Fcキメラ(R&D製ペプチド))をELISAプレート(Maxisorp)に4で一晩吸着させた。2、3回洗浄した後、非特異的結合部位をPBS-BSA緩衝液(PBS pH7.2+2%BSA)中にて室温で1時間ブロックした。次いで、セツキシマブまたはmAbXcite-セツキシマブを加え、室温で1時間、プレートシェーカー上に置き、続いてさらに3回洗浄した(PBS-Tween緩衝液(PH7.2、0.05%Tween))。-1,6-グルカンオリゴマーの検出を可能にするために、抗-1,6-グルカン抗体をプレートに添加し(3µg/ウェル)、室温で45分間インキュベートした。ウェルを3回洗浄し、1:5000希釈の抗ヒトIgG2(Fc)-HRP抗体と室温で45分間インキュベートした。十分に洗浄を行い(5回)、100µLのTMB基質を用いて視覚化を行った。OD620nmでプレートを直に読み取った。

#### 【0259】

10

20

30

40

50

620 nmのODを1時間にわたり、毎分読み取った。示されたデータは3つの複製ウェルの平均+/-標準偏差である。試験された直接コンジュゲートはすべて、この*in vitro*アッセイにおいて活性であったため、そのPK特性について試験した。図30を参照のこと。このグラフはまた、抗体あたり1及び2.5オリゴマーの負荷量で観察されたものを表す。

#### 【0260】

腫瘍のないヌードマウスにおけるmAbXcite - セツキシマブの薬物動態(PK)本試験では、抗体あたり異なる負荷量のオリゴマーでの直接化学反応を使用して、5量体~8量体のオリゴマーをコンジュゲートしたmAbXcite - セツキシマブを利用した。セツキシマブを対照として使用した。実験にはさらに、ブロッキング及び染色緩衝液: PBS中のカゼイン(Pierce)ならびにPBS-Tween緩衝液(PH7.2、0.05% Tween)を利用した。ELISAは、SuperSignal ELISA Pico Chemiluminescent Substrate(Pierce)を用いた1-Step(商標)Ultra TMB-ELISA(Pierce)を使用して実施した。

#### 【0261】

コンジュゲートの半減期に影響を及ぼす可能性があるため、mAbXcite - セツキシマブのコンジュゲートのPKを、抗-1, 6-グルカン抗体(IVIG)の存在下で、腫瘍のないヌードマウスにおいて決定した。これらの実験では、7週齢の雌ヌードマウスに抗-1, 6-グルカン抗体(ヒト抗-1, 6-グルカンのポリクローナル抗体)をIP注射し、2時間後に5 mg/kgのmAbXcite - セツキシマブまたはセツキシマブを注射した(1群3匹)。全抗体及びコンジュゲート抗体の循環レベルを評価するために、注射後の様々な時点(1時間~96時間)で末梢血採血によって採血した。抗凝固処理したチューブ(EDTA処理したチューブ)を使用して血漿を採取し、-70℃で保存した。次いで、抗体(IgG濃度)及び-1, 6-グルカンオリゴマーの存在をELISAによって決定した。

#### 【0262】

組換えEGFR(hEGFR(SinoBiological製のペプチド))でコーティングした96ウェルプレート中で、血漿またはmAbXcite - セツキシマブ対照(標準として)をインキュベートした。抗体を検出する際の希釈は1:500であり、セツキシマブにコンジュゲートした-1, 6-グルカンオリゴマーを検出する際の希釈は1:10であった。

#### 【0263】

総ヒト抗体結合(セツキシマブまたはmAbXcite - セツキシマブ)を、HRPコンジュゲート抗ヒトIgG(ヤギ抗ヒトIgG(H&L)-HRP)を用いて検出した。セツキシマブに結合された-1, 6-グルカンオリゴマーを特異的に検出するために、アフィニティー精製したヒト抗-1, 6-グルカン抗体を使用した(ウェルあたり3 µg、室温で1時間)。検出は、抗ヒトIgG2(Fc)-HRP抗体(マウス抗ヒトIgG2(Fc)-HRP)を用いて実施した。TMB Substrate Kit(Pierce)によって顕色した。620 nmのODを1時間にわたり、毎分読み取った。各時点における3匹のマウスからの結果を平均し、標準誤差を決定した。図31~35を参照のこと。抗体レベルを、セツキシマブまたはmAbXcite - セツキシマブに対する時間の関数としてプロットした。各抗体の半減期は、半減するまでに要した時間で決定した。5量体オリゴマーとコンジュゲートされたmAbXcite - セツキシマブの半減期は、セツキシマブの半減期と同様であった。しかしながら、mAbXcite - セツキシマブのクリアランスは、低負荷量レベルであっても抗体にコンジュゲートされたオリゴマーが長くなると増加した。この結果は、より短いオリゴマーを有するmAbXcite - セツキシマブのコンジュゲートが、*in vivo*である種の利点を有する場合があることを示唆する。より長いオリゴマー(5~8量体)も検出されており、セツキシマブとコンジュゲートしたとき安定であった。

10

20

30

40

50

## 【0264】

実施例16：腫瘍のないヌードマウスにおける、様々な負荷量でのmAbXcite - セツキシマブの薬物動態 (PK)

本試験では、抗体あたり異なる負荷量のオリゴマーでの直接化学反応を使用して、5量体～8量体のオリゴマーをコンジュゲートしたmAbXcite - セツキシマブを利用した。セツキシマブを対照として使用した。本実験には、ブロッキング及び染色緩衝液：PBS中のカゼイン (Pierce) ならびにPBS - Tween緩衝液 (PH7.2、0.05% Tween) を含んでいた。

## 【0265】

本実験例では、7週齢の雌ヌードマウスに抗 - 1, 6 - グルカン抗体 (ヒト抗 - 1, 6 - グルカンのポリクローナル抗体) をIP注射し、2時間後に5mg/kgのmAbXcite - セツキシマブまたはセツキシマブを注射した (1群3匹)。全抗体及びコンジュゲート抗体の循環レベルを評価するために、注射後の様々な時点 (1時間～96時間) で末梢血採血によって採血した。抗凝固処理したチューブ (EDTA処理したチューブ) を使用して血漿を採取し、-70℃で保存した。次いで、抗体 (IgG濃度) 及び - 1, 6 - グルカンオリゴマーの存在をELISA (1-Step (商標) Ultra TMB - ELISA (Pierce)) によって決定した。

## 【0266】

組換えEGFR (hEGFR (SinoBiological製のペプチド)) でコーティングした96ウェルプレート中で、血漿またはmAbXcite - セツキシマブ対照 (標準として) をインキュベートした。抗体を検出する際の希釈は1:500であり、セツキシマブにコンジュゲートした - 1, 6 - グルカンを検出する際の希釈は1:10であった。

## 【0267】

総ヒト抗体結合 (セツキシマブまたはmAbXcite - セツキシマブ) を、HRPコンジュゲート抗ヒトIgG (ヤギ抗ヒトIgG (H&L) - HRP) を用いて検出した。セツキシマブに結合された - 1, 6 - グルカンオリゴマーを特異的に検出するために、アフィニティー精製したヒト抗 - 1, 6 - グルカン抗体を使用した (ウェルあたり3µg、室温で1時間)。検出は、抗ヒトIgG2 (Fc) - HRP抗体 (マウス抗ヒトIgG2 (Fc) - HRP) を用いて実施した。TMB Substrate Kit (SuperSignal ELISA Pico Chemiluminescent Substrate (Pierce)) によって顕色した。620nmのODを1時間にわたり、毎分読み取った。各時点における3匹のマウスからの結果を平均し、標準誤差を決定した。抗体レベルを、セツキシマブまたはmAbXcite - セツキシマブに対する時間の関数としてプロットした。各抗体の半減期は、半減するまでに要した時間で決定した。図36～41を参照のこと。異なる負荷量の5量体とコンジュゲートされたmAbXcite - セツキシマブのPKプロファイルは、セツキシマブのPKプロファイルと同様であった。しかしながら、mAbXcite - セツキシマブのクリアランスは、低負荷量レベルであっても抗体にコンジュゲートされたオリゴマーが長くなると増加した。セツキシマブとコンジュゲートしたとき、 - グルカン (5～8量体) は安定であった。mAbXcite - セツキシマブのコンジュゲートは約3の負荷量で安定であった。オリゴマーもまた、約3の負荷量で安定であった。

## 【0268】

実施例17：腫瘍のあるマウスにおけるmAbXcite - セツキシマブの薬物動態 (PK)

多くの治療用モノクローナル抗体の血漿クリアランスが、腫瘍のあるマウスでは、腫瘍のないマウスと比較して大幅に増強されることが多くの研究により示されており、これは標的介在性の排除経路の存在を示唆している。本発明のコンジュゲートの標的介在性の分解を評価するために、本発明者らは、EGFRを発現するHCT-116ヒト大腸癌異種移植を有するマウスにおいても、mAbXcite - セツキシマブの血漿沈着を評価した。

10

20

30

40

50

## 【0269】

本試験では、抗体あたり3及び4オリゴマーの負荷量での直接化学反応を使用して、5量体オリゴマーをコンジュゲートしたmAbXcite - セツキシマブを利用した。セツキシマブを対照として使用した。本試験にはさらに、ブロッキング及び染色緩衝液：PBS中のカゼイン（Pierce）ならびにPBS - Tween緩衝液（PH7.2、0.05% Tween）を含んでいた。ELISAは、SuperSignal ELISA Pico Chemiluminescent Substrate（Pierce）を用いた1-Step（商標）Ultra TMB - ELISA（Pierce）検出キットを使用して実施した。HCT - 116（KRAS変異型大腸癌）細胞を使用した。

## 【0270】

本実験では、7週齢の雌ヌードマウスに $2.5 \times 10^6$ 個のHCT - 116細胞をSC移植した。腫瘍が $120 \text{ mm}^3$ を超える体積に達したとき、マウスを無作為に群（3マウス/群）に分け、IVIG（ヒト抗 - 1, 6 - グルカンのポリクローナル抗体を起源とする）で処置し、その2時間後にビヒクル対照、セツキシマブ、またはmAbXcite - セツキシマブを投与した（ $5 \text{ mg/kg}$ 、IP）。mAbXcite - セツキシマブの血漿薬物動態を処置後の様々な時点（1～96時間）で試験した。

## 【0271】

組換えEGFR（hEGFR（SinoBiological製のペプチド））でコーティングした96ウェルプレート中で、血漿またはmAbXcite - セツキシマブ対照（標準として）をインキュベートした。抗体を検出する際の希釈は1：500であり、セツキシマブにコンジュゲートした - 1, 6 - グルカンオリゴマーを検出する際の希釈は1：10であった。総ヒト抗体結合（セツキシマブまたはmAbXcite - セツキシマブ）を、HRPコンジュゲート抗ヒトIgG（ヤギ抗ヒトIgG（H&L） - HRP）を用いて検出した。セツキシマブに結合された - 1, 6 - グルカンオリゴマーを特異的に検出するために、アフィニティー精製したヒト抗 - 1, 6 - グルカン抗体を使用した（ウェルあたり $3 \mu\text{g}$ 、室温で1時間）。検出は、抗ヒトIgG2（Fc） - HRP抗体（マウス抗ヒトIgG2（Fc） - HRP）を用いて実施した。TMB Substrate Kit（Pierce）によって顕色した。

## 【0272】

本実験から収集したデータの分析を実施した。腫瘍体積は、以下の式、 $TV (\text{mm}^3) = \{ \text{長さ} (\text{mm}) \times \text{幅} (\text{mm})^2 \} / 2$ に基づいて計算した。ELISA分析のため、 $620 \text{ nm}$ のODを1時間にわたり、毎分読み取った。各時点における3匹のマウスからの結果を平均し、標準誤差を決定した。図42～44を参照のこと。抗体レベルを、セツキシマブまたはmAbXcite - セツキシマブに対する時間の関数としてプロットした。各抗体の半減期は、半減するまでに要した時間で決定した。図44は、腫瘍のないマウスと腫瘍のあるマウスにおけるmAbXcite - セツキシマブのPKの比較を示す。抗体の安定性及び - 1, 6 - グルカンの検出はELISAによって評価した。図45は、腫瘍のあるマウスにおける、3または4負荷量の - 1, 6オリゴマーとコンジュゲートされたmAbXcite - セツキシマブの比較を示す。抗体の安定性及び - 1, 6 - グルカンの検出はELISAによって評価した。抗体あたり4オリゴマーの負荷量よりも、3オリゴマーの負荷量で5量体オリゴマーと直接コンジュゲートされたmAbXcite - セツキシマブのPKの方が安定であった。腫瘍のある動物におけるPKがオリゴマーの負荷量が多いほど低いことは、腫瘍依存性の分解により説明することができる。

## 【0273】

実施例18：腫瘍のあるマウスにおけるmAbXcite - セツキシマブの蓄積

本実施例の試験は、経時的に抗体蓄積をもたらさない投与レジメンを特定するために行った。

## 【0274】

本実施例では、抗体あたり3オリゴマーの負荷量での直接化学反応を使用して、5量体オリゴマーをコンジュゲートしたmAbXcite - セツキシマブを利用した。セツキシ

10

20

30

40

50



マブを対照として使用した。ブロッキング及び染色緩衝液（PBS中のカゼイン（Pierce））ならびにPBS-Tween緩衝液（pH7.2、0.05% Tween）も利用した。ELISAは、1-Step（商標）Ultra TMB-ELISA（Pierce）検出キットを使用して実施した。

#### 【0275】

本実施例では、7週齢の雌ヌードマウスに $2.5 \times 10^6$ 個のHCT-116（KRAS変異型大腸癌）細胞をSC移植した。腫瘍の体積が $120 \text{ mm}^3$ に達したとき、マウスを無作為に群（3マウス/群）に分け、IVI G（ヒト抗-1,6-グルカンのポリクローナル抗体を起源とする）で処置し、その2時間後にビヒクル対照、セツキシマブ、またはmAbXcite-セツキシマブを投与した。投与量は半減期によって決定し、週2回投与した（ $5 \text{ mg/kg}$ ）。マウスに3回投与し、mAbXcite-セツキシマブの血漿を採取して、処置後のコンジュゲートの蓄積を試験した。

10

#### 【0276】

組換えEGFR（hEGFR（SinoBiological製のペプチド））でコーティングした96ウェルプレート中で、血漿またはmAbXcite-セツキシマブ対照（標準として）をインキュベートした。抗体を検出する際の希釈は1:500であり、セツキシマブにコンジュゲートした-1,6-グルカンオリゴマーを検出する際の希釈は1:10であった。

#### 【0277】

総ヒト抗体結合（セツキシマブまたはmAbXcite-セツキシマブ）を、HRPコンジュゲート抗ヒトIgG（ヤギ抗ヒトIgG（H&L）-HRP）を用いて検出した。セツキシマブに結合された-1,6-グルカンオリゴマーを特異的に検出するために、アフィニティー精製したヒト抗-1,6-グルカン抗体を使用した（ウェルあたり $3 \mu\text{g}$ 、室温で1時間）。検出は、抗ヒトIgG2（Fc）-HRP抗体（マウス抗ヒトIgG2（Fc）-HRP）を用いて実施した。TMB Substrate Kit（SuperSignal ELISA Pico Chemiluminescent Substrate（Pierce））によって顕色した。ELISA分析のため、 $620 \text{ nm}$ のODを1時間にわたり、毎分読み取った。

20

#### 【0278】

本実験から収集したデータの分析を実施した。腫瘍体積は、以下の式に基づいて計算した： $TV (\text{mm}^3) = \{ \text{長さ} (\text{mm}) \times \text{幅} (\text{mm})^2 \} / 2$ 。各時点における3匹のマウスからの結果を平均し、標準誤差を決定した。図46を参照のこと。抗体レベルを、セツキシマブまたはmAbXcite-セツキシマブに対する時間の関数としてプロットした。各抗体の半減期は、半減するまでに要した時間で決定した。週2回の投与レジメンは、PKによって決定した半減期に基づくと、抗体またはオリゴマーいずれの蓄積ももたらさない。この治療スケジュールを、マウス異種移植片モデルでのmAbXcite-セツキシマブの有効性を評価する以降の実施例に使用した。

30

#### 【0279】

実施例19：腫瘍のないマウス及び腫瘍のあるマウスにおけるmAbXcite-セツキシマブの薬物動態の安定性

40

抗体の安定性及び-1,6-グルカンの検出はELISAによって評価した。本試験に利用したmAbXcite-セツキシマブのコンジュゲーションには、クリックケミストリー（DBCO）、4量体オリゴマー、及び抗体あたり3オリゴマーの負荷量を利用した。セツキシマブを対照として使用した。ブロッキング及び染色緩衝液：PBS中のカゼイン（Pierce）ならびにPBS-Tween緩衝液（pH7.2、0.05% Tween）も利用した。ELISAは、1-Step（商標）Ultra TMB-ELISA（Pierce）検出キットを使用して実施した。

#### 【0280】

本実施例では、7週齢の雌ヌードマウスに $2.5 \times 10^6$ 個のHCT-116（KRAS変異型大腸癌）細胞をSC移植した。腫瘍が $120 \text{ mm}^3$ を超える体積に達したとき、

50

マウスを無作為に群（3マウス/群）に分け、I V I G（ヒト抗 - 1 , 6 - グルカンのポリクローナル抗体を起源とする）で処置し、その2時間後にビヒクル対照、セツキシマブ、またはm A b X c i t e - セツキシマブを投与した（5 m g / k g、I P）。m A b X c i t e - セツキシマブの血漿薬物動態を処置後の様々な時点（1 ~ 96時間）で試験した。

#### 【0281】

組換えE G F R（h E G F R（S i n o B i o l o g i c a l製のペプチド））でコーティングした96ウェルプレート中で、血漿またはm A b X c i t e - セツキシマブ対照（標準として）をインキュベートした。抗体を検出する際の希釈は1 : 500であり、セツキシマブにコンジュゲートした - 1 , 6 - グルカンオリゴマーを検出する際の希釈は1 : 10であった。

10

#### 【0282】

総ヒト抗体結合（セツキシマブまたはm A b X c i t e - セツキシマブ）を、H R Pコンジュゲート抗ヒトI g G（ヤギ抗ヒトI g G（H & L）- H R P）を用いて検出した。セツキシマブに結合された - 1 , 6 - グルカンオリゴマーを特異的に検出するために、アフィニティー精製したヒト抗 - 1 , 6 - グルカン抗体を使用した（ウェルあたり3 μ g、室温で1時間）。検出は、抗ヒトI g G 2（F c）- H R P抗体（マウス抗ヒトI g G 2（F c）- H R P）を用いて実施した。S u p e r S i g n a l E L I S A P i c o C h e m i l u m i n e s c e n t S u b s t r a t e（P i e r c e）を使用して顕色した。E L I S A分析のため、620 nmのODを1時間にわたり、毎分読み取った。

20

#### 【0283】

本実験から収集したデータの分析を実施した。腫瘍体積は、以下の式に基づいて計算した： $T V (mm^3) = \{長さ(mm) \times 幅(mm)^2\} / 2$ 。各時点における3匹のマウスからの結果を平均し、標準誤差を決定した。図47 ~ 50を参照のこと。抗体レベルを、セツキシマブまたはm A b X c i t e - セツキシマブに対する時間の関数としてプロットした。各抗体の半減期は、半減するまでに要した時間で決定した。直接コンジュゲートしたm A b X c i t e - セツキシマブでの観察結果と対照的に、このm A b X c i t e - セツキシマブのP Kプロファイルは、腫瘍のあるマウスにおいて大幅に減少した。抗体は比較的安定したままであったが、 - 1 , 6 - グルカンオリゴマーは、小さいオリゴマー（4量体）及び負荷量3でも安定ではなかった。

30

#### 【0284】

実施例20：B R A F大腸癌細胞（C R C）を有するヌードマウスにおける有効性試験

本試験に利用したm A b X c i t e - セツキシマブのグルカンのコンジュゲーションには、クリックケミストリー（D B C O）、4量体及び6量体のオリゴマー、ならびに抗体あたり3及び4オリゴマーの負荷量を利用した。

