

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)公表特許公報(A)

(11)公表番号  
特表2022-532868  
(P2022-532868A)

(43)公表日 令和4年7月20日(2022.7.20)

(51)国際特許分類		F I	テーマコード(参考)	
C 12 N	15/13 (2006.01)	C 12 N	15/13	4 B 0 6 4
C 07 K	16/28 (2006.01)	C 07 K	16/28	Z N A 4 B 0 6 5
C 07 K	16/46 (2006.01)	C 07 K	16/46	4 C 0 7 6
C 12 N	15/63 (2006.01)	C 12 N	15/63	Z 4 C 0 8 4
C 12 P	21/08 (2006.01)	C 12 P	21/08	4 C 0 8 5

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全55頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2021-564745(P2021-564745)	(71)出願人	514199744 インヒブルクス インコーポレイテッド アメリカ合衆国 92037 カリフォルニア ラ ホーヤ ノース トーリー パインズ ロード 11025 スイート 200
(86)(22)出願日	令和2年5月1日(2020.5.1)	(74)代理人	110000796 特許業務法人三枝国際特許事務所
(85)翻訳文提出日	令和3年12月10日(2021.12.10)	(72)発明者	マセド チェルシー アメリカ合衆国 92037 カリフォルニア ラ ホーヤ ノース トーリー パインズ ロード 11025 スイート 200
(86)国際出願番号	PCT/US2020/030968		シーノー インヒブルクス インコーポレイテッド
(87)国際公開番号	WO2020/227071		ジョーンズ カイル アメリカ合衆国 92037 カリフォルニア ラ ホーヤ ノース トーリー パインズ ロード 11025 スイート 200
(87)国際公開日	令和2年11月12日(2020.11.12)		最終頁に続く
(31)優先権主張番号	62/843,407		
(32)優先日	令和1年5月4日(2019.5.4)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA, ,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA( AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 CD 1 2 3 結合性ポリペプチド及びその使用

## (57)【要約】

本明細書において、CD 1 2 3 に結合するVHH含有ポリペプチドが提供される。VHH含有ポリペプチドの使用も提供される。

【選択図】図 3 A

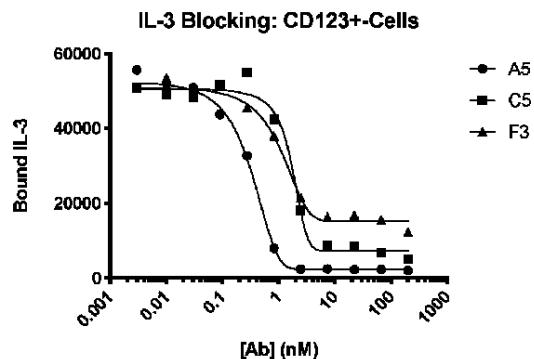


FIG. 3A

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

配列番号 3 3、配列番号 4 2、配列番号 3、配列番号 7、配列番号 1 1、配列番号 1 5、配列番号 1 9、配列番号 2 3、配列番号 3 6、配列番号 3 9、配列番号 4 5、配列番号 4 8、配列番号 5 1、又は配列番号 9 3 のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 3 4、配列番号 4 3、配列番号 4、配列番号 8、配列番号 1 2、配列番号 1 6、配列番号 2 0、配列番号 2 4、配列番号 3 7、配列番号 4 0、配列番号 4 6、配列番号 4 9、配列番号 5 2、又は配列番号 9 4 のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 3 5、配列番号 4 4、配列番号 5、配列番号 9、配列番号 1 3、配列番号 1 7、配列番号 2 1、配列番号 2 5、配列番号 3 8、配列番号 4 1、配列番号 4 7、配列番号 5 0、配列番号 5 3、又は配列番号 9 5 のアミノ酸配列を含む C D R 3 とを含む、C D 1 2 3 に結合する少なくとも 1 つの V H H ドメインを含むポリペプチド。  
10

**【請求項 2】**

少なくとも 1 つの V H H ドメインは、配列番号 3 3 又は配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 3 4 又は配列番号 4 のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 3 5 又は配列番号 5 のアミノ酸配列を含む C D R 3 とを含む、請求項 1 に記載のポリペプチド。

**【請求項 3】**

少なくとも 1 つの V H H ドメインは、配列番号 4 2、配列番号 1 9、又は配列番号 4 5 のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 4 3、配列番号 2 0、又は配列番号 4 6 のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 4 4、配列番号 2 1、又は配列番号 4 7 のアミノ酸配列を含む C D R 3 とを含む、請求項 1 又は 2 に記載のポリペプチド。  
20

**【請求項 4】**

少なくとも 1 つの V H H ドメインは、配列番号 7 又は配列番号 3 6 のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 8 又は配列番号 3 7 のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 9 又は配列番号 3 8 のアミノ酸配列を含む C D R 3 とを含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

**【請求項 5】**

少なくとも 1 つの V H H ドメインは、配列番号 1 5 又は配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 1 6 又は配列番号 4 0 のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 1 7 又は配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含む C D R 3 とを含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載のポリペプチド。  
30

**【請求項 6】**

少なくとも 1 つの V H H ドメインは、配列番号 2 3、配列番号 4 8、配列番号 5 1、又は配列番号 9 3 のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 2 4、配列番号 4 9、配列番号 5 2、又は配列番号 9 4 のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 2 5、配列番号 5 0、配列番号 5 3、又は配列番号 9 5 のアミノ酸配列を含む C D R 3 とを含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

**【請求項 7】**

少なくとも 1 つの V H H ドメインは、それぞれ配列番号 3 3、配列番号 3 4、及び配列番号 3 5；配列番号 4 2、配列番号 4 3、及び配列番号 4 4；配列番号 3、配列番号 4、及び配列番号 5；配列番号 7、配列番号 8、及び配列番号 9；配列番号 1 1、配列番号 1 2、及び配列番号 1 3；配列番号 1 5、配列番号 1 6、及び配列番号 1 7；配列番号 1 9、配列番号 2 0、及び配列番号 2 1；配列番号 2 3、配列番号 2 4、及び配列番号 2 5；配列番号 3 6、配列番号 3 7、及び配列番号 3 8；配列番号 3 9、配列番号 4 0、及び配列番号 4 1；配列番号 4 5、配列番号 4 6、及び配列番号 4 7；配列番号 4 8、配列番号 4 9、及び配列番号 5 0；配列番号 5 1、配列番号 5 2、及び配列番号 5 3；又は配列番号 9 3、配列番号 9 4、及び配列番号 9 5 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド。  
40

**【請求項 8】**

10

20

30

40

50

少なくとも1つのVHHドメインは、ヒト化されている、請求項1～7のいずれか一項に記載のポリペプチド。

**【請求項9】**

少なくとも1つのVHHドメインは、配列番号32、配列番号29、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号30、配列番号31、又は配列番号92のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、請求項1～8のいずれか一項に記載のポリペプチド。

**【請求項10】**

少なくとも1つのVHHドメインは、配列番号32、配列番号29、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号30、配列番号31、又は配列番号92のアミノ酸配列を含む、請求項1～8のいずれか一項に記載のポリペプチド。 10

**【請求項11】**

少なくとも1つのVHHドメインは、配列番号2、配列番号6、配列番号10、配列番号14、配列番号18、又は配列番号22のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、請求項1～7のいずれか一項に記載のポリペプチド。

**【請求項12】**

少なくとも1つのVHHドメインは、配列番号2、配列番号6、配列番号10、配列番号14、配列番号18、又は配列番号22のアミノ酸配列を含む、請求項1～7のいずれか一項に記載のポリペプチド。 20

**【請求項13】**

2つのVHHドメインを含む、請求項1～12のいずれか一項に記載のポリペプチド。

**【請求項14】**

3つのVHHドメインを含む、請求項1～12のいずれか一項に記載のポリペプチド。

**【請求項15】**

前記ポリペプチドは、CD123以外の抗原に結合する少なくとも1つの結合ドメインを含む、請求項1～14のいずれか一項に記載のポリペプチド。

**【請求項16】**

前記ポリペプチドは、CD3、T細胞受容体(TCR)、TCR、CD28、CD16、CD32A、CD64、CD89、NKp46、又はNKG2Dに結合する少なくとも1つの結合ドメインを含む、請求項15に記載のポリペプチド。 30

**【請求項17】**

各VHHドメインは、CD123に結合する、請求項13又は14に記載のポリペプチド。

**【請求項18】**

各VHHドメインは、同じCDR1、CDR2、及びCDR3のアミノ酸配列を含む、請求項17に記載のポリペプチド。

**【請求項19】**

各VHHドメインは、同じVHH配列を含む、請求項17に記載のポリペプチド。

**【請求項20】**

1つのVHHドメインを含む、請求項1～12のいずれか一項に記載のポリペプチド。 40

**【請求項21】**

前記ポリペプチドは、Fc領域を含む、請求項1～20のいずれか一項に記載のポリペプチド。

**【請求項22】**

前記Fc領域は、配列番号54～配列番号89から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項21に記載のポリペプチド。

**【請求項23】**

生物学的条件下で二量体を形成する、請求項21又は22に記載のポリペプチド。

**【請求項24】**

前記 C D 1 2 3 は、ヒト C D 1 2 3 である、請求項 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 2 5】

前記ヒト C D 1 2 3 は、配列番号 1 の配列を含む、請求項 2 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 2 6】

前記ポリペプチドは、I L - 3 への C D 1 2 3 の結合を遮断する、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 2 7】

請求項 1 ~ 2 6 のいずれか一項に記載のポリペプチドと、細胞傷害性作用物質とを含む免疫複合体。

10

【請求項 2 8】

前記細胞傷害性作用物質は、カリケアマイシン、アウリストチン、ドラスタチン、チューブリシン、メイタンシノイド、クリプトフィシン、デュオカルマイシン、エスペラマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、及びエンジイン抗生物質から選択される、請求項 2 7 に記載の免疫複合体。

【請求項 2 9】

請求項 1 ~ 2 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド又は請求項 2 7 若しくは 2 8 に記載の免疫複合体と、薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物。

【請求項 3 0】

請求項 1 ~ 2 6 のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする単離された核酸。

20

【請求項 3 1】

請求項 3 0 に記載の核酸を含むベクター。

【請求項 3 2】

請求項 3 0 に記載の核酸又は請求項 3 1 に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 3 3】