#### 【0285】

本実施例では、7週齢の雌ヌードマウスの背側領域に $1 \times 10^6$ 個のH T - 29細胞（ヒトB R A F変異型大腸腺癌細胞株）を移植した。腫瘍が約 $118 \sim 383 mm^3$ に達したら、マウスを4つの試験処置群（ $n = 5$ ）に無作為に割り付けた。その結果、各群の平均腫瘍体積は同様であった（平均 =  $255.8 \pm 0.8 mm^3$ ）。各抗体の投与前に、プールしたヒト抗体（I V I G） $500 mg / kg$ （約 $0.1 mL$ ）をすべてのマウスに腹腔内（I P）注射する。m A b X c i t e - セツキシマブ、セツキシマブ（ $5 mg / kg$ ）、及び対照を、I V I G投与から最低2時間後にI P注射により投与した。本試験を通して、週2回腫瘍をモニターし、外カリパスを用いて腫瘍増殖率を測定した。処置初日の前後に腫瘍を測定した。体重も週2回収集した。最大腫瘍体積が $2000 mm^3$ に達したときにマウスを安楽死させた。腫瘍が潰瘍化した場合、腫瘍が歩行を妨げた場合、または身体状態の悪化があった場合にも、マウスを安楽死させた。元の体重からの減少が15%を超えた場合にも、マウスを安楽死させた。動物は二酸化炭素（ $CO_2$ ）吸入により安楽死させた。

40

#### 【0286】

50

本実験から収集したデータの分析を実施した。腫瘍体積は、以下の式に基づいて計算した： $TV(mm^3) = \{長さ(mm) \times 幅(mm)^2\} / 2$ 。結果を図51～53に示す。4量体のDBCO結合オリゴマーを用いたmAbXcite - セツキシマブによる処置は、HT-29腫瘍の増殖を遅延させた。ボーダーライン活性は、6量体のDBCO結合オリゴマーで見られた。その実験設定では、セツキシマブも腫瘍増殖を遅延させていることに留意すべきである。

#### 【0287】

実施例21：KRAS大腸癌細胞(CRC)をもつヌードマウスにおける有効性試験

本実施例では、mAbXcite - セツキシマブの有効性を、KRAS CRCで処置したヌードマウスにおいて試験した。本試験に利用したmAbXcite - セツキシマブのグルカンのコンジュゲーションには、クリックケミストリー(DBCO)または直接化学反応、4量体～6量体のオリゴマー、及び抗体あたり3オリゴマーの負荷量を利用した。

10

#### 【0288】

本実施例では、7週齢の雌ヌードマウスに $2.5 \times 10^6$ 個のHCT-116細胞(HCT-116は、ヒトKRAS変異型大腸癌細胞株である)をSC移植した。腫瘍の体積が $67 \pm 1.3 mm^3$ の範囲内であるとき、マウスを無作為に群(10マウス/群)に分け、IVI(抗-1,6-グルカン抗体を起源とする)で処置し、その2時間後にビヒクル対照、セツキシマブ、またはmAbXcite - セツキシマブを投与した。投与量は半減期によって決定し、週2回投与した(5mg/kg)。腫瘍体積は、週2回のキャリパー測定により評価した。体重は週2回モニターした。腫瘍の体積が $2000 mm^3$ に達した後、または体重が15%超減少した場合にマウスを安楽死させた。

20

#### 【0289】

本実験から収集したデータの分析を実施した。腫瘍体積は、以下の式に基づいて計算した： $TV(mm^3) = \{長さ(mm) \times 幅(mm)^2\} / 2$ 。結果を図54及び55に示す。4量体のDBCO結合オリゴマーを用いたmAbXcite - セツキシマブによる処置は、HCT-116腫瘍の増殖を遅延させる。しかしながら、その実験では6量体のDBCO結合オリゴマーは腫瘍増殖に効果を及ぼさなかった。これらの結果は、HT-29異種移植片モデルで得られた結果を裏付けるとともに、より短いオリゴマーが、mAbXcite - セツキシマブコンジュゲートのより良好なPKプロファイルによって説明できるような特定の利点を有し得ることを示唆している。増殖の阻害は、この実験において、4量体のDBCO結合オリゴマーを有するmAbXcite - セツキシマブでも、5量体の直接コンジュゲートを有するmAbXcite - セツキシマブでも同様であった。

30

#### 【0290】

実施例22：KRAS CRCをもつヌードマウスにおける有効性試験

本実施例では、mAbXcite - セツキシマブの有効性を、KRAS CRCをもつヌードマウスにおいて試験した。本試験に利用したmAbXcite - セツキシマブのコンジュゲーションには、還元的アミノ化(直接)化学反応、5量体オリゴマー、及び抗体あたり3オリゴマーの負荷量を利用した。

#### 【0291】

本実施例では、7週齢の雌ヌードマウスに $2.5 \times 10^6$ 個のHCT-116細胞(HCT-116は、ヒトKRAS変異型大腸癌細胞株である)を移植した。腫瘍が約 $46 \sim 79 mm^3$ に達したら、マウスを4つの試験処置群( $n=9$ )に無作為に割り付けた。その結果、各群の平均腫瘍体積は同様であった(平均 $= 57 \pm 3.5 mm^3$ )。各抗体の投与前に、プールしたヒト抗体(IVI)500mg/kg(約0.1mL)をすべてのマウスに腹腔内(IP)注射する。mAbXcite - セツキシマブ、セツキシマブ(5mg/kg)、及び対照を、IVI投与から最低2時間後にIP注射により投与した。本試験を通して、週2回腫瘍をモニターし、外カリパスを用いて腫瘍増殖率を測定した。処置初日の前後に腫瘍を測定した。体重も週2回収集した。最大腫瘍体積が $2000 mm^3$ に達したときにマウスを安楽死させた。腫瘍が潰瘍化した場合、腫瘍が歩行を妨げた場合、または身体状態の悪化があった場合にも、マウスを安楽死させた。元の体重からの減

40

50

少が15%を超えた場合にも、マウスを安楽死させた。

【0292】

本実験から収集したデータの分析を実施した。腫瘍体積は、以下の式に基づいて計算した： $TV(mm^3) = \{長さ(mm) \times 幅(mm)^2\} / 2$ 。結果を図56及び57に示す。5量体の直接コンジュゲートを用いたmAbXcite - セツキシマブによる処置は、平均で、かつ中央値を見ても腫瘍増殖遅延の向上を示した。

【0293】

実施例23：KRAS CRCをもつヌードマウスにおける用量反応

本実施例では、mAbXcite - セツキシマブの用量反応を試験した。本試験に利用したmAbXcite - セツキシマブのコンジュゲーションには、還元的アミノ化（直接）化学反応、5量体オリゴマー、及び抗体あたり約3オリゴマーの負荷量を利用した。

【0294】

本実施例では、7週齢の雌ヌードマウスに $2.5 \times 10^6$ 個のHCT-116細胞（HCT-116は、ヒトKRAS変異型大腸癌細胞株である）をSC移植した。腫瘍の体積が $51 \sim 80 mm^3$ の範囲内であるとき、マウスを無作為に群（9マウス/群）に分け、IVIG（抗-1,6-グルカン抗体を起源とする）で処置し、その2時間後にビヒクル対照、セツキシマブ、またはmAbXcite EGFRを投与した。投与量は半減期によって決定し、週2回投与した。様々な用量：各抗体について5、10、15 mg/kgを評価した。腫瘍体積は、週2回のキャリパー測定により評価した。体重は週2回モニターした。腫瘍の体積が $2000 mm^3$ に達した後、または体重が15%超減少した場合にマウスを安楽死させた。

【0295】

本実験から収集したデータの分析を実施した。腫瘍体積は、以下の式に基づいて計算した： $TV(mm^3) = \{長さ(mm) \times 幅(mm)^2\} / 2$ 。結果を図58～61に示す。

【0296】

実施例24：KRAS CRCをもつヌードマウスにおける用量反応

本実施例では、5量体の直接コンジュゲートを用いたmAbXcite - セツキシマブによる処置は、用量依存的な腫瘍増殖遅延を示した。本試験に利用したmAbXcite - セツキシマブのコンジュゲーションには、還元的アミノ化（直接）化学反応、5量体オリゴマー、及び抗体あたり約3オリゴマーの負荷量を利用した。本試験では、KRAS CRCをもつヌードマウスを繰り返して利用した。

【0297】

本実施例では、7週齢の雌ヌードマウスに $3 \times 10^6$ 個のHCT-116細胞（HCT-116は、ヒトKRAS変異型大腸癌細胞株である）を移植した。腫瘍が約 $65 \sim 89 mm^3$ に達したら、マウスを4つの試験処置群（ $n = 7$ ）に無作為に割り付けた。その結果、各群の平均腫瘍体積は同様であった（平均 =  $74 \pm 1.2 mm^3$ ）。各抗体の投与前に、プールしたヒト抗体（IVIG）500 mg/kg（約0.1 mL）をすべてのマウスに腹腔内（IP）注射する。mAbXcite - セツキシマブ、セツキシマブ（5 mg/kg）、及び対照を、IVIG投与から最低2時間後にIP注射により投与した。本試験を通して、週2回腫瘍をモニターし、外力リパスを用いて腫瘍増殖率を測定した。処置初日の前後に腫瘍を測定した。体重も週2回収集した。最大腫瘍体積が $2000 mm^3$ に達したときにマウスを安楽死させた。腫瘍が潰瘍化した場合、腫瘍が歩行を妨げた場合、または身体状態の悪化があった場合にも、マウスを安楽死させた。元の体重からの減少が15%を超えた場合にも、マウスを安楽死させた。

【0298】

本実験から収集したデータの分析を実施した。腫瘍体積は、以下の式に基づいて計算した： $TV(mm^3) = \{長さ(mm) \times 幅(mm)^2\} / 2$ 。腫瘍増殖阻害（TGI）は、以下の式に基づいて計算した： $TGI\% = (x日目のTVビヒクル - 初日のTVビヒクル) - (x日目のTV処置 - 初日のTV処置) \times 100 / (x日目のTVビヒクル - 初日のTVビヒクル)$ 。TGIが50%を超えると有意とみなされる。腫瘍体積の結果（図6

2 及び 6 3 を参照) 及び生存曲線 (図 6 4 を参照) を示す。5 量体の直接コンジュゲートを用いた m A b X c i t e - セツキシマブによる処置は、平均で、かつ中央値を見ても腫瘍増殖遅延の向上を示した。セツキシマブまたは m A b X c i t e - セツキシマブのいずれかを投与されたこれらの H C T - 1 1 6 腫瘍のあるマウスにおける本有効性試験は、セツキシマブで処置されたマウスと比較して、m A b X c i t e - セツキシマブを投与されたマウスの方が長く生存することを示した。このデータは、E G F R 陽性腫瘍に特異的に送達された m A b X c i t e - セツキシマブが、セツキシマブによって K R A S 変異体の状態を問わず腫瘍増殖を抑制でき、大腸癌における個別化臨床治療戦略の機会を与え得ることを示唆している。

【0299】

実施例 25 : K R A S C R C をもつヌードマウスにおける腫瘍再負荷アッセイ

m A b X c i t e - セツキシマブ (5 量体の直接コンジュゲーション) を投与された、H C T - 1 1 6 腫瘍のあるマウスにおける有効性試験は、セツキシマブで処置されたマウスよりも m A b X c i t e - セツキシマブを投与されたマウスの方が長く生存することを示した。この生存は、腫瘍の退縮または停滞のいずれかをマウスが示すことと関連していた。

【0300】

獲得免疫記憶応答の生成は腫瘍の再発及び転移を予防するために不可欠であるため、本発明者らは、m A b X c i t e - セツキシマブが有効な抗腫瘍免疫記憶を誘導できるかどうかを検討することにした。それを行うために、腫瘍再負荷アッセイを使用した。その理由は、確立された記憶応答についてだけではなく、宿主免疫系が全身がんの再発を制御する能力についての確固とした測定値でもあるからである。m A b X c i t e - セツキシマブ処置を中断して、H C T - 1 1 6 細胞をマウスに再負荷した。

【0301】

処置中断の 1 7 日後に、 $2.5 \times 10^6$  個の H T C - 1 1 6 細胞をヌードマウスに皮下 (S C) 再移植した。腫瘍体積は、週 2 回のキャリパー測定により評価した。体重は週 2 回モニターした。腫瘍の体積が  $2000 \text{ mm}^3$  に達した後、または体重が 1 5 % 超減少した場合にマウスを安楽死させた。

【0302】

腫瘍体積は、以下の式に基づいて計算した： $T V (\text{mm}^3) = \{ \text{長さ} (\text{mm}) \times \text{幅} (\text{mm})^2 \} / 2$ 。結果を図 6 5 及び 6 6 に示す。各図は、m A b X c i t e - セツキシマブが腫瘍増殖を阻害し、H C T - 1 1 6 による再負荷からマウスを保護することを示している。原発腫瘍と二次腫瘍が示されている。5 m g / k g のセツキシマブ (図 6 5 及び 6 6)、m A b X c i t e - セツキシマブ (図 6 5 の 5 量体の直接コンジュゲート)、または他の構築物 (図 6 6) で処置された個々のマウスについての増殖曲線を示す。

【0303】

ヌードマウスに存在する T 細胞が低レベルであるにもかかわらず、負荷量 3 で 5 量体に直接コンジュゲートされたセツキシマブが、幾匹かのマウスにおいて持続的効果をもたらすことを示した。具体的には、本発明者らは、腫瘍の退縮または停滞のいずれかを示すマウスで、がん細胞による再負荷時に二次腫瘍が増殖していないことを実証した。これは、好中球が記憶を付与する反応を開始することを示唆している。この効果は、セツキシマブ、またはクリック D B C O リンカーを利用してコンジュゲートされた m A b X c i t e - セツキシマブで最初に処置したマウスには観察されなかった。

【0304】

実施例 26 : B R A F C R C をもつヌードマウスにおける T 細胞の枯渇

m A b X c i t e - セツキシマブが有効性及び抗腫瘍免疫記憶を示すことから、本発明者らは、m A b X c i t e - セツキシマブの直接コンジュゲートの全体的な抗腫瘍効果が細胞傷害性 T リンパ球 (C T L) に依存するかどうかを検討することにした。C D 8 <sup>+</sup> T リンパ球は、多くの腫瘍の増殖制御に関与する主要な細胞集団である。しかしながら、C T L が m A b X c i t e - セツキシマブの治療効果に不可欠であるかどうかを検討するた

10

20

30

40

50

めに、C D 8 及び C D 4 の両方を枯渇する抗体を投与した。

#### 【 0 3 0 5 】

C D 8 + C D 4 + 枯渇抗体を 3 匹のマウスに投与した。そのうち 2 匹は完全に腫瘍が退縮し、1 匹は処置中断期間及び再負荷後の 40 日間にわたって引き続き腫瘍の停滞を示した。C D 8 及び C D 4 枯渇抗体は、実験期間にわたり週 2 回投与した。腫瘍体積は、週 2 回のキャリパー測定により評価した。体重は週 2 回モニターした。腫瘍の体積が  $2000\text{ mm}^3$  に達した後、または体重が 15 % 超減少した場合にマウスを安楽死させた。

#### 【 0 3 0 6 】

腫瘍体積は、以下の式に基づいて計算した： $TV(\text{mm}^3) = \{ \text{長さ}(\text{mm}) \times \text{幅}(\text{mm})^2 \} / 2$ 。腫瘍が退縮した 2 匹のマウスは枯渇による影響を受けなかった。しかしながら、増殖が鈍化したマウスは枯渇後に腫瘍が指数関数的に増殖した。結果を図 67 に示す。結果は、C D 8 + C D 4 + 細胞の枯渇が、m A b X c i t e - セツキシマブの治療効果を著しく損なったことを示しており、これは、m A b X c i t e - セツキシマブ直接コンジュゲートの抗腫瘍効果が確かに獲得免疫 T 細胞に依存していること、自然免疫系の好中球の活性化が、獲得免疫系の T 細胞の活性化へと進行することを示唆している。

10

#### 【 0 3 0 7 】

実施例 27：K R A S C R C をもつヌードマウスにおける有効性試験

本実施例では、m A b X c i t e - セツキシマブの有効性を、K R A S C R C をもつヌードマウスにおいて試験した。本試験に利用した m A b X c i t e - セツキシマブのコンジュゲーションには、還元的アミノ化（直接）化学反応、4 量体または 6 量体のオリゴマー、及び抗体あたり 2 . 3、2 . 5、または 5 オリゴマーの負荷量を利用した。

20

#### 【 0 3 0 8 】

本実施例では、7 週齢の雌ヌードマウスに  $2.5 \times 10^6$  個の H C T - 116 細胞（H C T - 116 は、ヒト K R A S 変異型大腸癌細胞株である）を移植した。腫瘍が約  $46 \sim 79\text{ mm}^3$  に達したら、マウスを 4 つの試験処置群に無作為に割り付けた。その結果、各群の平均腫瘍体積は同様であった。各抗体の投与前に、プールしたヒト抗体（I V I G） $500\text{ mg} / \text{kg}$ （約  $0.1\text{ mL}$ ）をすべてのマウスに腹腔内（I P）注射する。m A b X c i t e - セツキシマブ、セツキシマブ（ $5\text{ mg} / \text{kg}$ ）、及び対照を、I V I G 投与から最低 2 時間後に I P 注射により投与した。本試験を通して、週 2 回腫瘍をモニターし、外カリパスを用いて腫瘍増殖率を測定した。処置初日の前後に腫瘍を測定した。体重も週 2 回収集した。最大腫瘍体積が  $2000\text{ mm}^3$  に達したときにマウスを安楽死させた。腫瘍が潰瘍化した場合、腫瘍が歩行を妨げた場合、または身体状態の悪化があった場合にも、マウスを安楽死させた。元の体重からの減少が 15 % を超えた場合にも、マウスを安楽死させた。

30

#### 【 0 3 0 9 】

本実験から収集したデータの分析を実施した。腫瘍体積は、以下の式に基づいて計算した： $TV(\text{mm}^3) = \{ \text{長さ}(\text{mm}) \times \text{幅}(\text{mm})^2 \} / 2$ 。結果を図 68 ~ 73 に示す。

#### 【 0 3 1 0 】

実施例 28：ゲンチオペントースの合成

ブスツランからのオリゴマー精製に加え、合成方法によって好適なグルカンを調製することができる。例えば、ゲンチオペントースを以下の方法で調製することができる。

40

#### 【 0 3 1 1 】

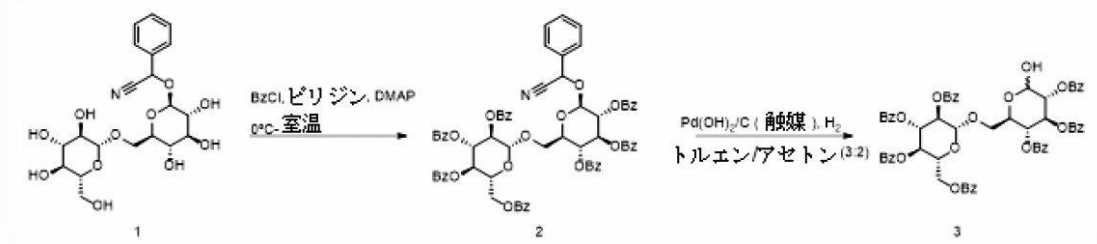
以下の例示的な糖の合成は、3 つの「構成単位」（構成単位 1、構成単位 2、及び構成単位 3）の調製から開始する。2 つの「構成単位」（構成単位 1 及び構成単位 2）は、D - アミグダリンから調製される保護されたダイマーである。構成単位 3 はグルコースから調製される。

#### 【 0 3 1 2 】

スキーム 1 は、構成単位 1 の合成を示している。

## 【化 4 8】

スキーム 1



10

## 【 0 3 1 3】

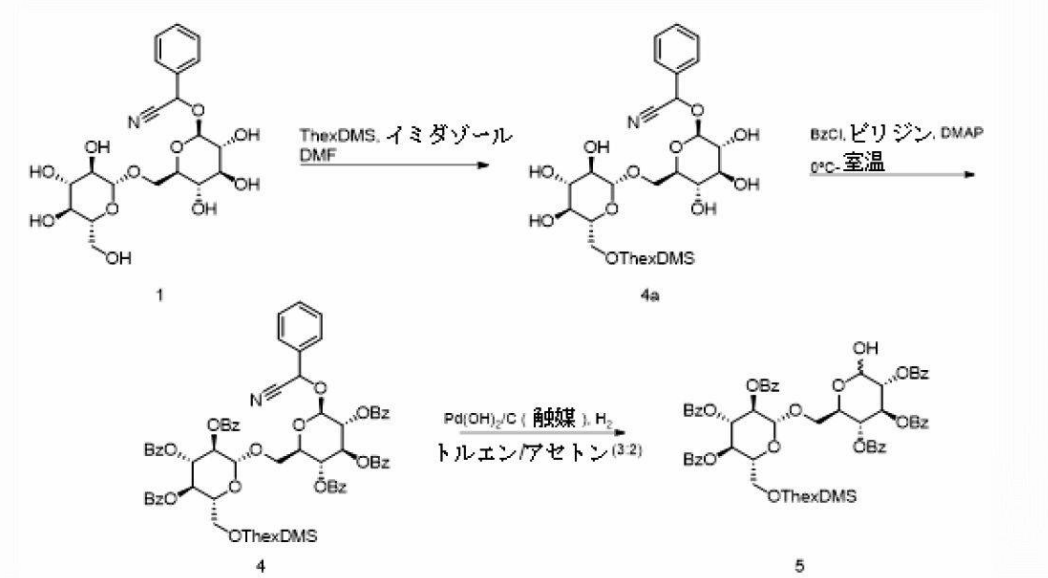
化合物 1 (D - アミグダリン ; Carbo synth 及び B o s c h e S c i e n t i f i c から市販されている) をピリジン及び D M A P の存在下で塩化ベンゾイルと反応させてベンゾイルエステル 2 を得た (収率 8 1 %)。ベンゾイルエステル 2 をトルエンとアセトンの 3 : 2 混合物に溶解し、 $H_2$  の存在下で、5 0 % 湿潤した触媒量の炭素担持  $Pd(OH)_2$  に曝露することによって還元し、オリゴ糖 3 ( 9 3 %) を得た (「構成単位 1」)。2 工程全体の収率は 7 5 % であった。

## 【 0 3 1 4】

スキーム 2 は、構成単位 2 の合成を示している。

## 【化 4 9】

スキーム 2



30

## 【 0 3 1 5】

最初に化合物 1 を、イミダゾール及び D M F の存在下でジメチルテキシルシリルクロリド (ThexDMS - Cl) と反応させて 6 - ヒドロキシル部分を選択的に保護し、化合物 4 a を得た (収率 8 2 %)。次に、化合物 4 a をピリジン及び D M A P の存在下で塩化ベンゾイルと反応させてベンゾイルエステル 4 を得た (収率 8 1 %)。何らかの特定の理論に束縛されるものではないが、ThexDMS の使用は、グリコシル化時にジメチル - t e r t - ブチルシリル部分が容易に切断されるため有利であると考えられる。次に、ベンゾイルエステル 4 をトルエン / アセトン混合物 ( 3 : 2 比) に溶解し、 $H_2$  の存在下で、5 0 % 湿潤した触媒量の炭素担持  $Pd(OH)_2$  に曝露することによって還元し、オリゴ糖 5 ( 9 3 %) を得た (「構成単位 2」)。工程全体の収率は 6 1 % であった。

40

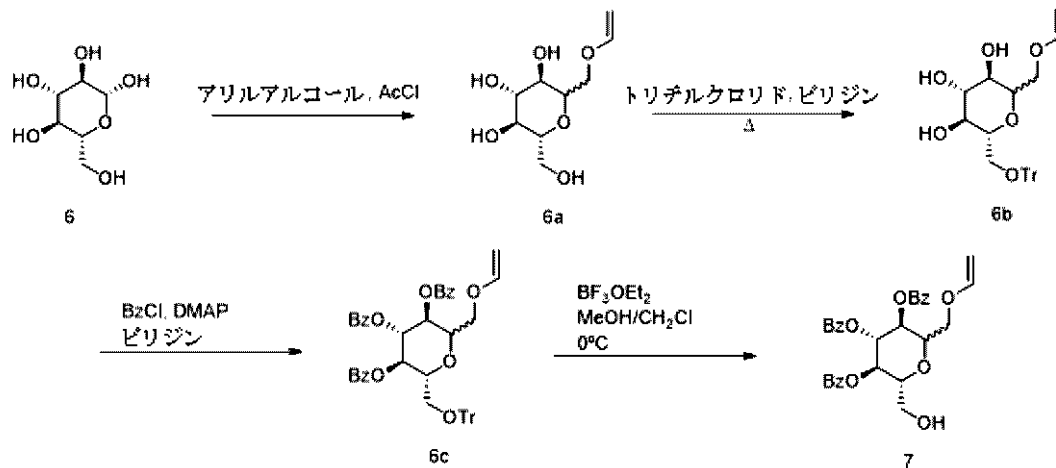
## 【 0 3 1 6】

スキーム 3 は、構成単位 3 の合成を示している。

50

## 【化 5 0】

## スキーム 3



10

## 【 0 3 1 7】

最初に化合物 6 (VWR から市販されているグルコース) を塩化アセチルの存在下でアリルアルコールと反応させ、化合物 6 a を得た。化合物 6 a をピリジンの存在下で加熱しながらトリチルクロリドと反応させて、化合物 6 b を得ることにより、化合物 6 a の 6 -  
 ヒドロキシル位置を保護した。化合物 6 b をピリジン及び DMAP の存在下で塩化ベンゾ  
 イルと反応させて、ベンゾイルエステル 6 c を得ることにより、化合物 6 b の残りのヒド  
 ロキシル部分を保護した。化合物 6 c を、メタノールとジクロロメタンの混合物中にて 0  
 で三フッ化ホウ素エーテラートと反応させ、化合物 7 (「構成要素 3」) を得た。構成  
 単位 3 の合成は全収率 42 % で行われた。

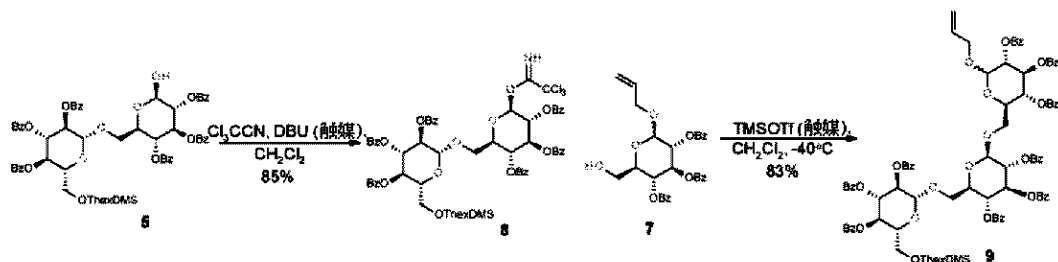
20

## 【 0 3 1 8】

スキーム 4 は、ゲンチオトリオースの合成を示している。

## 【化 5 1】

## スキーム 4



30

## 【 0 3 1 9】

化合物 5 をジクロロメタン中の触媒 DBU の存在下で  $\text{Cl}_3\text{CCN}$  と反応させ、トリク  
 ロロイミデート 8 を得た。化合物 8 を塩基不活性化シリカのプラグに再度通過させてベー  
 スライン物質を除去し、それ以上何も操作せずに先に進んだ。化合物 8 を化合物 7 (構成  
 単位 3) とシュミットグリコシル化条件下で反応させ (成分を -40 で触媒トリメチル  
 シリルトリフルオロメタンスルホネートと反応させる)、化合物 9 (ゲンチオトリオース  
 ) を得た。この 2 工程全体の収率は 70 % であった。

40

## 【 0 3 2 0】

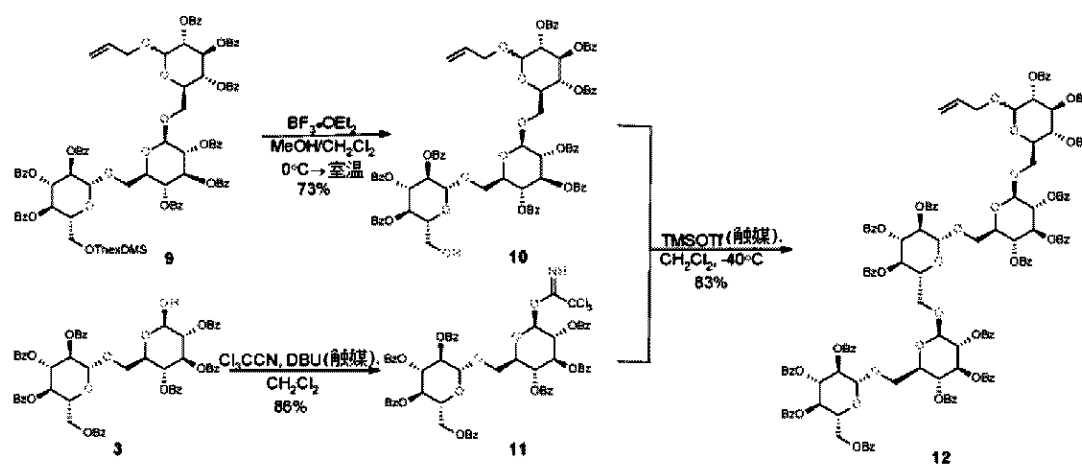
スキーム 5 は、ゲンチオペントース 12 を形成するグリコシル化を示している。

50



## 【化 5 2】

## スキーム 5



## 【 0 3 2 1】

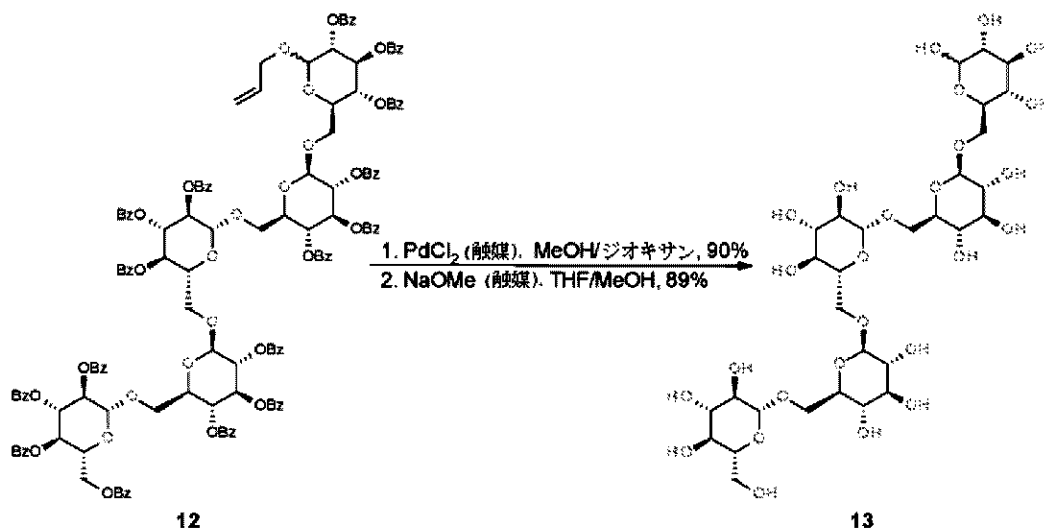
ゲンチオトリオース 9 を 0 でメタノール中の三フッ化ホウ素エーテラートで処理した後、室温に温めて化合物 10 を得た。化合物 3 (構成単位 1) をジクロロメタン中の触媒 DBU の存在下で  $\text{Cl}_3\text{CCN}$  と反応させ、トリクロロイミデート 11 を得た。トリクロロイミデート 11 と化合物 10 をシュミットグリコシル化条件下で反応させ、完全に保護されたゲンチオペントース 12 を得た。この工程全体の収率は 60% であった。

## 【 0 3 2 2】

スキーム 6 は、ゲンチオペントース 12 の脱保護を示している。

## 【化 5 3】

## スキーム 6



## 【 0 3 2 3】

ゲンチオペントース 12 をメタノールとジオキサンの混合物中で触媒量の塩化パラジウムと接触させてアリル部分を除去した。得られた生成物を、メタノールと THF の混合物中で生成物を触媒量のナトリウムメトキシドと反応させることにより全体的に脱保護し、ゲンチオペントース 13 を得た。10 段階の直線工程 (全 16 工程) の全収率は 14% であった。

## 【 0 3 2 4】

実施例 29: 2 - アジドエチルゲンチオテトラースの合成

スキーム 7 は、実施例 7 に記載されるように調製される、構成単位 2 へのアジド部分の

10

20

30

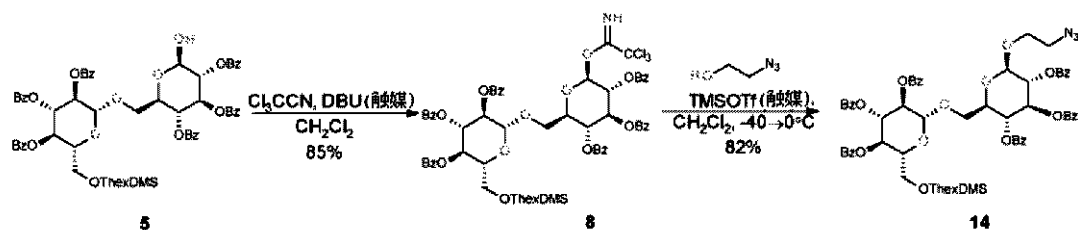
40

50

組み込みを示している。

【化 5 4】

スキーム 7



10

【 0 3 2 5】

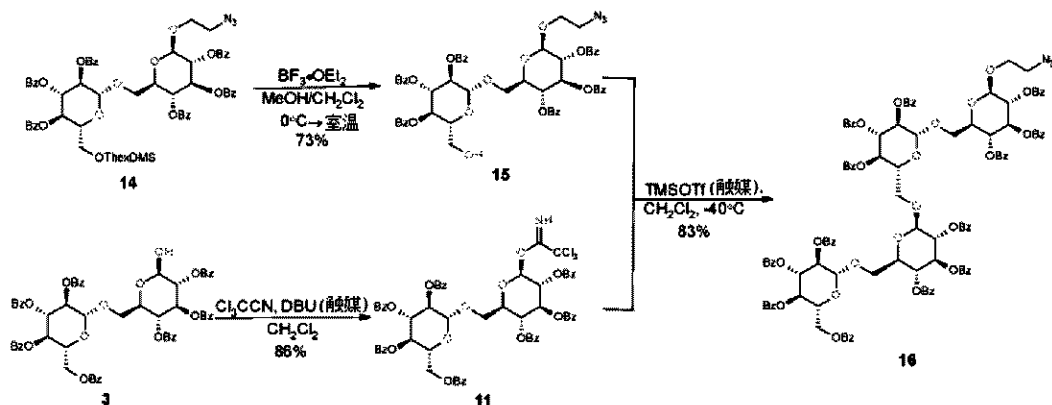
化合物 5 (構成単位 2) をジクロロメタン存在下の触媒量の DBU の存在下で  $\text{Cl}_3\text{CCN}$  と反応させ、トリクロロイミデート 8 を得た。トリクロロイミデート 8 をシュミットグリコシル化条件下で反応させ、化合物 14 を得た。化合物 14 を全収率 70 % で合成した。

【 0 3 2 6】

スキーム 8 は、2 - アジドエチルゲンチオテトロースの合成を示している。

【化 5 5】

スキーム 8



20

30

【 0 3 2 7】

メタノール中の三フッ化ホウ素エーテラート錯体の処理によって化合物 14 を脱保護し、化合物 15 を得た。化合物 3 (構成単位 1) をトリクロロアセトニトリル及び触媒 DBU で処理して化合物 11 を得た。次に、化合物 14 及び化合物 11 にシュミットグリコシル化条件を施し、ゲンチオテトロース生成物 16 を得た。この一連の全収率は 60 % であった。

【 0 3 2 8】

実施例 30 : 2 - アジドエチルゲンチオヘキソースの合成

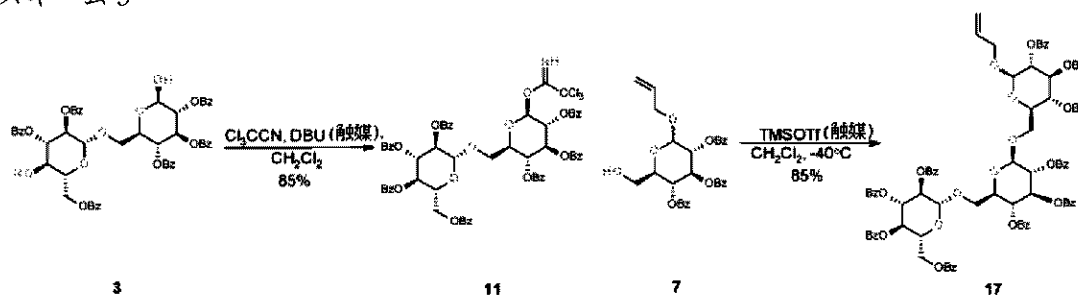
本実施例は、グルカン合成のためのさらなる方法を提供する。スキーム 9 は、ゲンチオトリオース 17 の合成を示している。

40

50

## 【化 5 6】

## スキーム 9



10

## 【 0 3 2 9】

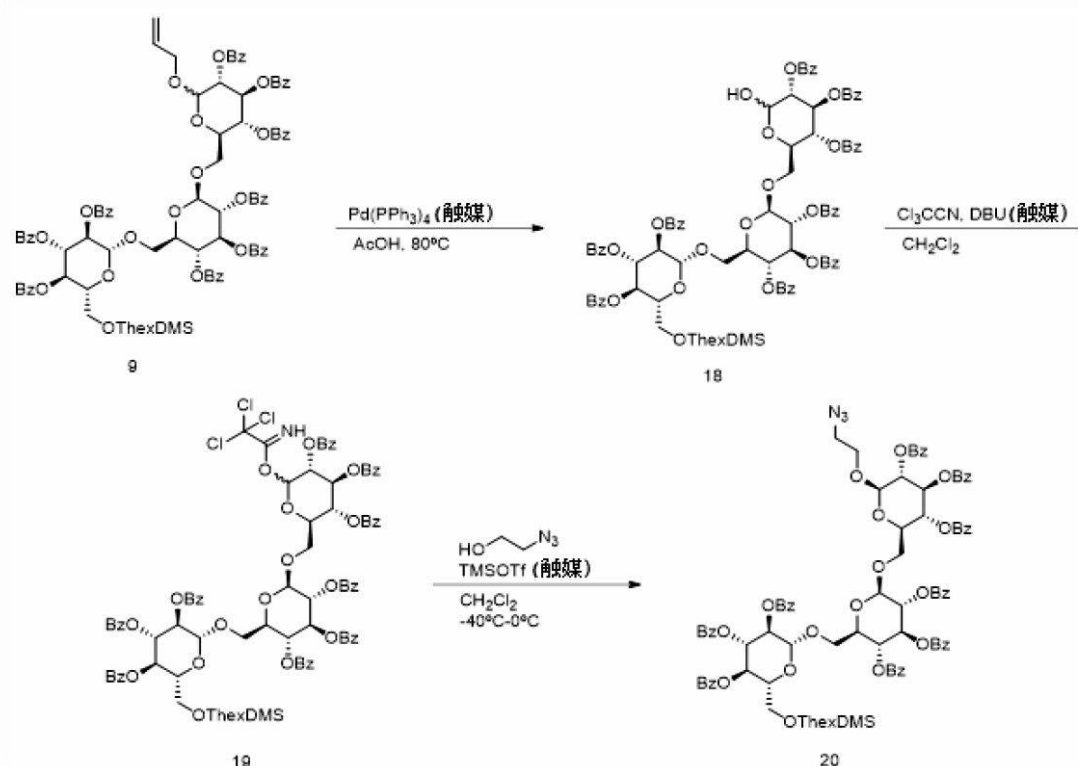
化合物 3 (構成単位 1) をジクロロメタン中の触媒 DBU の存在下で  $\text{Cl}_3\text{CCN}$  と反応させ、トリクロロイミデート 11 を得た。トリクロロイミデート 11 をシュミットグリコシル化条件下で化合物 7 (構成単位 3) と反応させてゲンチオトリオース 17 を得た (全収率 72%)。

## 【 0 3 3 0】

スキーム 10 は、ゲンチオトリオース 9 への 2 - アジドエチル部分の組み込みを示している。

## 【化 5 7】

## スキーム 10



30

40

## 【 0 3 3 1】

80 で酢酸中の触媒量のパラジウム (0) テトラキストリフェニルホスフィンに曝露し、化合物 18 を得ることにより、ゲンチオトリオース 9 を脱保護した。メタノール中の塩化パラジウムを利用した結果、アリル部分の還元に加えて、シリル部分が失われた。遊離ヒドロキシル部分がトリクロロイミデート 19 として官能化された後に、典型的なルイス酸条件下で 2 - アジドエタノールのグリコシル化を生じさせ、生成物 20 を得た。この一連の工程で、全収率 56% の 2 - アジドエチルゲンチオトリオースを得た。