請求項 1 ~ 2 6 のいずれか一項に記載のポリペプチドを発現する宿主細胞。

【請求項 3 4】

請求項 1 ~ 2 6 のいずれか一項に記載のポリペプチドを生産する方法であって、前記ポリペプチドの発現に適した条件下で請求項 3 2 又は 3 3 に記載の宿主細胞をインキュベートすることを含む、方法。

30

【請求項 3 5】

前記ポリペプチドを単離することを更に含む、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

癌を治療する方法であって、癌を伴う被験体に請求項 1 ~ 2 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 2 7 若しくは 2 8 に記載の免疫複合体、又は請求項 2 9 に記載の医薬組成物を薬学的有効量、投与することを含む、方法。

【請求項 3 7】

前記癌は、リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B 細胞リンパ腫、低悪性度 / 濾胞性非ホジキンリンパ腫 (NHL) 、小リンパ球 (SL) NHL 、中悪性度 / 濾胞性 NHL 、中悪性度びまん性 NHL 、高悪性度免疫芽球性 NHL 、高悪性度リンパ芽球性 NHL 、高悪性度小型非分割細胞 NHL 、巨大病変 NHL 、マントル細胞リンパ腫、A I D S 関連リンパ腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、慢性リンパ球性白血病 (CLL) 、急性リンパ芽球性白血病 (ALL) 、急性骨髓性白血病 (AML) 、有毛細胞白血病、及び慢性骨髓芽球性白血病から選択される、請求項 3 6 に記載の方法。

40

【請求項 3 8】

前記癌は、急性骨髓性白血病 (AML) である、請求項 3 6 又は 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

追加の療法剤を投与することを更に含む、請求項 3 6 ~ 3 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 0】

50

前記追加の療法剤は、抗癌剤である、請求項 3 9 に記載の方法。

**【請求項 4 1】**

前記抗癌剤は、化学療法剤、抗癌生物製剤、放射線療法、C A R - T 療法薬、及び腫瘍溶解性ウイルスから選択される、請求項 4 0 に記載の方法。

**【請求項 4 2】**

前記癌は、C D 1 2 3 を発現する癌である、請求項 3 6 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の方法。

**【発明の詳細な説明】**

**【技術分野】**

**【0 0 0 1】**

[ 関連出願の相互参照 ]

本願は、2019年5月4日付で出願された米国仮出願第62/843,407号の優先権の利益を主張し、その全体があらゆる目的で引用することにより本明細書の一部をなす。

**【0 0 0 2】**

本発明は、C D 1 2 3 結合性ポリペプチド、及びC D 1 2 3 結合性ポリペプチドを使用してC D 1 2 3 の生物学的活性を調節する方法に関する。そのような方法には、限定されるものではないが、癌を治療する方法が含まれる。

**【背景技術】**

**【0 0 0 3】**

C D 1 2 3 、すなわちインターロイキン 3 受容体 鎮 ( I L - 3 R ) は、白血病幹細胞マーカーとして特定されており、A M L 芽球においてしばしば上方調節されるのに対して、正常な造血幹細胞においては、その発現は低い又は存在しない。C D 1 2 3 は、造血細胞の増殖、分化、及び生存における役割を担い得る。予後不良、高い芽球数、及びアポトーシス細胞死に対する耐性は、白血病等の血液癌におけるC D 1 2 3 の高発現と関連している。したがって、C D 1 2 3 を発現する癌についてのより強力な処置が治療上必要とされている。

**【発明の概要】**

**【発明が解決しようとする課題】**

**【0 0 0 4】**

本明細書において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチド、及びC D 1 2 3 結合性ポリペプチドを使用して、例えば白血病を治療する方法が提供される。幾つかの実施の形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、少なくとも 1 つのV H H ドメインを含む。幾つかの実施の形態を以下に示す。

**【課題を解決するための手段】**

**【0 0 0 5】**

実施の形態 1 . 配列番号 3 3 、配列番号 4 2 、配列番号 3 、配列番号 7 、配列番号 1 1 、配列番号 1 5 、配列番号 1 9 、配列番号 2 3 、配列番号 3 6 、配列番号 3 9 、配列番号 4 5 、配列番号 4 8 、配列番号 5 1 、又は配列番号 9 3 のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 3 4 、配列番号 4 3 、配列番号 4 、配列番号 8 、配列番号 1 2 、配列番号 1 6 、配列番号 2 0 、配列番号 2 4 、配列番号 3 7 、配列番号 4 0 、配列番号 4 6 、配列番号 4 9 、配列番号 5 2 、又は配列番号 9 4 のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 3 5 、配列番号 4 4 、配列番号 5 、配列番号 9 、配列番号 1 3 、配列番号 1 7 、配列番号 2 1 、配列番号 2 5 、配列番号 3 8 、配列番号 4 1 、配列番号 4 7 、配列番号 5 0 、配列番号 5 3 、又は配列番号 9 5 のアミノ酸配列を含む C D R 3 とを含む、C D 1 2 3 に結合する少なくとも 1 つのV H H ドメインを含むポリペプチド。