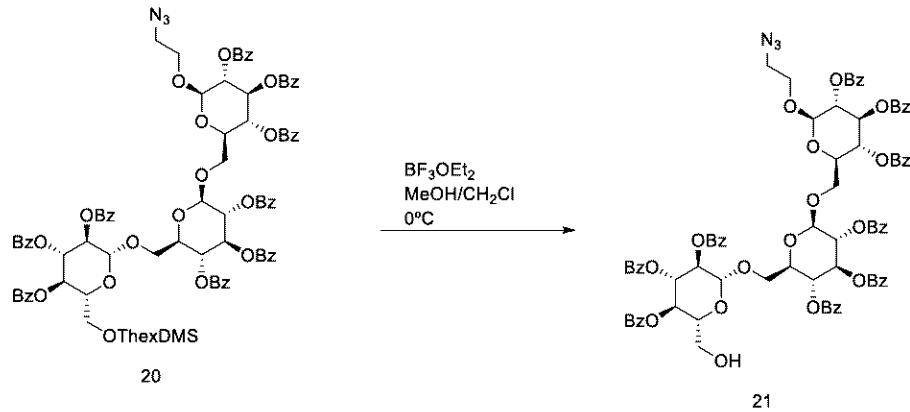
## 【 0 3 3 2】

50

スキーム 1 1 a ~ c は、2 - アジドエチルゲンチオヘキソース 2 4 の合成を示している。

【化 5 8】

スキーム 1 1 a

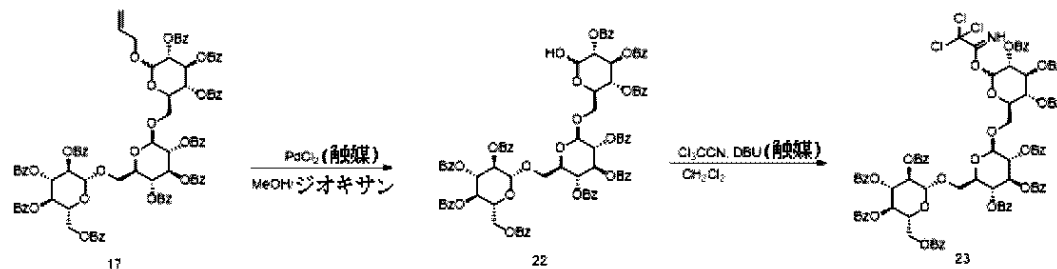


【 0 3 3 3】

スキーム 1 1 a に示すように、化合物 2 0 をメタノール中の三フッ化ホウ素エーテラート錯体と反応させて、化合物 2 1 を得た（収率 7 5 %）。

【化 5 9】

スキーム 1 1 b

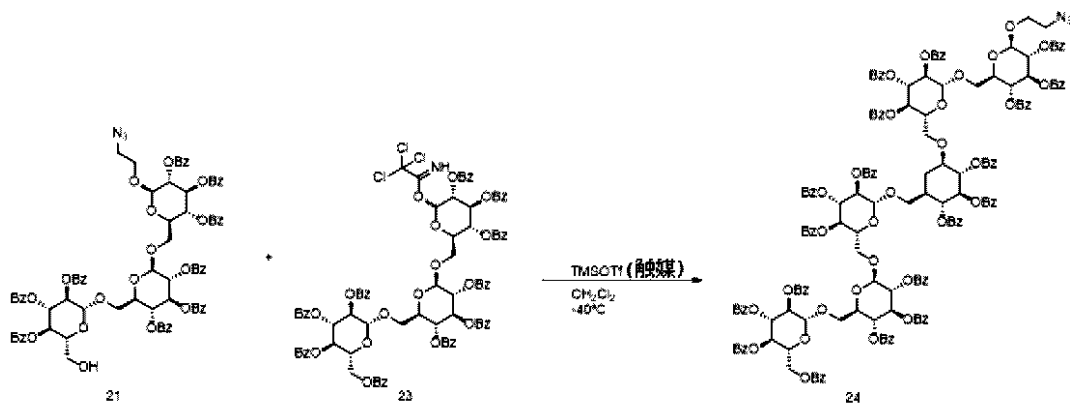


【 0 3 3 4】

スキーム 1 1 b に示すように、化合物 1 7 をメタノールとジオキサンの混合物中で、塩化パラジウム（I I）で還元して、化合物 2 2 を得た（収率 9 2 %）。化合物 2 2 をジクロロメタン中の触媒 D B U の存在下で C l<sub>3</sub> C C N と反応させ、トリクロロイミデート 2 3（収率 8 6 %）を得た。

【化 6 0】

スキーム 1 1 c



【 0 3 3 5】

スキーム 1 1 c に示すように、化合物 2 1 及び 2 3 をシュミットグリコシル化条件下に

し、目的生成物 24 を得た（収率 83 %）。全合成過程で、収率 62 % で化合物 24 が得られた。

### 【0336】

#### 実施例 31：コンジュゲート前駆体の合成

いくつかの実施形態では、糖オリゴマーはさらに、オリゴマーを抗体にコンジュゲートするのに有用な官能基に結合されたリンカー部分を含むことができる。したがって、以下の合成例は、糖オリゴマー（例えば、実施例 1 のようにプスツランから単離されるか、または実施例 7～9 で上述のように調製された糖オリゴマー）の使用方法、及び抗体へのオリゴマーのコンジュゲーションを補助するための官能基の付加方法を示している。この化合物はまだ抗体とコンジュゲートされていないため、本明細書ではこれを「コンジュゲート前駆体」と呼ぶ。以下に、上記の抗体とコンジュゲートするのに適した 3 つの例示的な前駆体を示す。

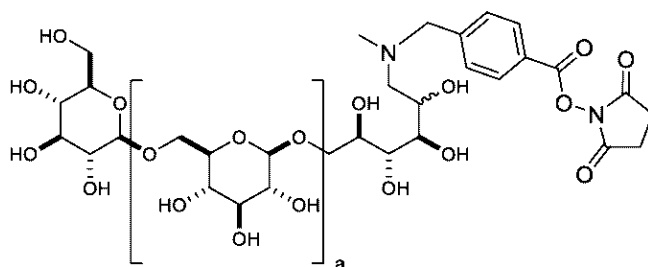
### 【0337】

#### コンジュゲート前駆体 B

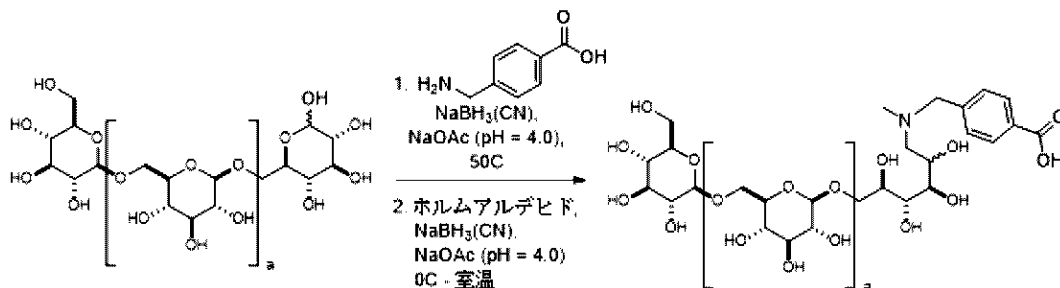
コンジュゲート前駆体 B の合成は、スキーム 12 に従って調製することができる：

### 【化 61】

#### コンジュゲート前駆体 B

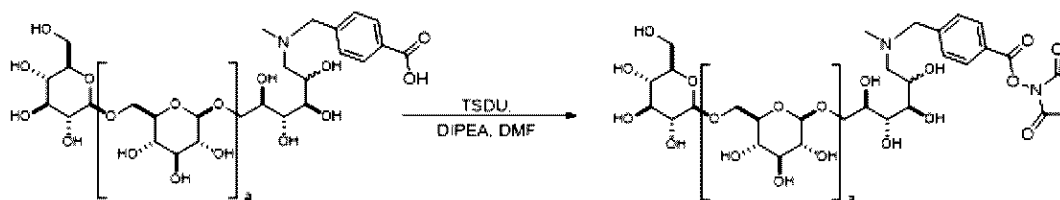


スキーム 12



B-1

B-2



B-2

コンジュゲート前駆体 B

### 【0338】

B-1 を  $\text{NaBH}_3(\text{CN})$  及び酢酸ナトリウムの存在下で 4 - (アミノメチル) 安息香酸と接触させた。反応が完了するまで、反応物を 50 で撹拌した。次に、生成物を 0 でホルムアルデヒド、 $\text{NaBH}_3(\text{CN})$ 、及び酢酸ナトリウムで処理した。反応物を撹拌し、室温に温めて生成物 B-2 を得た。

### 【0339】

B-2 を DMF に溶解した。TSDU をこの溶液に添加し、続いて DIPEA に添加した。反応が完了するまで溶液を撹拌して、コンジュゲート前駆体 B を得た。

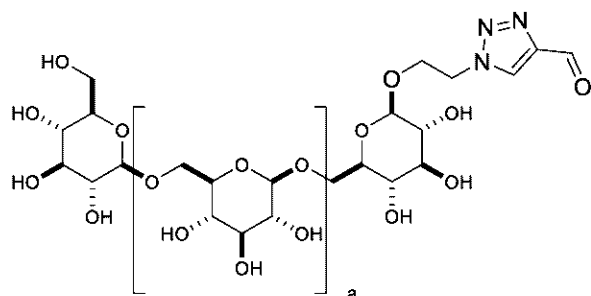
## 【 0 3 4 0 】

コンジュゲート前駆体 C

コンジュゲート前駆体 C の合成は、スキーム 1 3 に従って調製することができる：

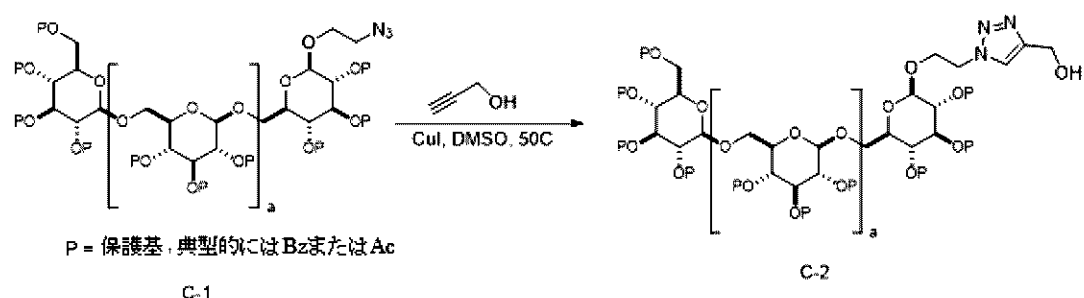
## 【 化 6 2 】

コンジュゲート前駆体 C



10

スキーム 1 3



20

30

## 【 0 3 4 1 】

C - 1 を DMSO に溶解し、50 でプロパ - 2 - イン - 1 - オール及び Cu I と接触させた。反応が完了するまで反応物を撹拌して、C - 2 を得た。C - 2 をデスマーチン試薬の存在下で DCM に溶解して C - 3 を得た。C - 3 をメタノールと THF の溶液に溶解し、ナトリウムメトキシドと接触させてコンジュゲート前駆体 C を得た。

40

## 【 0 3 4 2 】

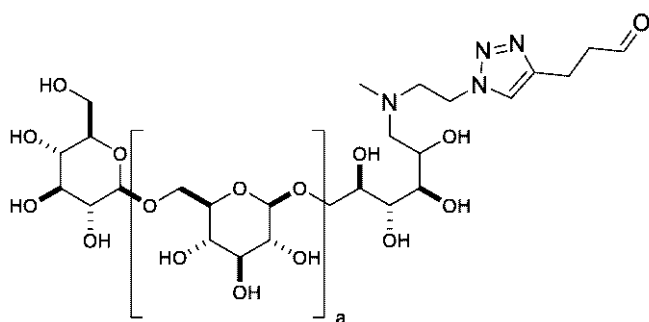
コンジュゲート前駆体 D

コンジュゲート前駆体 D の合成は、スキーム 1 4 に従って調製することができる：

50

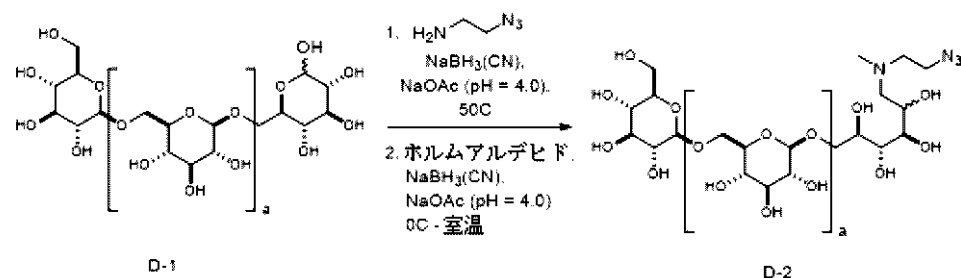
## 【化 6 3】

コンジュゲート前駆体D

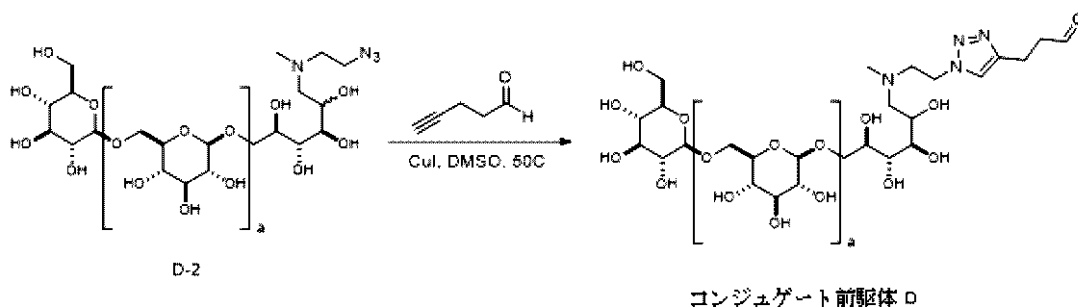


10

スキーム 1 4



20



コンジュゲート前駆体D

30

## 【 0 3 4 3】

D - 1 を  $\text{NaBH}_3(\text{CN})$  及び酢酸ナトリウムの存在下で 2 - アジドエタン 1 - アミンと接触させた。反応が完了するまで、反応物を 50 で攪拌した。次に、生成物を 0 でホルムアルデヒド、 $\text{NaBH}_3(\text{CN})$ 、及び酢酸ナトリウムで処理した。反応物を攪拌し、室温に温めて生成物 D - 2 を得た。

## 【 0 3 4 4】

D - 2 を DMSO に溶解し、50 でペンタ - 4 - イナール及び CuI と接触させた。反応が完了するまで溶液を攪拌して、コンジュゲート前駆体 D を得た。

## 【 0 3 4 5】

他の実施形態

本発明のいくつかの実施形態を本明細書に記載しているが、本開示及び実施例を改変して、本発明の他の方法及び組成物を提供することができる。したがって、本発明の範囲は、例として示された特定の実施形態に加えて、添付の特許請求の範囲によって定義されるようなものであることが理解されよう。本明細書で引用された参考文献はすべて、参照により本明細書に組み込まれる。

最後に、本発明の好ましい実施態様を項分け記載する。

## [ 実施態様 1 ]

各 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して 2 ~ 10 個のグルコースモノマー単位からなる 1 ~ 6 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされている治療用抗

50

体を含む、組成物。

[ 実施態様 2 ]

前記 - 1 , 6 - グルカンオリゴマーが独立して 2 ~ 7 個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[ 実施態様 3 ]

前記 - 1 , 6 - グルカンオリゴマーが独立して 5 ~ 8 個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[ 実施態様 4 ]

前記 - 1 , 6 - グルカンオリゴマーが独立して 4 ~ 6 個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

10

[ 実施態様 5 ]

前記 - 1 , 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ 8 個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[ 実施態様 6 ]

前記 - 1 , 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ 7 個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[ 実施態様 7 ]

前記 - 1 , 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ 6 個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[ 実施態様 8 ]

20

前記 - 1 , 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ 5 個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[ 実施態様 9 ]

前記 - 1 , 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ 4 個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[ 実施態様 10 ]

前記 - 1 , 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ 3 個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[ 実施態様 11 ]

前記 - 1 , 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ 2 個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

30

[ 実施態様 13 ]

前記抗体が 2 ~ 4 個の - 1 , 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされている、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[ 実施態様 14 ]

前記抗体が 3 個の - 1 , 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされている、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[ 実施態様 15 ]

前記抗体が、2 ~ 4 個の - 1 , 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1 , 6 - グルカンオリゴマーが独立して 2 ~ 7 個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

40

[ 実施態様 16 ]

前記抗体が、2 ~ 4 個の - 1 , 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1 , 6 - グルカンオリゴマーが独立して 2 ~ 6 個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[ 実施態様 17 ]

前記抗体が、2 ~ 4 個の - 1 , 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1 , 6 - グルカンオリゴマーが独立して 5 ~ 8 個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[ 実施態様 18 ]

50



前記抗体が、2～4個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して4～6個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[実施態様19]

前記抗体が、2～4個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ6個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[実施態様20]

前記抗体が、2～4個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ5個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

10

[実施態様21]

前記抗体が、2～4個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ4個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[実施態様22]

前記抗体が、2～4個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ3個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[実施態様23]

前記抗体が、2～4個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ2個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

20

[実施態様24]

前記抗体が、3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して5～8個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[実施態様25]

前記抗体が、3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して2～6個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

30

[実施態様26]

前記抗体が、3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーが独立して4～6個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[実施態様27]

前記抗体が、3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ8個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[実施態様28]

前記抗体が、3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ7個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

40

[実施態様29]

前記抗体が、3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ6個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[実施態様30]

前記抗体が、3個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ5個のグルコースモノマー単位からなる、

50

先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[実施態様 3 1]

前記抗体が、3 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ 4 個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[実施態様 3 2]

前記抗体が、3 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ 3 個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

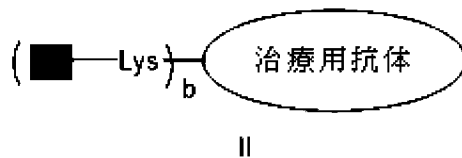
[実施態様 3 3]

前記抗体が、3 個の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされており、前記 - 1, 6 - グルカンオリゴマーがそれぞれ 2 個のグルコースモノマー単位からなる、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[実施態様 3 4]

前記抗体が、式 I I :

【化 6 4】



[式中、

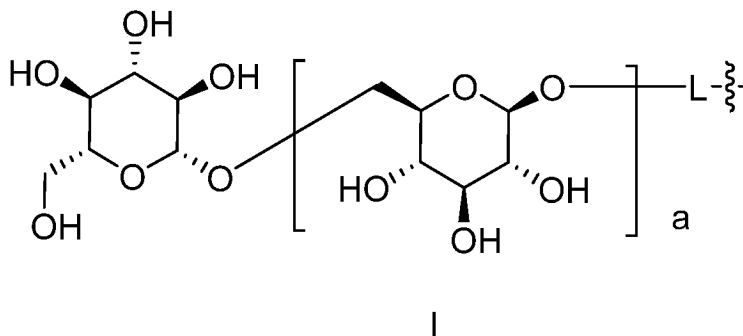
L y s はリジン残基であり；

b は 1 ~ 6 であり；かつ



は式 I の化合物：

【化 6 5】



(式中、

a は 1 ~ 9 であり；

L はリンカーであり；及び

~~~~~

は、2つの原子間の結合箇所を示す)である]

に記載の - 1, 6 - グルカンオリゴマーにコンジュゲートされている、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

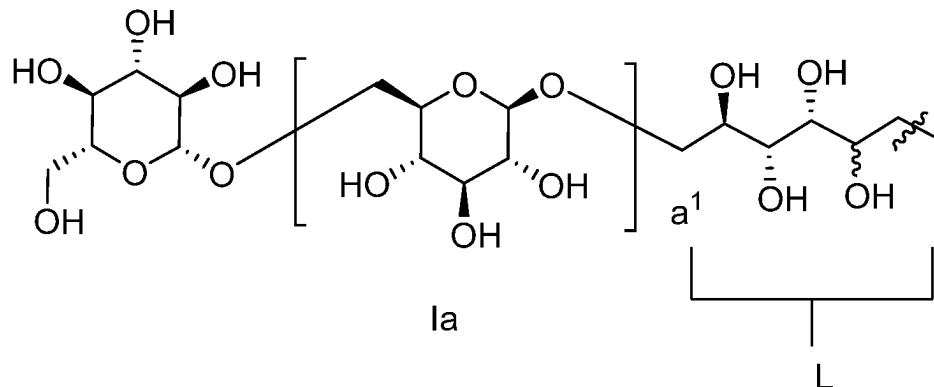
[ 実施態様 3 5 ]



10

が式 I a の化合物：

【化 6 6】



20

( 式中、

a<sup>1</sup>は 1 ~ 9 であり；及び

30