実施の形態 2 . 少なくとも 1 つのV H H ドメインは、配列番号 3 3 又は配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 3 4 又は配列番号 4 のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 3 5 又は配列番号 5 のアミノ酸配列を含む C D R 3 とを含む、実施の形態 1 のポリペプチド。

10

20

30

40

50

実施の形態 3 . 少なくとも 1 つの VHH ドメインは、配列番号 42 、配列番号 19 、又は配列番号 45 のアミノ酸配列を含む CDR1 と、配列番号 43 、配列番号 20 、又は配列番号 46 のアミノ酸配列を含む CDR2 と、配列番号 44 、配列番号 21 、又は配列番号 47 のアミノ酸配列を含む CDR3 とを含む、実施の形態 1 又は実施の形態 2 のポリペプチド。

実施の形態 4 . 少なくとも 1 つの VHH ドメインは、配列番号 7 又は配列番号 36 のアミノ酸配列を含む CDR1 と、配列番号 8 又は配列番号 37 のアミノ酸配列を含む CDR2 と、配列番号 9 又は配列番号 38 のアミノ酸配列を含む CDR3 とを含む、実施の形態 1 ~ 3 のいずれか 1 つのポリペプチド。

実施の形態 5 . 少なくとも 1 つの VHH ドメインは、配列番号 15 又は配列番号 39 のアミノ酸配列を含む CDR1 と、配列番号 16 又は配列番号 40 のアミノ酸配列を含む CDR2 と、配列番号 17 又は配列番号 41 のアミノ酸配列を含む CDR3 とを含む、実施の形態 1 ~ 4 のいずれか 1 つのポリペプチド。 10

実施の形態 6 . 少なくとも 1 つの VHH ドメインは、配列番号 23 、配列番号 48 、配列番号 51 、又は配列番号 93 のアミノ酸配列を含む CDR1 と、配列番号 24 、配列番号 49 、配列番号 52 、又は配列番号 94 のアミノ酸配列を含む CDR2 と、配列番号 25 、配列番号 50 、配列番号 53 、又は配列番号 95 のアミノ酸配列を含む CDR3 とを含む、実施の形態 1 ~ 5 のいずれか 1 つのポリペプチド。

実施の形態 7 . 少なくとも 1 つの VHH ドメインは、それぞれ配列番号 33 、配列番号 34 、及び配列番号 35 ; 配列番号 42 、配列番号 43 、及び配列番号 44 ; 配列番号 3 、配列番号 4 、及び配列番号 5 ; 配列番号 7 、配列番号 8 、及び配列番号 9 ; 配列番号 1 、配列番号 12 、及び配列番号 13 ; 配列番号 15 、配列番号 16 、及び配列番号 17 ; 配列番号 19 、配列番号 20 、及び配列番号 21 ; 配列番号 23 、配列番号 24 、及び配列番号 25 ; 配列番号 36 、配列番号 37 、及び配列番号 38 ; 配列番号 39 、配列番号 40 、及び配列番号 41 ; 配列番号 45 、配列番号 46 、及び配列番号 47 ; 配列番号 48 、配列番号 49 、及び配列番号 50 ; 配列番号 51 、配列番号 52 、及び配列番号 53 ; 又は配列番号 93 、配列番号 94 、及び配列番号 95 のアミノ酸配列を含む CDR1 、 CDR2 、及び CDR3 を含む、実施の形態 1 ~ 6 のいずれか 1 つのポリペプチド。 20

実施の形態 8 . 少なくとも 1 つの VHH ドメインは、ヒト化されている、実施の形態 1 ~ 7 のいずれか 1 つのポリペプチド。 30

実施の形態 9 . 少なくとも 1 つの VHH ドメインは、配列番号 32 、配列番号 26 、配列番号 27 、配列番号 28 、配列番号 29 、配列番号 30 、配列番号 31 、又は配列番号 92 のアミノ酸配列と少なくとも 85 % 、少なくとも 90 % 、少なくとも 95 % 、又は少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施の形態 1 ~ 8 のいずれか 1 つのポリペプチド。

実施の形態 10 . 少なくとも 1 つの VHH ドメインは、配列番号 32 、配列番号 26 、配列番号 27 、配列番号 28 、配列番号 29 、配列番号 30 、配列番号 31 、又は配列番号 92 のアミノ酸配列を含む、実施の形態 1 ~ 8 のいずれか 1 つのポリペプチド。

実施の形態 11 . 少なくとも 1 つの VHH ドメインは、配列番号 2 、配列番号 6 、配列番号 10 、配列番号 14 、配列番号 18 、又は配列番号 22 のアミノ酸配列と少なくとも 85 % 、少なくとも 90 % 、少なくとも 95 % 、又は少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施の形態 1 ~ 7 のいずれか 1 つのポリペプチド。 40

実施の形態 12 . 少なくとも 1 つの VHH ドメインは、配列番号 2 、配列番号 6 、配列番号 10 、配列番号 14 、配列番号 18 、又は配列番号 22 のアミノ酸配列を含む、実施の形態 1 ~ 7 のいずれか 1 つのポリペプチド。