~~~~~

は、2つの原子間の結合箇所を示す)である、実施態様 1 5 に記載の組成物。

[ 実施態様 3 6 ]

前記抗体が、表 I に列挙される配列の少なくとも一部と少なくとも 8 0 % の同一性を有する可変ドメインを含む、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[ 実施態様 3 7 ]

前記抗体が、表 I に列挙される重鎖配列の少なくとも一部と少なくとも 8 0 % の同一性を有する重鎖可変ドメインを含む、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[ 実施態様 3 8 ]

前記抗体が、表 I に列挙される重鎖配列と少なくとも 8 0 % の同一性を有する重鎖を含む、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[ 実施態様 3 9 ]

前記抗体が、表 I に列挙される軽鎖配列の少なくとも一部と少なくとも 8 0 % の同一性を有する軽鎖可変ドメインを含む、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[ 実施態様 4 0 ]

前記抗体が、表 I に列挙される軽鎖配列と少なくとも 8 0 % の同一性を有する軽鎖を含

40

50

む、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[実施態様 4 1]

前記抗体が、セルグツズマブ；イブリツモマブチウキセタン；リツキシマブ；トシツモマブ；ゲムツズマブ；アレムツズマブ；パニツムマブ；デパツキシズマブ；シプロツズマブ；コドリツズマブ；トラスツズマブ；パトリツマブ；フィギツムマブ；ガニツマブ；カンツズマブ；A B X - M A 1；バビツキシマブ；J 5 9 1；パリビズマブ；及びベバシズマブからなる群より選択される、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[実施態様 4 2]

前記抗体が、セルグツズマブ抗体；イブリツモマブチウキセタン抗体；リツキシマブ抗体；トシツモマブ抗体；ゲムツズマブ抗体；アレムツズマブ抗体；パニツムマブ抗体；デパツキシズマブ抗体；シプロツズマブ抗体；コドリツズマブ抗体；トラスツズマブ抗体；パトリツマブ抗体；フィギツムマブ抗体；ガニツマブ抗体；カンツズマブ抗体；A B X - M A 1 抗体；バビツキシマブ；J 5 9 1 抗体；パリビズマブ抗体；またはベバシズマブ抗体である、実施態様 1 ~ 4 0 のいずれかに記載の組成物。

10

[実施態様 4 3]

前記抗体が、標的への結合をその親の治療用抗体と競合する、実施態様 4 2 に記載の組成物。

[実施態様 4 4]

前記 - 1 , 6 - グルカンオリゴマーが化学合成される、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

20

[実施態様 4 5]

前記組成物に含有されるグルカンの乾燥重量のうち少なくとも 9 0 % が - 1 , 6 - グルカンである、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[実施態様 4 6]

前記組成物に含有されるグルカンの乾燥重量のうち 1 0 % 未満が - 1 , 3 - グルカンである、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[実施態様 4 7]

前記組成物が - 1 , 3 - グルカンを実質的に含まない、先行実施態様のいずれかに記載の組成物。

[実施態様 4 8]

治療を必要とする対象における標的部分の過剰発現及び / または増幅に関連するがんを治療する方法であって、治療有効量の、先行実施態様のいずれかに記載の組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

30

[実施態様 4 9]

前記標的が、C E A C A M 5、C D 2 0、C D 3 3、C D 5 2、E G F R、E G F R V I I I、F A P、G l y c i p a n - 3、H E R 2 / n e u、H e r 3、I G F 1 R ( インスリン様成長因子 1 受容体 )、M u c 1 ( C a n A g )、M U C 1 8、ホスファチジルセリン ( P S )、P S M A ( 前立腺特異的膜抗原 )、R S V ( F タンパク質の A 抗原部位 )、及び V E G F - A からなる群より選択される、実施態様 4 8 に記載の方法。

[実施態様 5 0]

前記標的が細胞表面標的である、実施態様 4 8 または 4 9 に記載の方法。

40

[実施態様 5 1]

前記がんが乳がんである、実施態様 4 8 ~ 5 0 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 5 2]

前記がんが前立腺がんである、実施態様 4 8 ~ 5 0 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 5 3]

前記がんが子宮内膜がんである、実施態様 4 8 ~ 5 0 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 5 4]

前記がんが胃がんである、実施態様 4 8 ~ 5 0 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 5 5]

50

前記がんが膀胱がんである、実施態様 48 ~ 50 のいずれかに記載の方法。

[ 実施態様 56 ]

前記がんが肺がんである、実施態様 48 ~ 50 のいずれかに記載の方法。

[ 実施態様 57 ]

前記肺がんが非小細胞肺がんである、実施態様 56 に記載の方法。

[ 実施態様 58 ]

前記がんが卵巣がんである、実施態様 48 ~ 50 のいずれかに記載の方法。

[ 実施態様 59 ]

前記がんが唾液腺がんである、実施態様 48 ~ 50 のいずれかに記載の方法。

[ 実施態様 60 ]

前記がんが膵臓がんである、実施態様 48 ~ 50 のいずれかに記載の方法。

[ 実施態様 61 ]

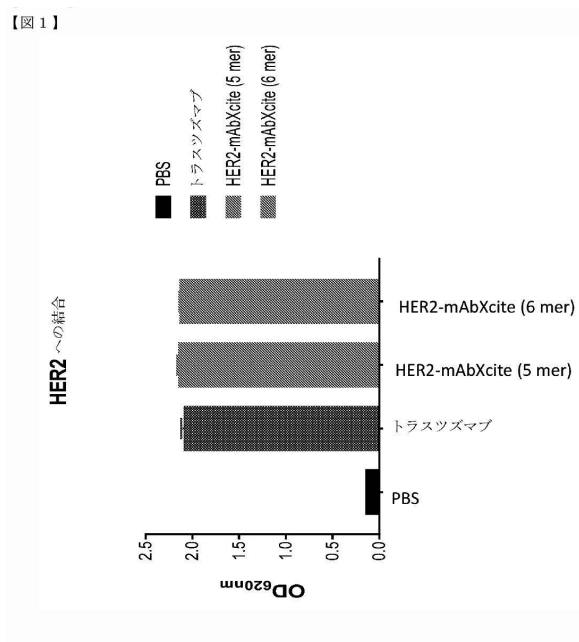
前記がんが血液がんである、実施態様 48 ~ 50 のいずれかに記載の方法。

[ 実施態様 62 ]

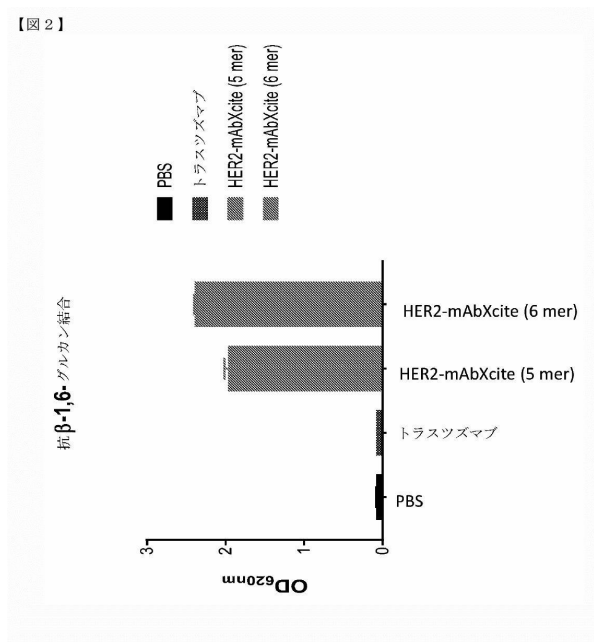
前記がんが皮膚がんである、実施態様 48 ~ 50 のいずれかに記載の方法。

【図面】

【図 1】



【図 2】



10

20

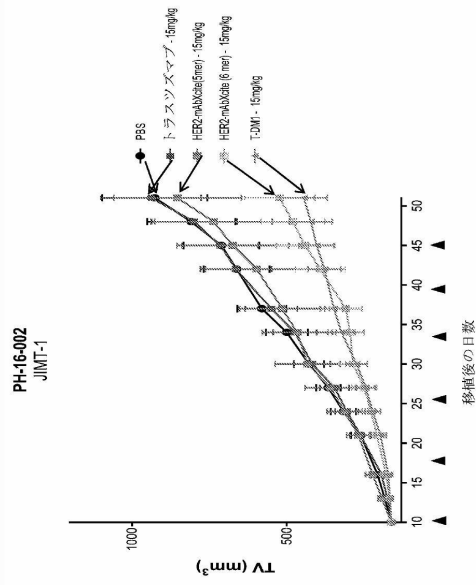
30

40

50

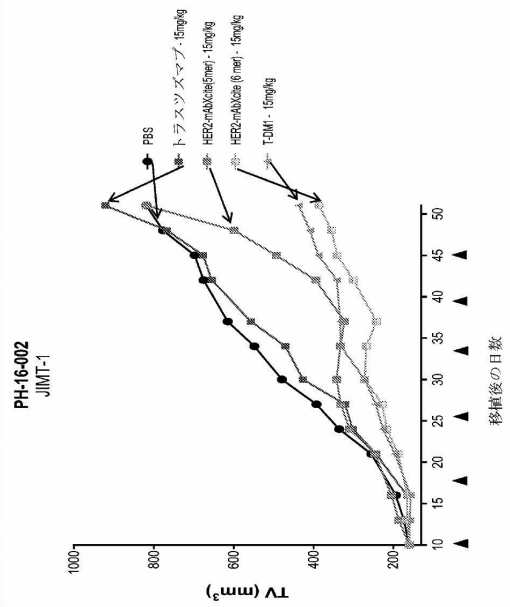
【図 3】

【図 3】



【図 4】

【図 4】

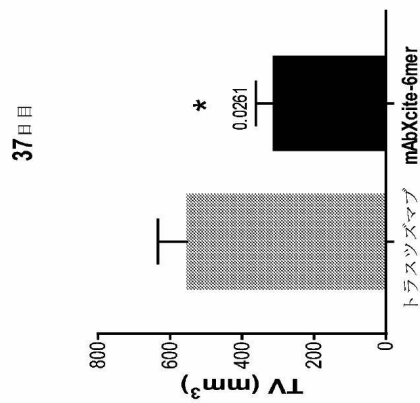


10

20

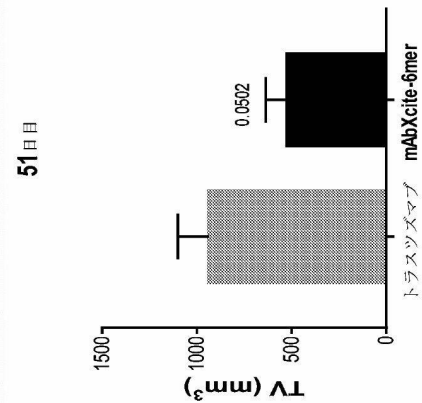
【図 5】

【図 5】



【図 6】

【図 6】

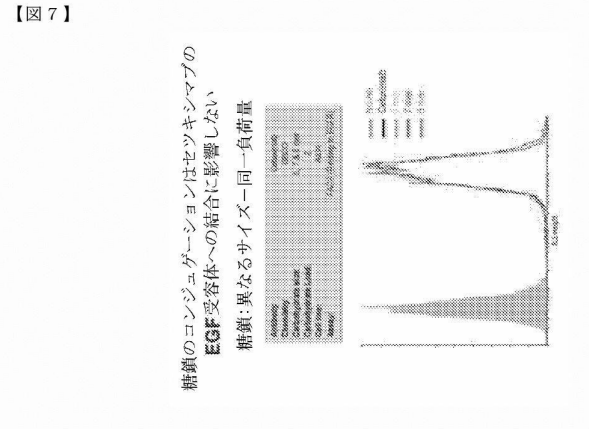


30

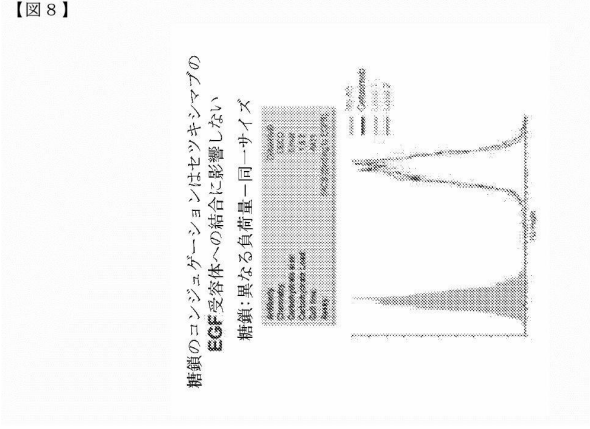
40

50

【図 7】

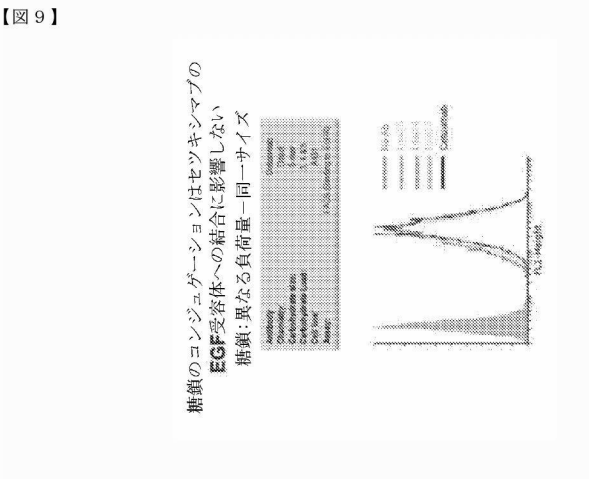


【図 8】

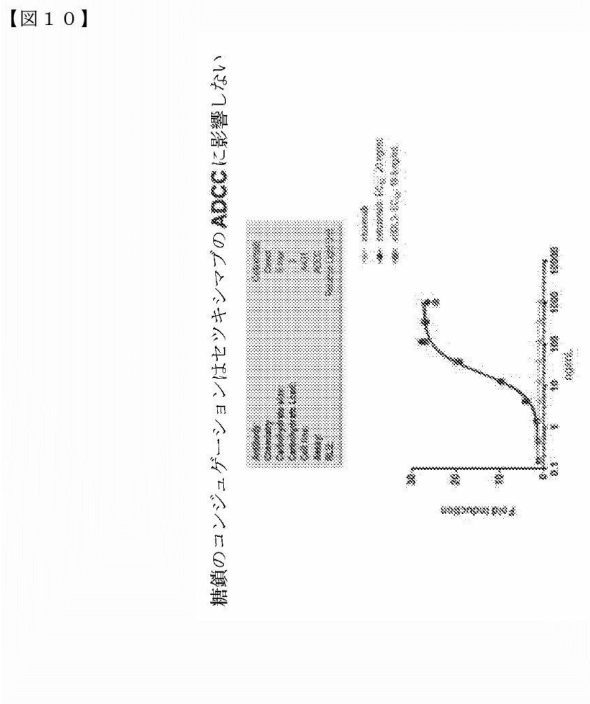


10

【図 9】



【図 10】



20

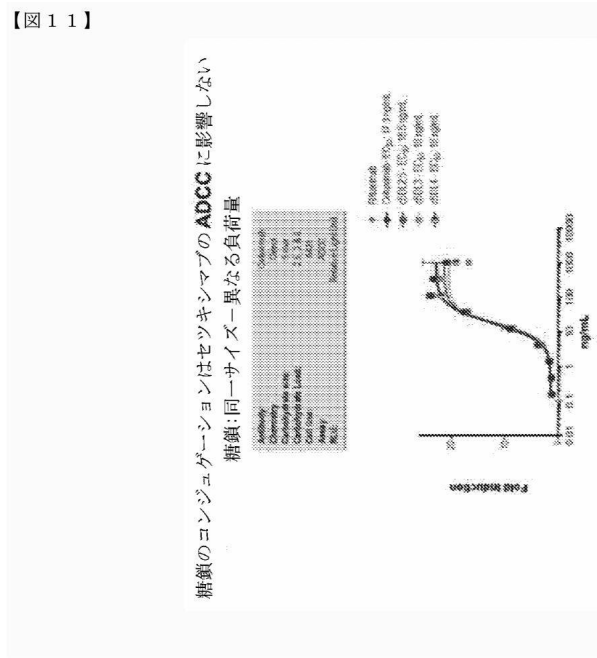
30

40

50

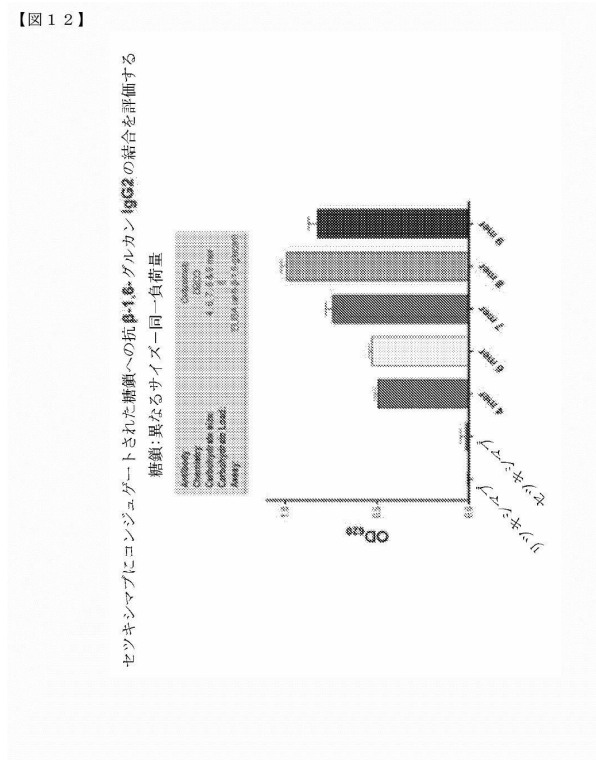
【図 1 1】

【図 1 1】



【図 1 2】

【図 1 2】

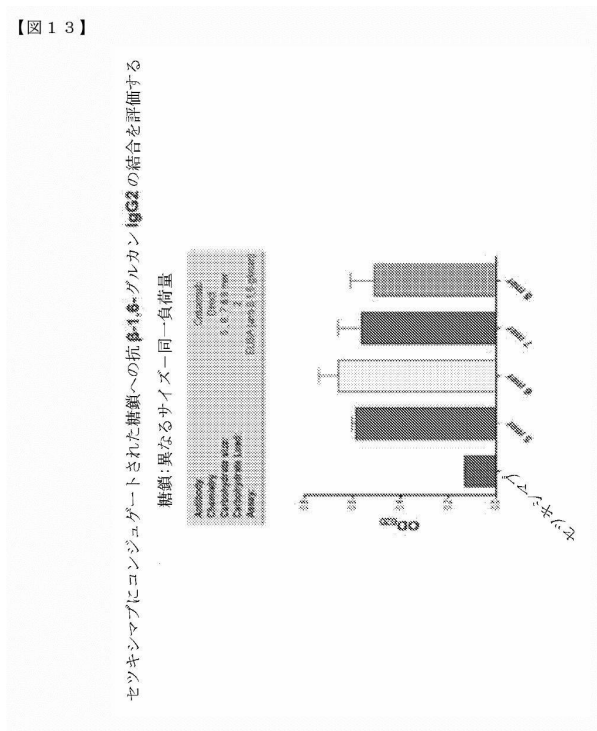


10

20

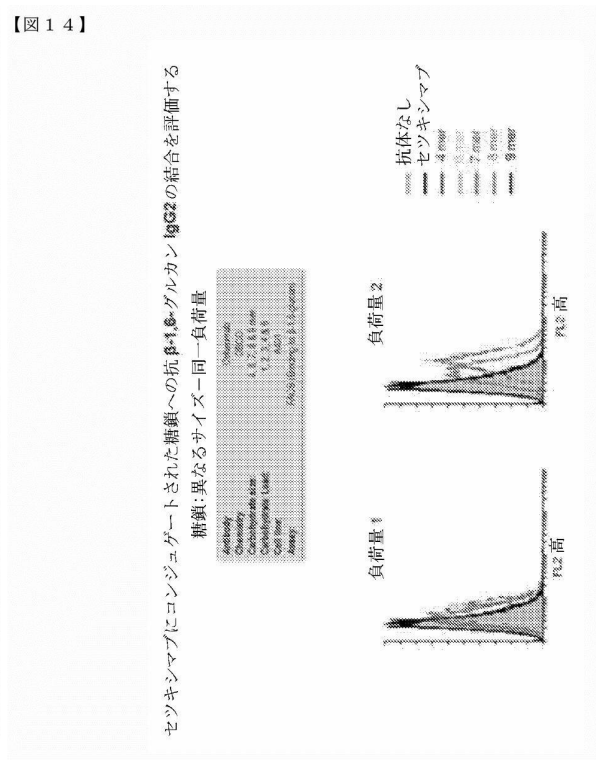
【図 1 3】

【図 1 3】



【図 1 4】

【図 1 4】



30

40

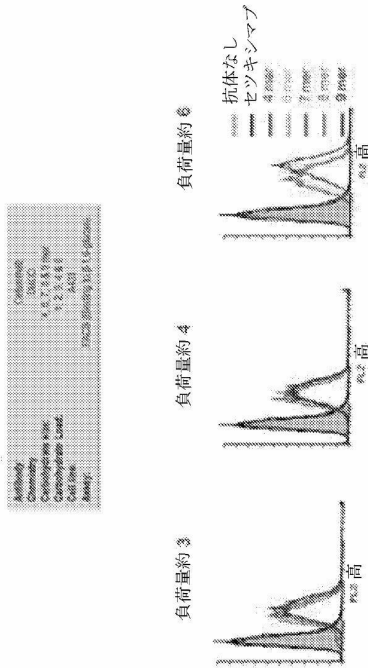
50



【図 15】

【図 15】

セツキシマブにコンジュゲートされた糖鎖への抗β-1,8-グルカン IgG2の結合を評価する  
糖鎖:異なるサイズ同一負荷量

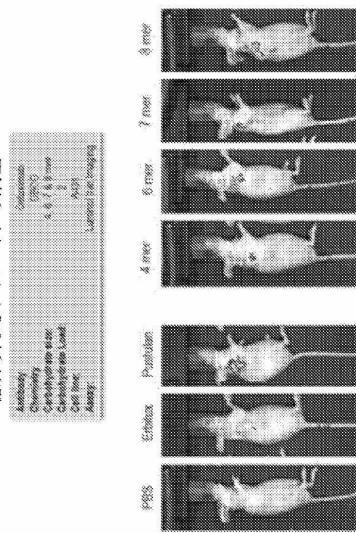


【図 16】

【図 16】

mAbXcite-セツキシマブによる好中球の活性化

糖鎖:異なるサイズ同一負荷量

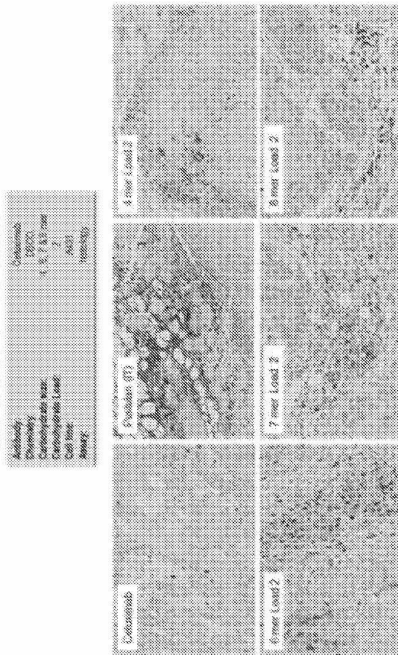


【図 17】

【図 17】

mAbXcite-セツキシマブによる好中球浸潤

糖鎖:異なるサイズ同一負荷量

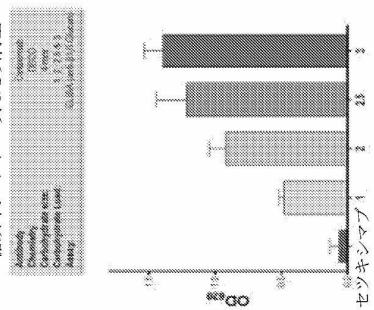


【図 18】

【図 18】

セツキシマブにコンジュゲートされた糖鎖への抗β-1,8-グルカン IgG2の結合を評価する

糖鎖:同一サイズ異なる負荷量



10

20

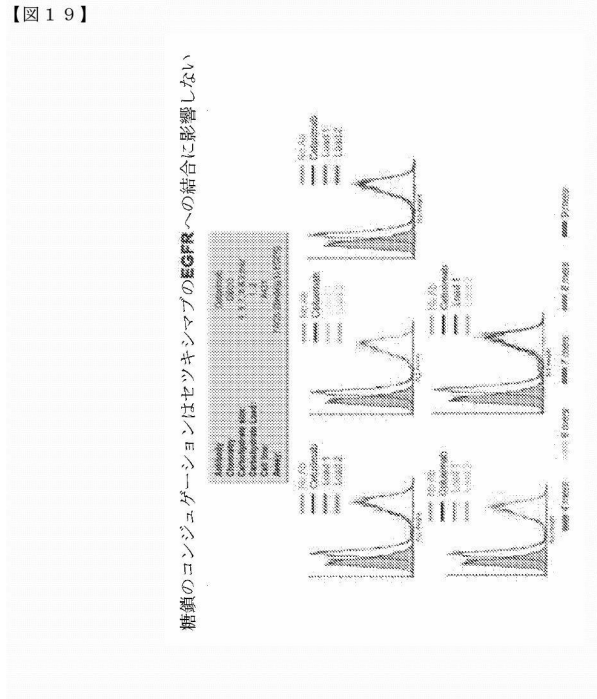
30

40

50

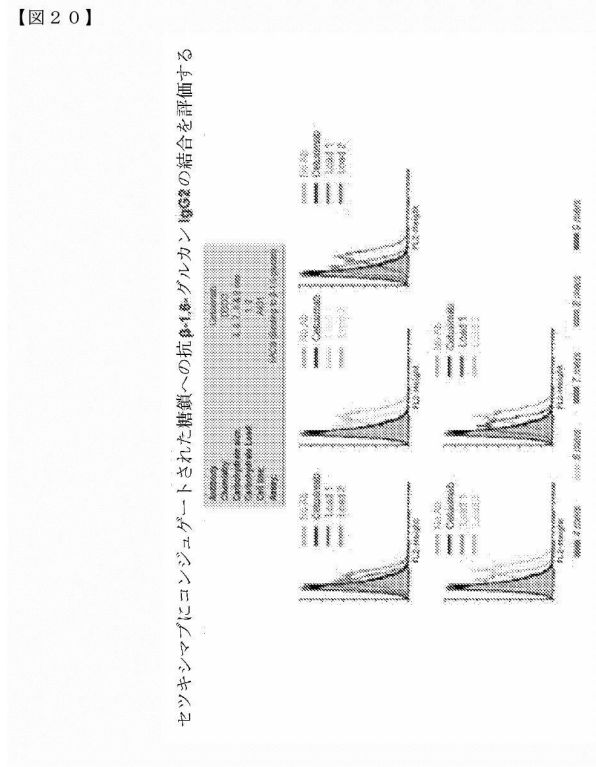
【図 19】

【図 19】



【図 20】

【図 20】

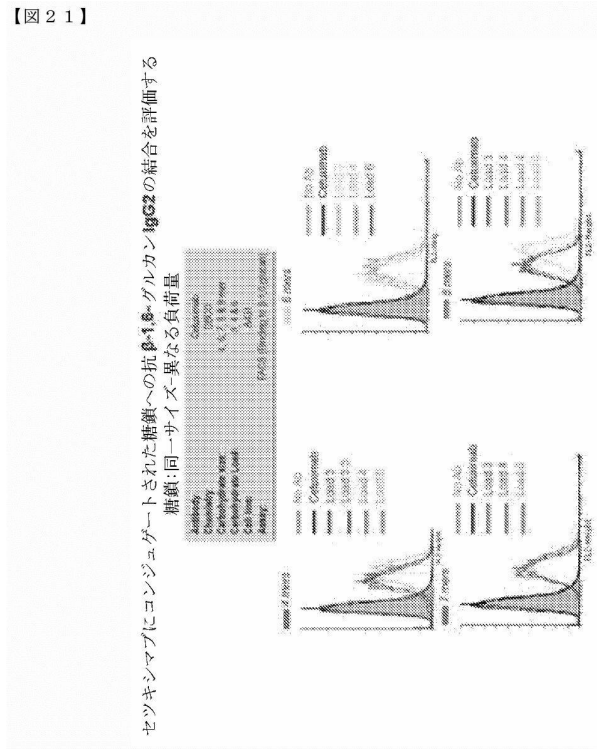


10

20

【図 21】

【図 21】

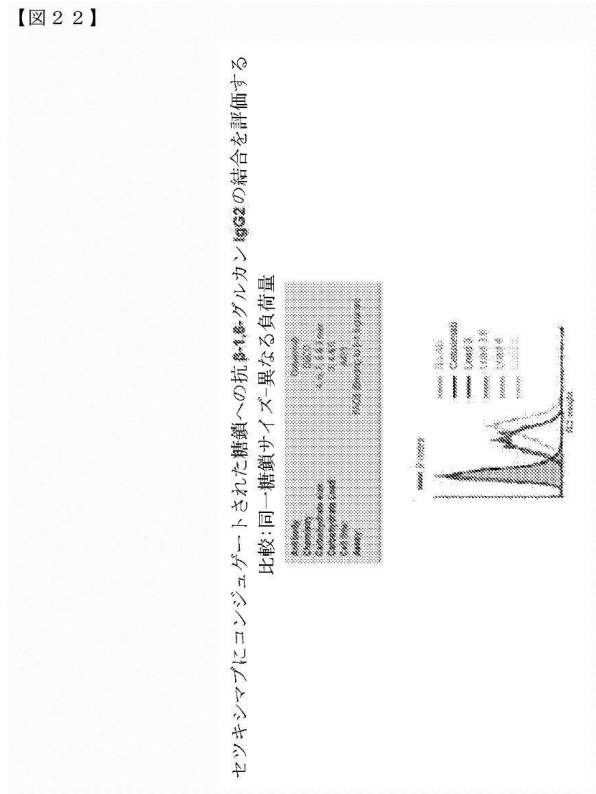


30

40

【図 22】

【図 22】

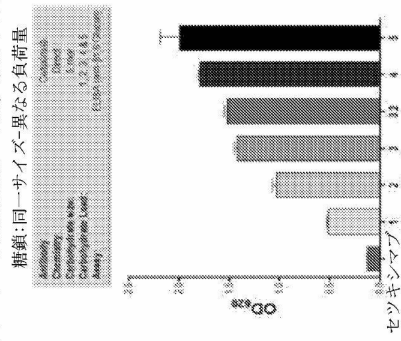


50

【図 2 3】

【図 2 3】

セツキシマブにコンジュゲートされた糖鎖への抗 $\beta$ -1,6-グルカン IgG2 の結合を評価する



【図 2 4】

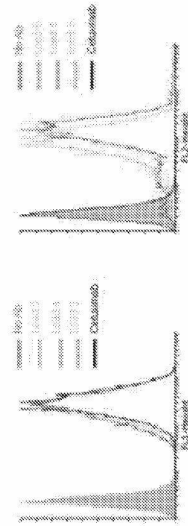
【図 2 4】

mAbXcite- セツキシマブの効果

糖鎖: 同一サイズ-異なる負荷量

1) EGF 受容体への抗体結合

2) 抗 $\beta$ -1,6-グルカン IgG2 の糖鎖への結合



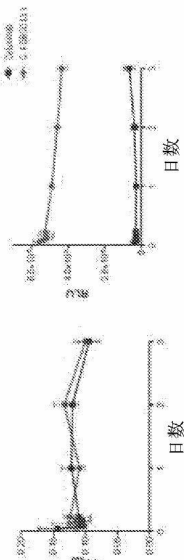
【図 2 5】

【図 2 5】

mAbXcite- セツキシマブはヒト血清中で安定である

| Antibody  | Chemistry                 | Conjugation site | Conjugation method | Conjugation ratio        | Conjugation time | Conjugation buffer               |
|-----------|---------------------------|------------------|--------------------|--------------------------|------------------|----------------------------------|
| Seviximab | Anti- $\beta$ -1,6-GlcNAc | Asn102           | Click chemistry    | 1.2:1 (GlcNAc:Seviximab) | 2h               | 0.1M NaHCO <sub>3</sub> , pH 8.5 |

抗体の検出



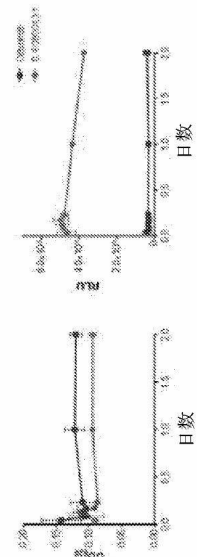
【図 2 6】

【図 2 6】

mAbXcite- セツキシマブはマウス血清中で安定である

| Antibody  | Chemistry                 | Conjugation site | Conjugation method | Conjugation ratio        | Conjugation time | Conjugation buffer               |
|-----------|---------------------------|------------------|--------------------|--------------------------|------------------|----------------------------------|
| Seviximab | Anti- $\beta$ -1,6-GlcNAc | Asn102           | Click chemistry    | 1.2:1 (GlcNAc:Seviximab) | 2h               | 0.1M NaHCO <sub>3</sub> , pH 8.5 |