実施の形態 13 . 2 つの VHH ドメインを含む、実施の形態 1 ~ 12 のいずれか 1 つのポリペプチド。

実施の形態 14 . 3 つの VHH ドメインを含む、実施の形態 1 ~ 12 のいずれか 1 つのポリペプチド。

実施の形態 15 . ポリペプチドは、CD123 以外の抗原に結合する少なくとも 1 つの 50

結合ドメインを含む、実施の形態 1 ~ 14 のいずれか 1 つのポリペプチド。

実施の形態 16 . ポリペプチドは、CD3、T細胞受容体(TCR)、TCR、CD28、CD16、CD32A、CD64、CD89、NKP46、又はNKG2Dに結合する少なくとも 1 つの結合ドメインを含む、実施の形態 15 のポリペプチド。

実施の形態 17 . 各VHHドメインは、CD123に結合する、実施の形態 13 又は 14 のポリペプチド。

実施の形態 18 . 各VHHドメインは、同じCDR1、CDR2、及びCDR3のアミノ酸配列を含む、実施の形態 17 のポリペプチド。

実施の形態 19 . 各VHHドメインは、同じVHH配列を含む、実施の形態 17 のポリペプチド。

実施の形態 20 . 1 つのVHHドメインを含む、実施の形態 1 ~ 12 のいずれか 1 つのポリペプチド。

実施の形態 21 . ポリペプチドは、Fc領域を含む、実施の形態 1 ~ 20 のいずれか 1 つのポリペプチド。

実施の形態 22 . Fc領域は、配列番号 54 ~ 配列番号 89 から選択されるアミノ酸配列を含む、実施の形態 21 のポリペプチド。

実施の形態 23 . 生理学的条件下で二量体を形成する、実施の形態 21 又は実施の形態 22 のポリペプチド。

実施の形態 24 . CD123は、ヒトCD123である、実施の形態 1 ~ 23 のいずれか 1 つのポリペプチド。

実施の形態 25 . ヒトCD123は、配列番号 1 の配列を含む、実施の形態 24 のポリペプチド。

実施の形態 26 . ポリペプチドは、IL-3へのCD123の結合を遮断する、上述の実施の形態のいずれか 1 つのポリペプチド。

実施の形態 27 . 実施の形態 1 ~ 26 のいずれか 1 つのポリペプチドと、細胞傷害性作用物質とを含む免疫複合体。

実施の形態 28 . 細胞傷害性作用物質は、カリケアマイシン、アウリスタチン、ドラステチン、チューブリシン、メイタンシノイド、クリプトフィシン、デュオカルマイシン、エスペラマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、及びエンジイン抗生物質から選択される、実施の形態 31 の免疫複合体。

実施の形態 29 . 実施の形態 1 ~ 26 のいずれか 1 つのポリペプチド又は実施の形態 27 若しくは実施の形態 28 の免疫複合体と、薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物。

実施の形態 30 . 実施の形態 1 ~ 26 のいずれか 1 つのポリペプチドをコードする単離された核酸。

実施の形態 31 . 実施の形態 30 の核酸を含むベクター。

実施の形態 32 . 実施の形態 30 の核酸又は実施の形態 31 のベクターを含む宿主細胞。

実施の形態 33 . 実施の形態 1 ~ 26 のいずれか 1 つのポリペプチドを発現する宿主細胞。

実施の形態 34 . 実施の形態 1 ~ 26 のいずれか 1 つのポリペプチドを生産する方法であって、ポリペプチドの発現に適した条件下で実施の形態 32 又は実施の形態 33 の宿主細胞をインキュベートすることを含む、方法。

実施の形態 35 . ポリペプチドを単離することを更に含む、実施の形態 34 の方法。

実施の形態 36 . 癌を治療する方法であって、癌を伴う被験体に実施の形態 1 ~ 26 のいずれか 1 つのポリペプチド、実施の形態 27 若しくは実施の形態 28 の免疫複合体、又は実施の形態 30 の医薬組成物を薬学的有効量、投与することを含む、方法。

実施の形態 37 . 癌は、リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B細胞リンパ腫、低悪性度 / 濾胞性非ホジキンリンパ腫(NHL)、小リンパ球(SL)NHL、中悪性度 / 濾胞性NHL、中悪性度びまん性NHL、高悪性度免疫芽球性NHL、高悪性度リンパ芽球性NHL、高悪性度小型非分割細胞NHL、巨大病変NHL、マントル細胞

10

20

30

40

50

リンパ腫、AIDS関連リンパ腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、急性骨髓性白血病（AML）、有毛細胞白血病、及び慢性骨髓芽球性白血病から選択される、実施の形態36の方法。

実施の形態38。癌は、急性骨髓性白血病（AML）である、実施の形態36又は37の方法。

実施の形態39。追加の療法剤を投与することを更に含む、実施の形態36～38のいずれか1つの方法。

実施の形態40。追加の療法剤は、抗癌剤である、実施の形態39の方法。

実施の形態41。抗癌剤は、化学療法剤、抗癌生物製剤、放射線療法、CAR-T療法薬、及び腫瘍溶解性ウイルスから選択される、実施の形態40の方法。  
10

実施の形態42。癌は、CD123を発現する癌である、実施の形態36～41のいずれか1つの方法。

#### 【図面の簡単な説明】

##### 【0006】

【図1A-1C】CD123に結合するVHHドメインを含むポリペプチドについてのバイオレイヤー干渉測定データを示す図である。図1Aは、本明細書に記載される他のCD123結合性s dAbと比較したhzA5v2についてのバイオレイヤー干渉測定データを示す。図1Bは、本明細書に記載される他のCD123結合性s dAbと比較したhzF3v22についてのバイオレイヤー干渉測定データを示す。図1Cは、hz4F2v3と比較したhz1B11v28についてのバイオレイヤー干渉測定データを示す。  
20

【図2A-2N】HEK293細胞又はMolm-13細胞上に発現されたCD123に対する或る特定のシングルドメイン抗体（s dAb）の結合を示す図である。「CD123-F<sub>L</sub>」は、実施例2に記載されるように、完全長CD123をコードするプラスミドでトランスフェクションされたHEK293細胞を示す。「HEK293」又は「親HEK293」は、トランスフェクションされていないHEK293細胞を示す。図2Aは、CD123へのA5-IgG1の結合を示す。図2Bは、CD123へのhzA5v2-IgG1の結合を示す。図2Cは、CD123へのF3-IgG1の結合を示す。図2Dは、CD123へのhzF3v22-IgG1の結合を示す。図2Eは、CD123へのhzF3v26-IgG1の結合を示す。図2Fは、CD123への1F5-IgG1の結合を示す。図2Gは、CD123へのhz1F5v1-IgG1の結合を示す。図2Hは、CD123への1B11-IgG1の結合を示す。図2Iは、CD123へのhz1B11v28-IgG1の結合を示す。図2Jは、CD123への4F2-IgG1の結合を示す。図2Kは、CD123へのhz4F2v3-IgG1の結合を示す。図2Lは、CD123へのC5-IgG1の結合を示す。図2Mは、CD123へのhz1F5v2-IgG1の結合を示す。図2Nは、CD123へのhz1F5v6-IgG1の結合を示す。  
30

【図3A-3B】A5、C5、及びF3のs dAb（3A）、並びにhz1F5v1のs dAb（3B）によるIL-3へのCD123結合の阻害を示す図である。

##### 【発明を実施するための形態】

##### 【0007】

本明細書に示される実施形態は、CD123結合性ポリペプチド、及び癌を治療する様々な方法におけるそれらの使用に関する。

##### 【0008】

#### 定義及び様々な実施形態

本明細書に使用されるセクションの見出しあは編成のみを目的とし、記載される主題を限定すると解釈されるものではない。

##### 【0009】

特許出願、特許公報、及びGenbankアクセション番号を含む本明細書で引用される全ての参考文献は、各個別の参考文献が、引用することによりその全体が本明細書の一  
50

部をなすと具体的かつ個別に示されているかのように、引用することにより本明細書の一部をなす。

#### 【0010】

本明細書に記載又は参照される技術及び手順は、一般に十分に理解されており、通常、例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3rd. edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY (F. M. Ausubel, et al. eds., (2003))、the series METHODS IN ENZYMOLOGY (Academic Press, Inc.)、PCR 2: A PRACTICAL APPROACH (M. J. MacPherson, B. D. Hames and G. R. Taylor eds. (1995))、Harlow and Lane, eds. (1988) ANTIBODIES, A LABORATORY MANUAL、及びANIMAL CELL CULTURE (R. I. Freshney, ed. (1987))、Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait, ed., 1984)、Methods in Molecular Biology, Humana Press、Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press、Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed., 1987)、Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press、Cell and Tissue Culture Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell eds., 1993-8) J. Wiley and Sons、Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.)、Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987)、PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994)、Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan et al. eds., 1991)、Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999)、Immunobiology (C. A. Janeway and P. Travers, 1997)、Antibodies (P. Finch, 1997)、Antibodies: A Practical Approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989)、Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000)、Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999)、The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995)、及びCancer: Principles and Practice of Oncology (V. T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993)並びにそれらの最新版に記載される広く利用されている方法論等の当業者による慣例的な方法論を用いて使用される。10  
20  
30

#### 【0011】

別段の規定がない限り、本開示に関連して使用される科学用語及び技術用語は、当業者によって一般に理解される意味を有するものとする。さらに、文脈により別段の要求がない限り、又は明白に特段の指示がない限り、単数名辞は複数を含み、複数名辞は単数を含むものとする。様々な出典又は参考文献の間での定義の矛盾については、本明細書に示される定義が優先される。

#### 【0012】

一般に、免疫グロブリン重鎖における残基の番号付けは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)でのような EU インデックスの番号付けである。「Kabatでのような EU インデックス」は、ヒト Ig G1 EU 抗体の残基番号付けを指す。40

#### 【0013】

本明細書に記載される本発明の実施形態は、「からなる (consisting)」実施形態及び / 又は「から本質的になる (consisting essentially of)」実施形態を含むと理解される。本明細書で使用される場合に、単数形 ("a", "an", and "the") は、特段の指示がない限り複数の参照を含む。本明細書での「又は」という用語の使用は、選択肢が互いに排他的であることを意味すると解釈されない。50

**【 0 0 1 4 】**

本出願では、「又は」の使用は、明白に特段の指定がない限り又は当業者によって理解されない限り、「及び／又は」を意味する。多項従属請求項の文脈では、「又は」の使用は、2項以上の先行する独立請求項又は従属請求項を引用する。