抗体の検出



10

20

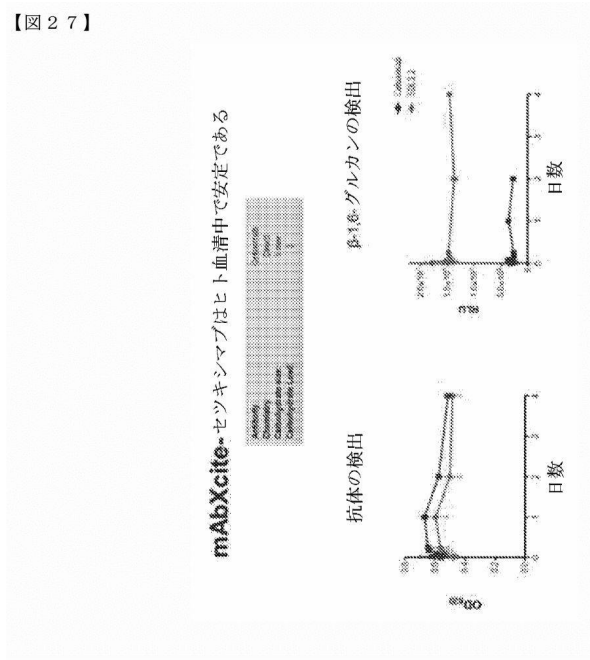
30

40

50

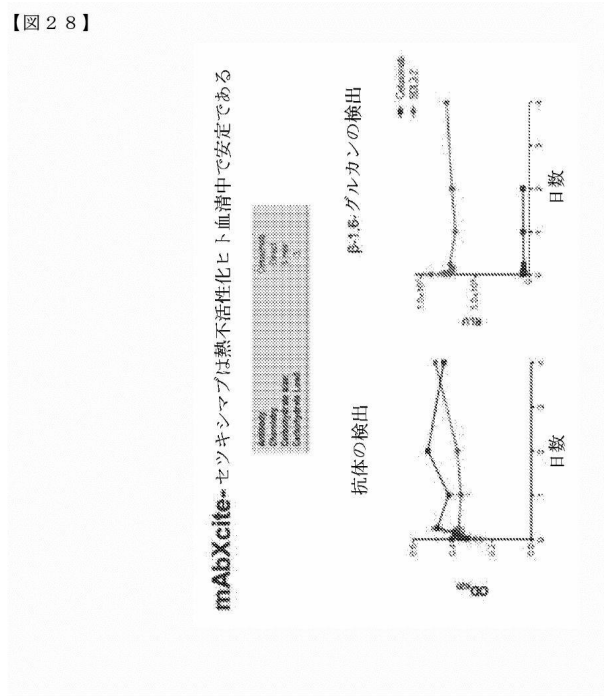
【図 27】

【図 27】



【図 28】

【図 28】

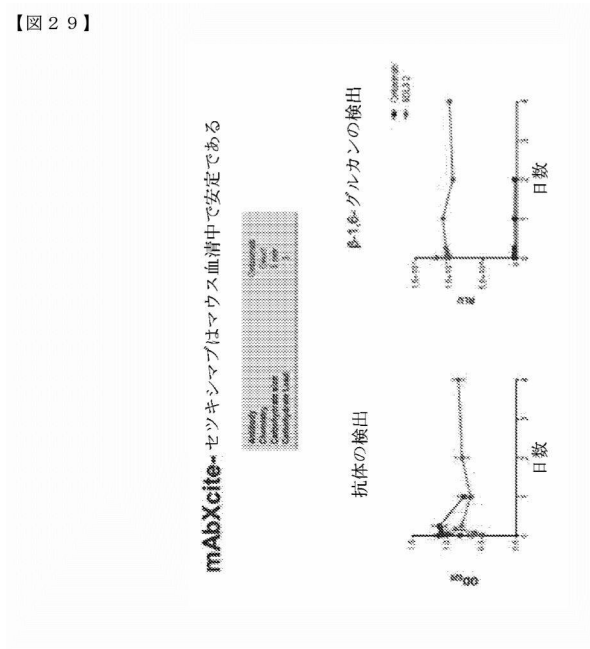


10

20

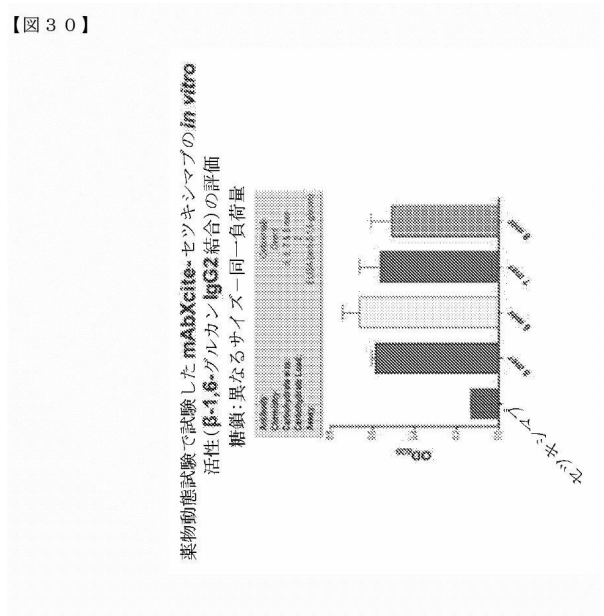
【図 29】

【図 29】



【図 30】

【図 30】



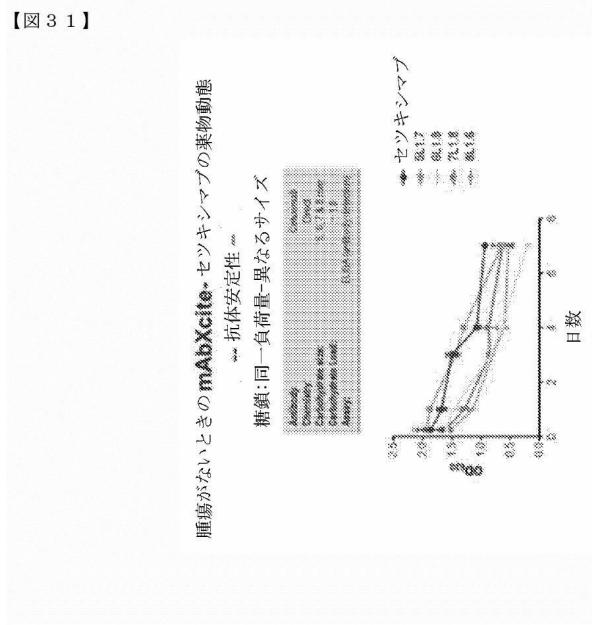
30

40

50

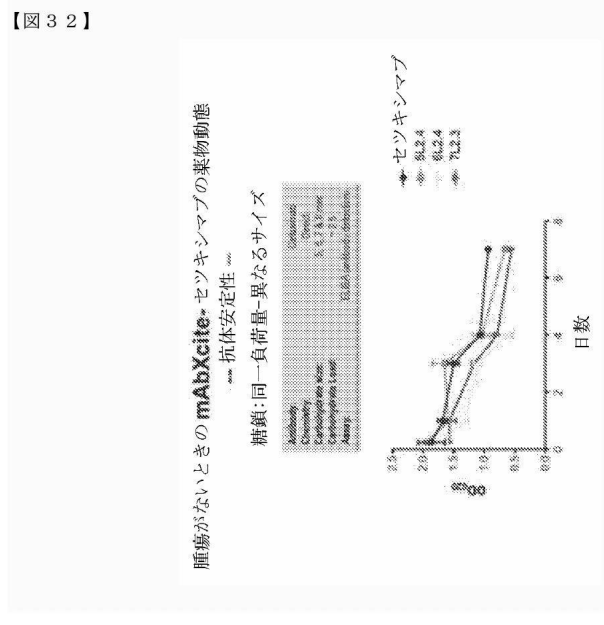
【図 3 1】

【図 3 1】



【図 3 2】

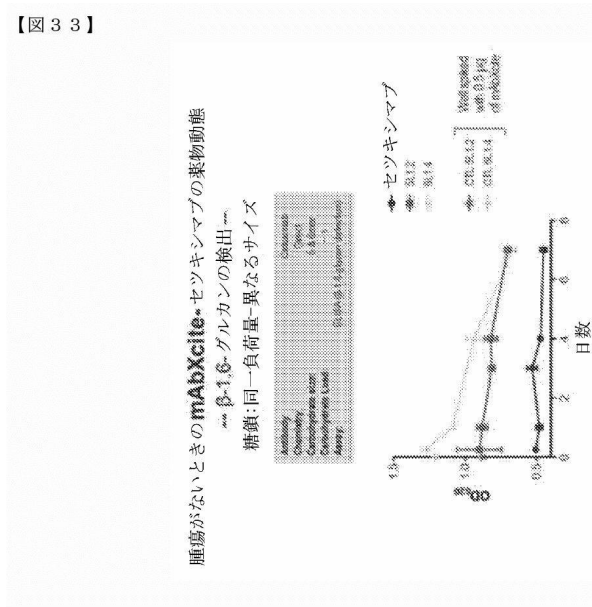
【図 3 2】



10

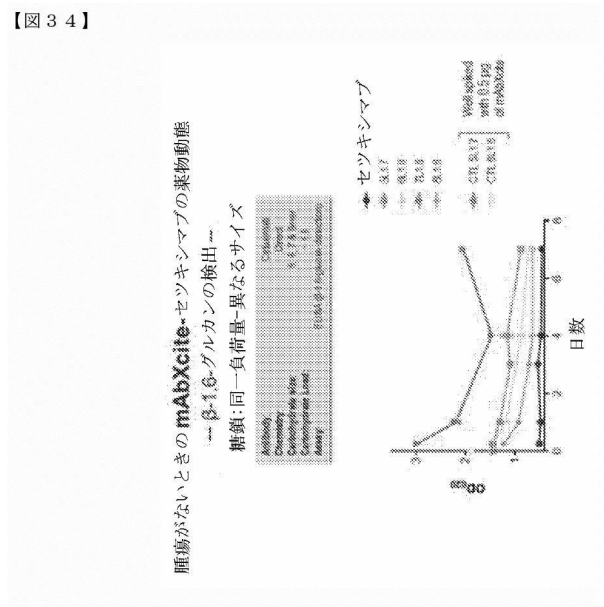
【図 3 3】

【図 3 3】



【図 3 4】

【図 3 4】



20

30

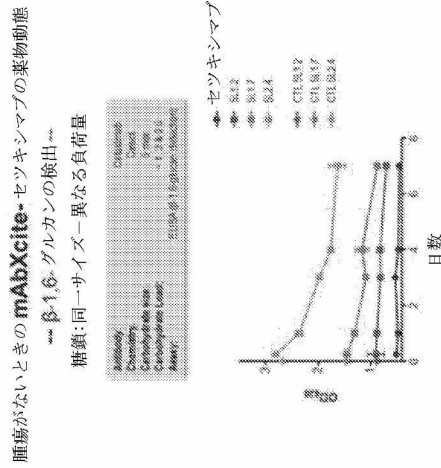
40

50



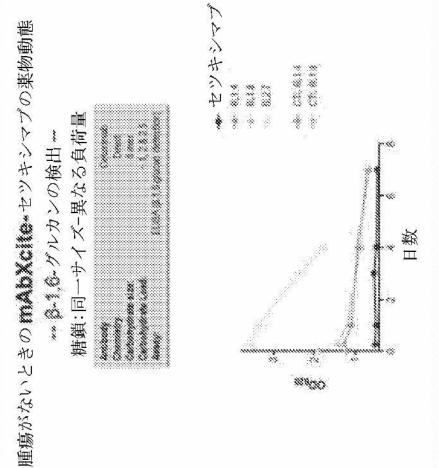
【図 39】

【図 39】



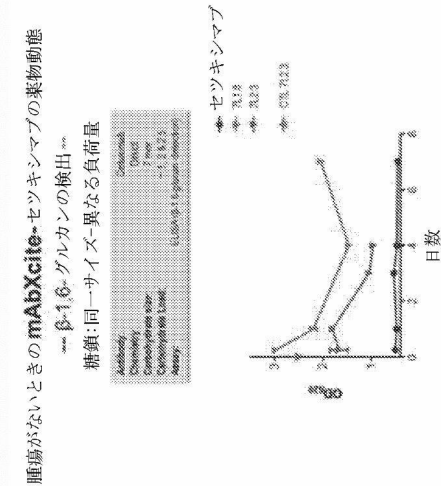
【図 40】

【図 40】



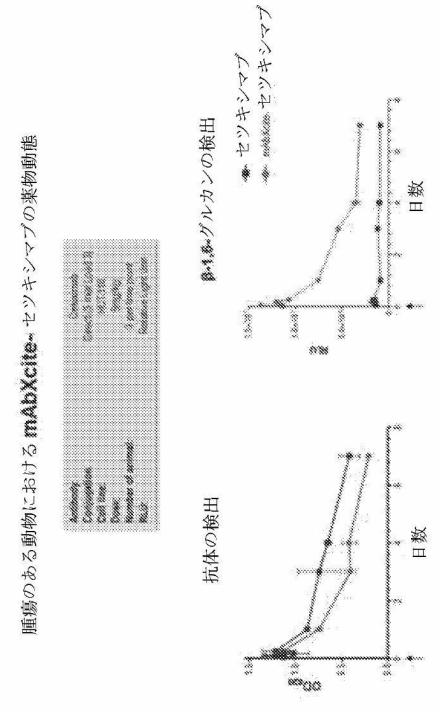
【図 41】

【図 41】



【図 42】

【図 42】



10

20

30

40

50

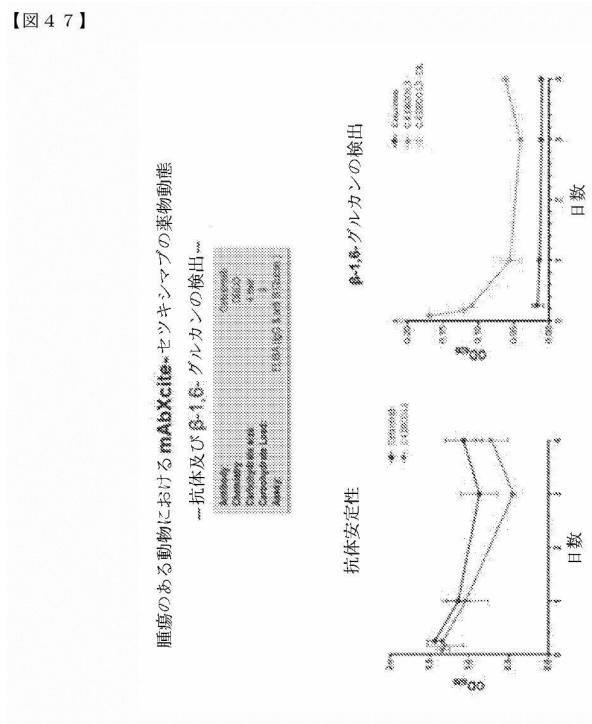






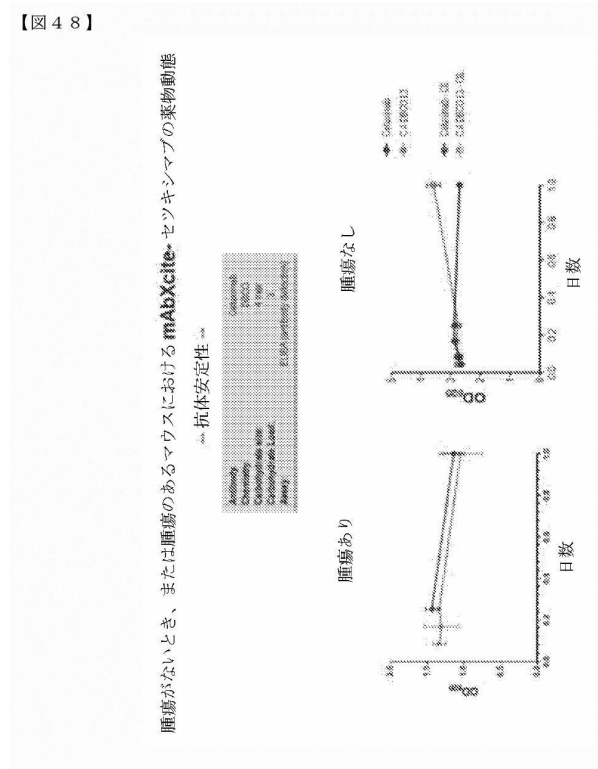
【図 4 7】

【図 4 7】



【図 4 8】

【図 4 8】

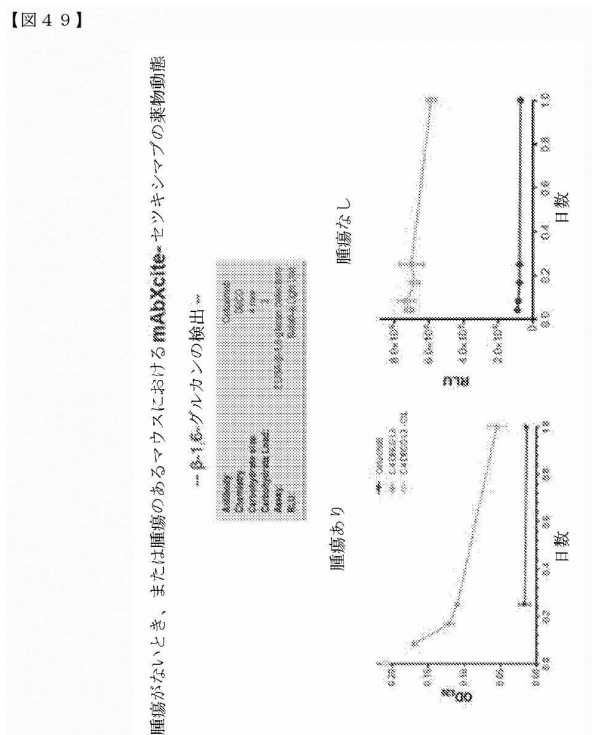


10

20

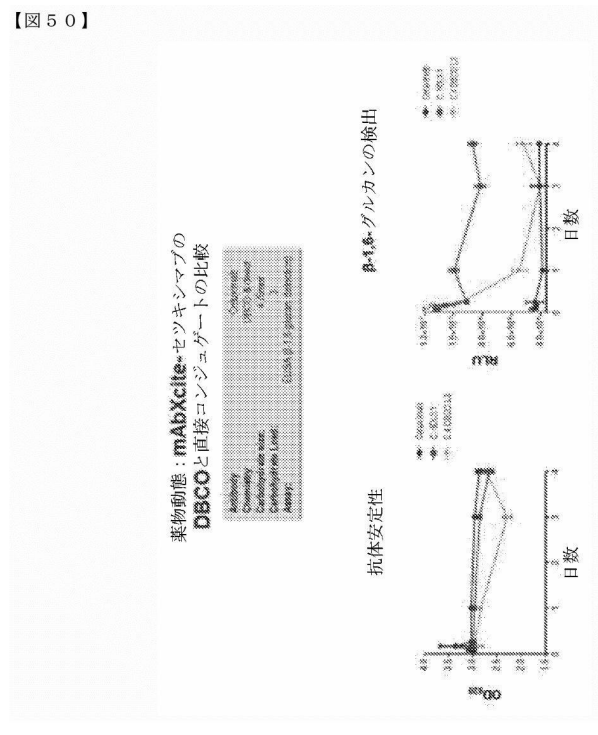
【図 4 9】

【図 4 9】



【図 5 0】

【図 5 0】



30

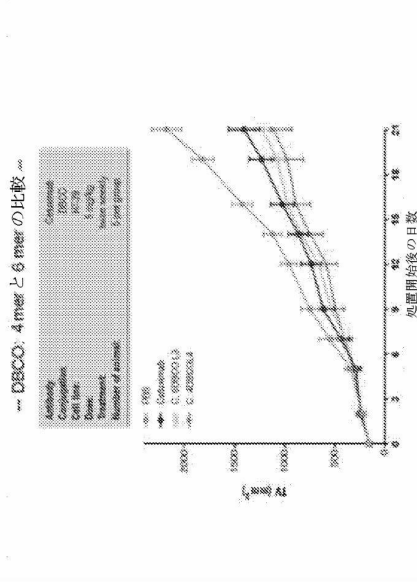
40

50

【図 5 1】

【図 5 1】

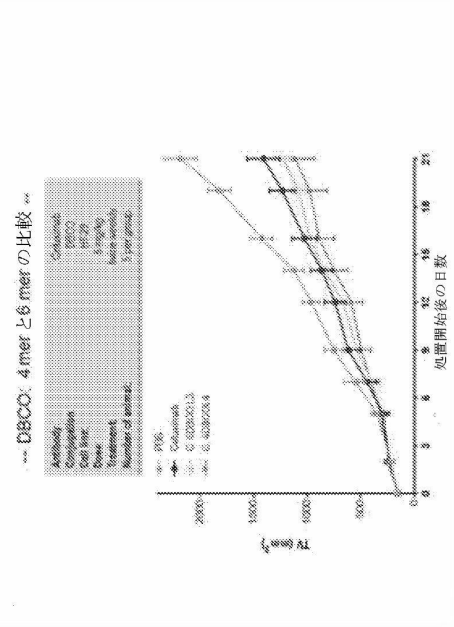
BRAF変異型大腸腫瘍モデルにおけるmAbXcite®セツキシマブの有効性



【図 5 2】

【図 5 2】

BRAF変異型大腸腫瘍モデルにおけるmAbXcite®セツキシマブの有効性



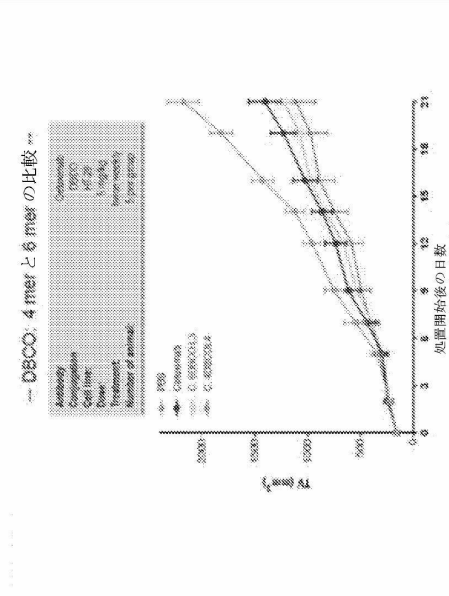
10

20

【図 5 3】

【図 5 3】

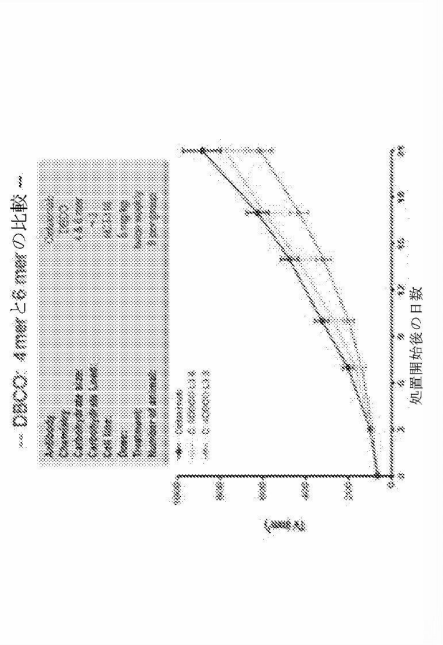
BRAF変異型大腸腫瘍モデルにおけるmAbXcite®セツキシマブの有効性



【図 5 4】

【図 5 4】

KRAS変異型大腸腫瘍モデルにおけるmAbXcite®セツキシマブの有効性



30

40

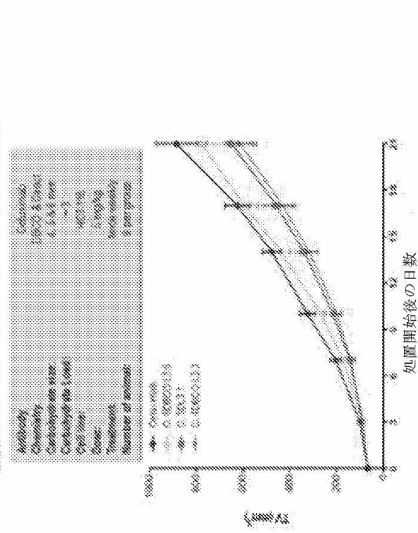
50

【図 5 5】

【図 5 5】

KRAS 変異型大腸腫瘍モデルにおけるmAbXcite-セツキシマブの有効性

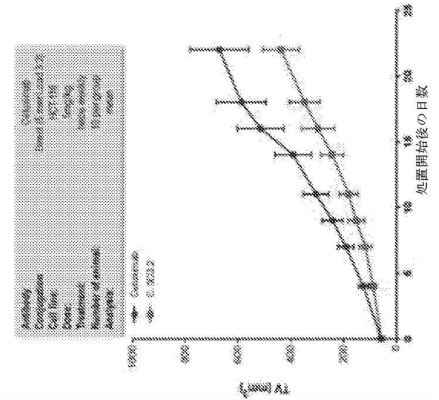
DBCOと直接コンジュゲーションの比較



【図 5 6】

【図 5 6】

mAbXcite-セツキシマブはKRAS 変異型大腸腫瘍の増殖を阻害する



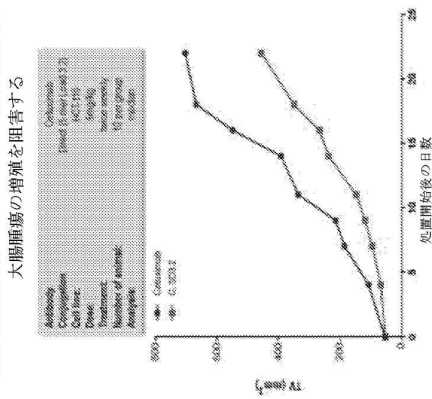
10

20

【図 5 7】

【図 5 7】

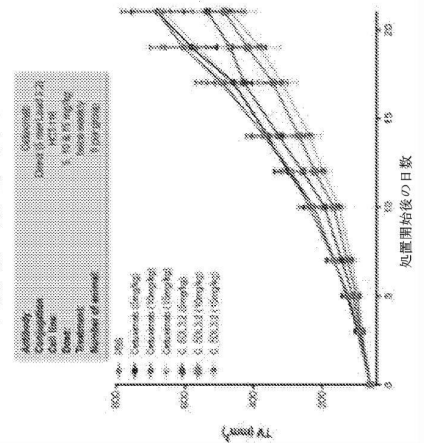
mAbXcite-セツキシマブはKRAS 変異型大腸腫瘍の増殖を阻害する



【図 5 8】

【図 5 8】

mAbXcite-セツキシマブはKRAS 変異型大腸腫瘍の増殖を阻害する



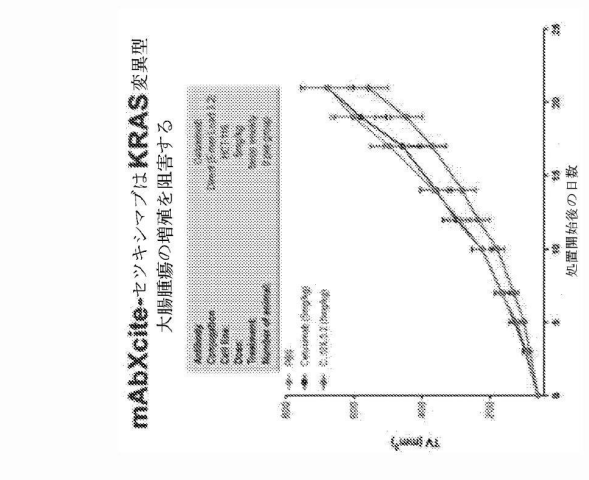
30

40

50

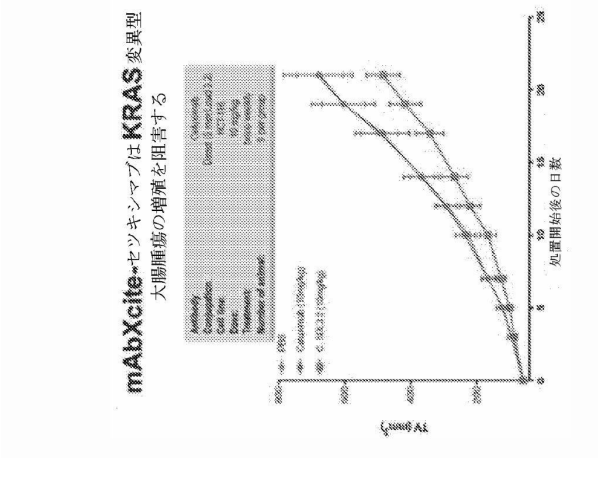
【図 5 9】

【図 5 9】



【図 6 0】

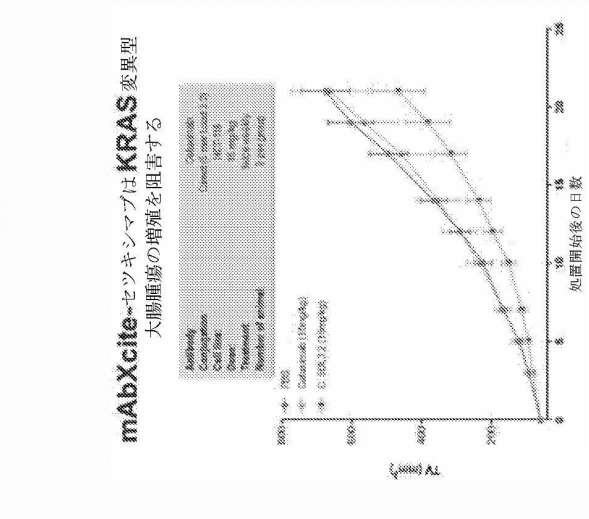
【図 6 0】



10

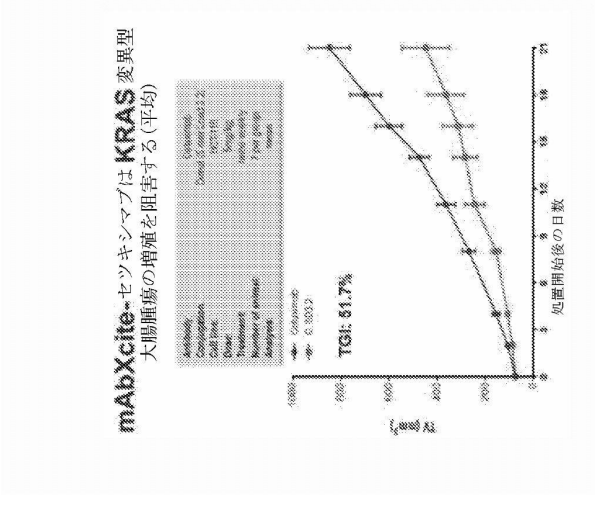
【図 6 1】

【図 6 1】



【図 6 2】

【図 6 2】



20

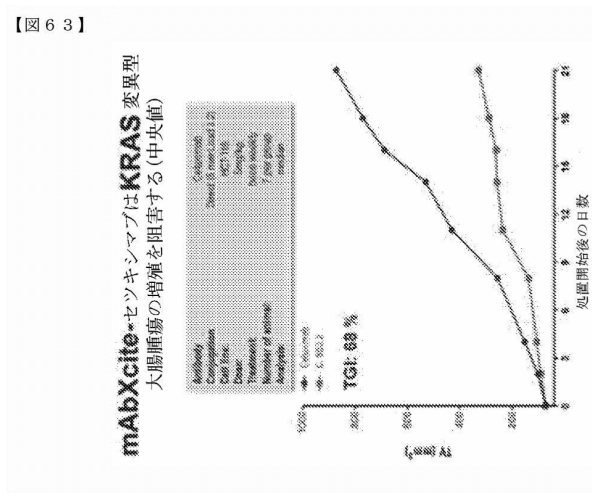
30

40

50

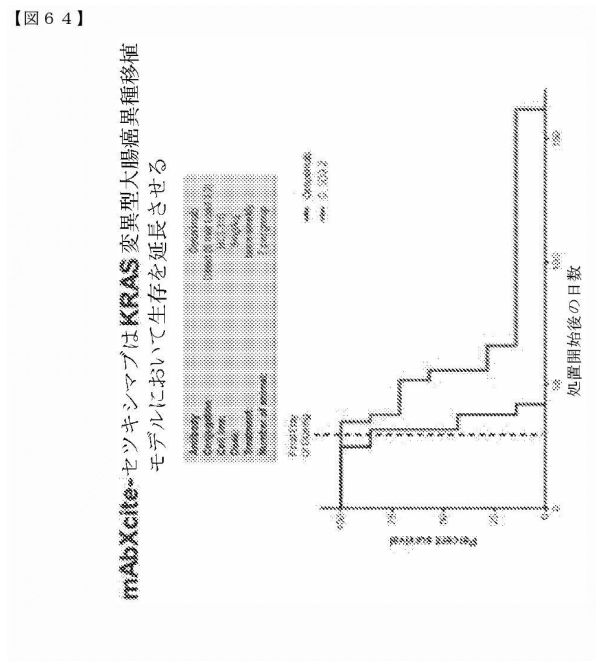
【図 6 3】

【図 6 3】



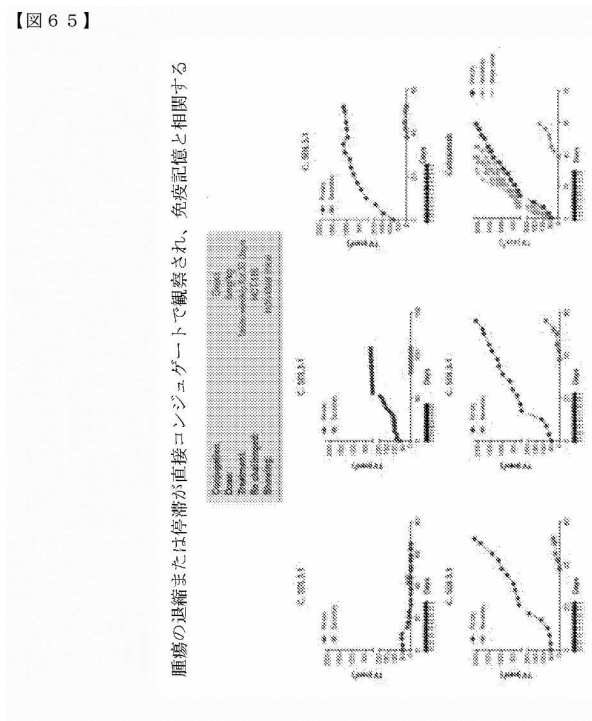
【図 6 4】

【図 6 4】



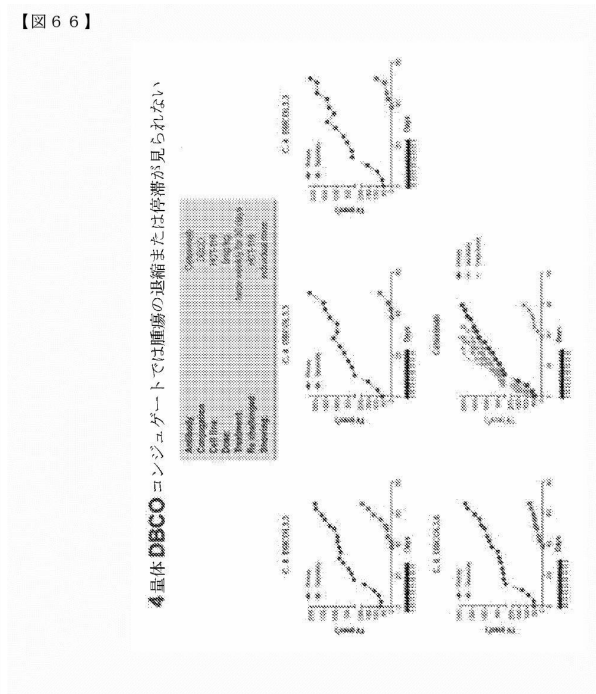
【図 6 5】

【図 6 5】



【図 6 6】

【図 6 6】



10

20

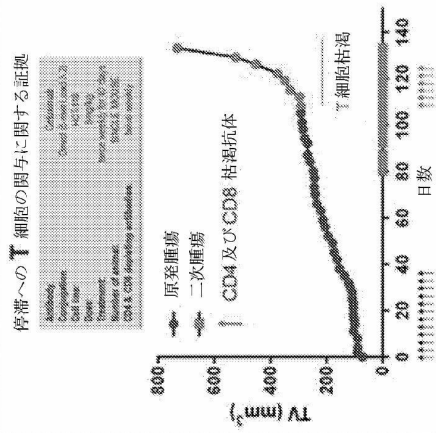
30

40

50

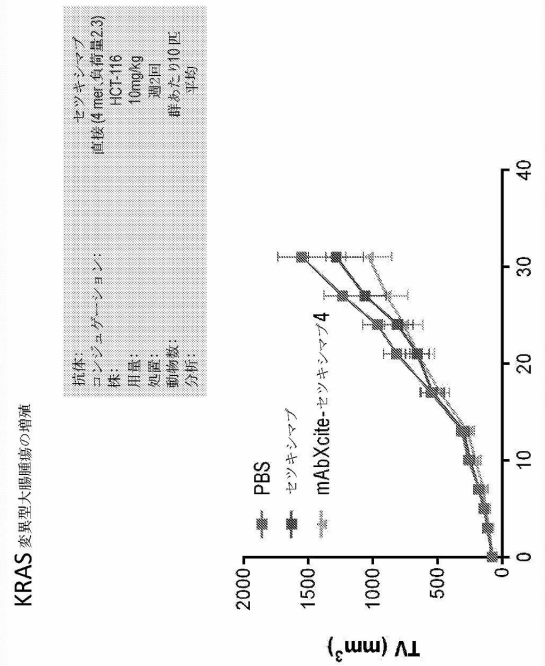
【図 6 7】

【図 6 7】



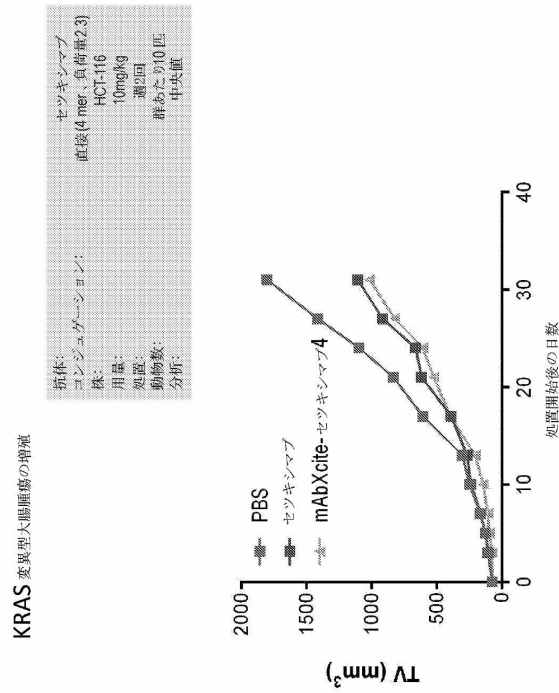
【図 6 8】

【図 6 8】



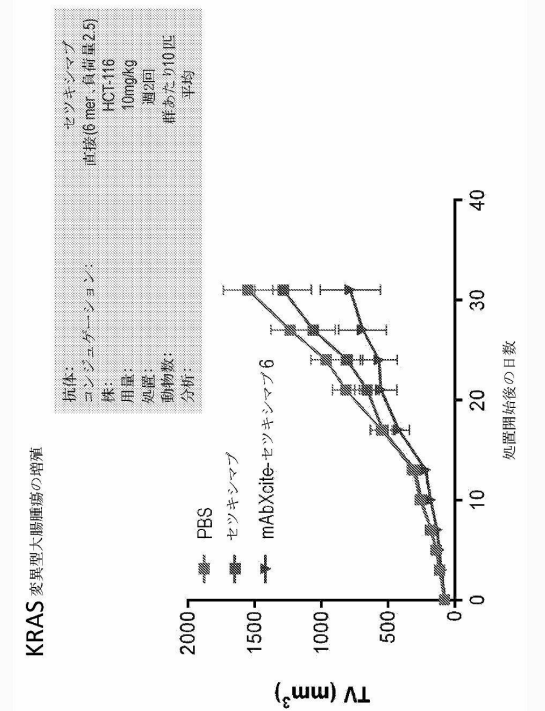
【図 6 9】

【図 6 9】



【図 7 0】

【図 7 0】



10

20

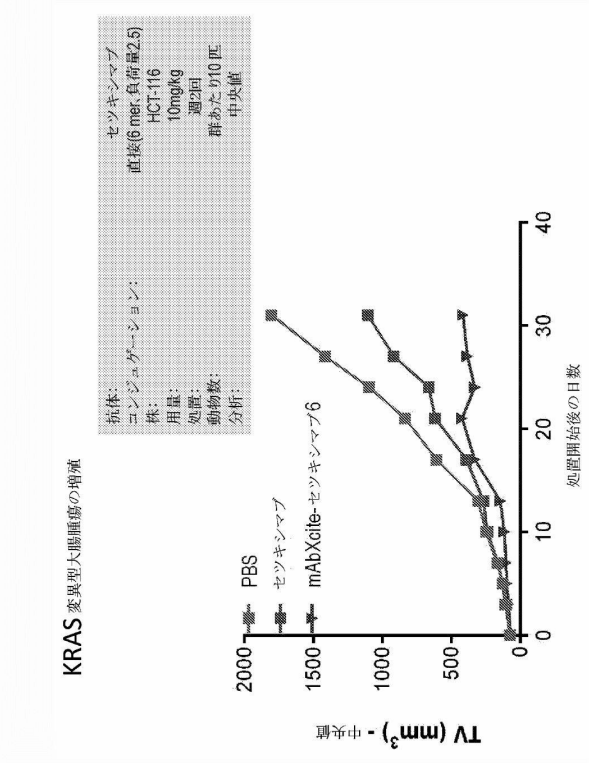
30

40

50

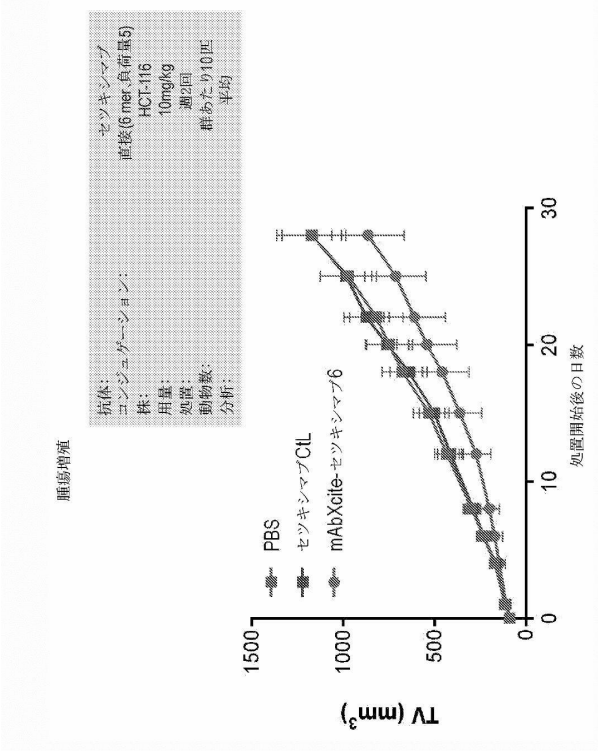
【図 7 1】

【図 7 1】



【図 7 2】

【図 7 2】

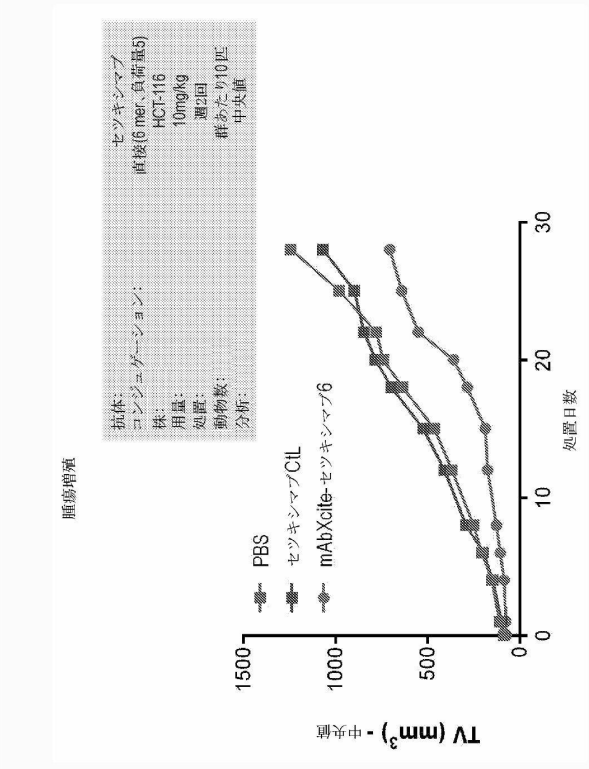


10

20

【図 7 3】

【図 7 3】



30

40

50

## フロントページの続き

- アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02139, ケンブリッジ, ノーフォーク ストリート 253, ユニット 3 - 5
- (72)発明者 シェドレツキ, ジェイムズ マイケル  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01803, バーリントン, ドナルド ロード 17
- (72)発明者 ドスタロバ, ズザーナ  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02141, ケンブリッジ, ソーンダイク ストリート 126, ナンバー 1
- (72)発明者 サンサル - カステリャーノ, イザベル  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02130, ジャマイカ プレイン, オークデール ストリート 6
- (72)発明者 ルビン - ベイエラノ, イファト  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02459, ニュートン, エバレット ストリート 16
- (72)発明者 ミアオ, フア  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02461, ニュートン, セルウィン ロード 120
- (72)発明者 ファーフィン, エリック スティーブン  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02451, ウォルサム, 2エヌディー アベニュー 266, スイート シー, イミューンエクサイト, インコーポレイテッド 気付
- 審査官 池上 文緒
- (56)参考文献 国際公開第2016/118654 (WO, A1)  
特表2011-519049 (JP, A)  
国際公開第2016/196682 (WO, A1)  
J. Immunother. Cancer (2014) vol.2, suppl.3, P262  
J. Immunother. Cancer (2015) vol.3, suppl.2, P414  
Cancer Res. (2015) vol.75, no.15, suppl.1, Abstract 4297, [https://cancerres.aacrjournals.org/content/75/15\\_Supplement/4297](https://cancerres.aacrjournals.org/content/75/15_Supplement/4297)
- (58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)  
A61K 39/395  
A61K 47/61  
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)  
CPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)