**【 0 0 1 5 】**

「参照試料」、「参照細胞」、又は「参照組織」という語句は、少なくとも1つの未知の特徴を有する試料との比較として使用され得る少なくとも1つの既知の特徴を有する試料を示す。幾つかの実施形態において、参照試料は、陽性又は陰性の指標として使用され得る。参照試料を使用することで、未知の特徴を有する試料中に存在するタンパク質及び／又はmRNAのレベルに対して、例えば、健康な組織中に存在するタンパク質及び／又はmRNAのレベルを確立することができる。幾つかの実施形態において、参照試料は、同じ被験体に由来するが、試験される部分とは異なる被験体の部分に由来する試料である。幾つかの実施形態において、参照試料は、癌を取り囲む又は癌に隣接する組織領域に由来する試料である。幾つかの実施形態において、参照試料は、試験される被験体に由来するものではなく、対象の障害（例えば、特定の癌又はCD123関連障害）を有する又は有しないことが既知の被験体に由来する試料である。幾つかの実施形態において、参照試料は、同じ被験体に由来するものであるが、被験体が癌を発症する前の時点での試料である。幾つかの実施形態において、参照試料は、同じ被験体又は異なる被験体からの良性癌試料に由来する試料である。比較のために陰性参照試料が使用される場合に、陰性参照試料における対象の分子の発現レベル又は量は、当業者が本開示を考慮して、該分子が存在しない及び／又は低いレベルの該分子が存在することを認識するレベルを示す。比較のために陽性参照試料が使用される場合に、陽性参照試料における対象の分子の発現レベル又は量は、当業者が本開示を考慮して、或るレベルの該分子が存在することを認識するレベルを示す。

10

20

30

40

**【 0 0 1 6 】**

療法剤の投与から恩恵を受ける又は療法剤の投与に応答するという文脈において本明細書で使用される「便益」、「臨床的便益」、「応答性」、及び「治療的応答性」という用語は、様々なエンドポイント、例えば、減速及び完全な停止を含む疾患進行の或る程度の抑止、疾患エピソード及び／又は症状の数の減少、病変サイズの縮小、隣接する末梢器官及び／又は末梢組織内への疾患細胞浸潤の抑止（すなわち、減少、減速、又は完全な停止）、病気蔓延の抑止（すなわち、減少、減速、又は完全な停止）、障害に関連する1つ以上の症状の或る程度の軽減、治療後の無病提示、例えば無増悪生存期間の長さの増加、全生存期間の延長、より高い奏効率、及び／又は治療後の所与の時点での死亡率の低下を評価することによって推し量ることができる。「非応答性」又は「応答しない」被験体又は癌は、「応答する」という上記の条件を満たさないものである。

**【 0 0 1 7 】**

「核酸分子」、「核酸」、及び「ポリヌクレオチド」という用語は、区別なく使用され、ヌクレオチドのポリマーを指し得る。そのようなヌクレオチドのポリマーは、天然及び／又は非天然のヌクレオチドを含み、限定されるものではないが、DNA、RNA、及びPNAを含み得る。「核酸配列」は、核酸分子又はポリヌクレオチドに含まれるヌクレオチドの線状配列を指す。

**【 0 0 1 8 】**

「ポリペプチド」及び「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指すために区別なく使用され、最小の長さに限定されない。そのようなアミノ酸残基のポリマーは、天然又は非天然のアミノ酸残基を含み、限定されるものではないが、ペプチド、オリゴペプチド、アミノ酸残基の二量体、三量体、及び多量体を含み得る。この定義には、完全長タンパク質及びその断片の両方が含まれる。これらの用語はまた、ポリペプチドの発現後修飾、例えば、グリコシル化、シアアル化、アセチル化、リン酸化等を含む。さらに、本開示の目的で、「ポリペプチド」は、タンパク質が所望の活性を維持する限り、天然配列に対する欠失、付加、及び置換等の修飾（一般に性質について保存的）を含むタンパク質

50

を指す。これらの修飾は、部位特異的変異誘発によるような意図的なものであり得る、又はタンパク質を産生する宿主の変異若しくはPCR増幅によるエラーによるような偶発的なものであり得る。

#### 【0019】

本明細書で使用される「CD123」は、細胞内でのCD123前駆体のプロセシングから生ずるあらゆる天然の成熟CD123を指す。この用語は、特段の指示がない限り、靈長類（例えば、ヒト及びカニクイザル又はアカゲザル）及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含むあらゆる脊椎動物起源からのCD123を含む。この用語はまた、スプライス変異体又はアレル変異体等のCD123の天然に存在する変異体を含む。非限定的な例示的な成熟ヒトCD123アミノ酸配列は、例えば、UniProtアクセション番号P26951-1に示されている。配列番号1を参照。10

#### 【0020】

抗原又はエピトープに「特異的に結合する」という用語は、当該技術分野で十分に理解されている用語であり、そのような特異的な結合を決定する方法も当該技術分野で十分に知られている。別の細胞又は物質と反応又は会合するよりも特定の細胞又は物質とより頻繁に、より迅速に、より長い持続時間及び/又はより高い親和性で反応又は会合する場合に、分子は「特異的な結合」又は「優先的な結合」を示すと言及される。シングルドメイン抗体(sdAb)又はVHH含有ポリペプチドは、他の物質に結合するよりも高い親和性、アビディティーで、より容易に、及び/又はより長い持続時間で結合する場合に、標的に「特異的に結合」又は「優先的に結合」する。例えば、CD123エピトープに特異的に又は優先的に結合するsdAb又はVHH含有ポリペプチドは、他のCD123エピトープ又は非CD123エピトープに結合するよりも高い親和性、アビディティーで、より容易に、及び/又はより長い持続時間でこのエピトープと結合するsdAb又はVHH含有ポリペプチドである。また、この定義を解釈することにより、例えば、第1の標的に特異的又は優先的に結合するsdAb又はVHH含有ポリペプチドが、第2の標的に特異的又は優先的に結合し得る又は結合し得ないことも理解される。したがって、「特異的な結合」又は「優先的な結合」は、排他的な結合を（含み得るもの）必ずしも必要としない。一般に、必ずしもそうとは限らないが、結合への言及は優先的な結合を意味する。「特異性」は、結合性タンパク質が抗原に選択的に結合する能力を指す。20

#### 【0021】

「抑止」又は「抑止する」という用語は、任意の表現型特徴の減少若しくは停止、又はその特徴の発生率、程度、若しくは可能性の減少若しくは停止を指す。「低減する」又は「抑止する」とは、参照と比較して、活性、機能、及び/又は量を減少させる、低減する、又は停止することである。幾つかの実施形態において、「低減する」又は「抑止する」とは、10%以上の全体的な減少を引き起こす能力を意味する。幾つかの実施形態において、「低減する」又は「抑止する」とは、50%以上の全体的な減少を引き起こす能力を意味する。幾つかの実施形態において、「低減する」又は「抑止する」とは、75%、85%、90%、95%以上の全体的な減少を引き起こす能力を意味する。幾つかの実施形態において、上記の量は、或る期間にわたって、同じ期間にわたるコントロールに対して抑止又は減少される。本明細書で使用される場合に、CD123の活性に関する「阻害する」という用語は、IL-3への結合等のCD123の活性の減少を指す。幾つかの実施形態において、「阻害する」とは、調節物質の不存在下でのCD123活性と比較したCD123活性の減少を指す。幾つかの実施形態において、本明細書に記載されるCD123結合性ポリペプチドは、IL-3へのCD123の結合を阻害する。3040

#### 【0022】

本明細書で使用される場合に、「エピトープ」という用語は、抗原結合分子（例えば、sdAb又はVHH含有ポリペプチド）が結合する標的分子（例えば、タンパク質、核酸、炭水化物、又は脂質等の抗原）上の部位を指す。エピトープは、しばしば、アミノ酸、ポリペプチド、又は糖側鎖等の分子の化学的に活性な表面編成物を含み、特定の3次元構造的特徴及び特定の電荷特徴を有する。エピトープは、標的分子の連続残基及び/又は並置

された非連続残基（例えば、アミノ酸、ヌクレオチド、糖、脂質部分）の両方から形成され得る。連続残基（例えば、アミノ酸、ヌクレオチド、糖、脂質部分）から形成されるエピトープは、通常、変性溶剤への曝露で保持されるが、三次フォールディングにより形成されるエピトープは、通常、変性溶剤による処理で失われる。エピトープは、限定されるものではないが、少なくとも3個、少なくとも5個、又は8個～10個の残基（例えば、アミノ酸又はヌクレオチド）を含み得る。幾つかの実施形態において、エピトープは、20残基（例えば、アミノ酸又はヌクレオチド）未満、15残基未満、又は12残基未満の長さである。2つの抗体は、それらが抗原に対して競合的結合を示す場合に、抗原内の同じエピトープに結合し得る。幾つかの実施形態において、エピトープは、抗原結合分子上のCDR残基との或る特定の最小距離によって特定され得る。幾つかの実施形態において、エピトープは、上記距離によって特定され得て、抗原結合分子の残基と抗原残基との間の結合（例えば、水素結合）に関与するこれらの残基に更に限定され得る。エピトープは、様々なスキャンによっても同様に特定され得る。例えば、アラニンスキャン又はアルギニンスキャンは、抗原結合分子が相互作用し得る1つ以上の残基を示すことができる。明示的に示されない限り、エピトープとしての残基のセットは、特定の抗原結合分子に対するエピトープの一部であることから他の残基を除外するものではない。むしろ、そのようなセットの存在は、最小のエピトープの列（又は種類のセット）を示す。したがって、幾つかの実施形態において、エピトープとして特定された残基のセットは、抗原上のエピトープについての残基の排他的リストではなく、抗原に関連する最小のエピトープを示す。

10

20

30

40

50

#### 【0023】

「非線状エピトープ」又は「立体構造エピトープ」は、エピトープに特異的な抗原結合分子が結合する抗原性タンパク質内の非連続的なポリペプチド、アミノ酸及び／又は糖を含む。幾つかの実施形態において、少なくとも1つの残基がエピトープの他の示された残基と非連続的であるが、1つ以上の残基が他の残基と連続的である場合もある。

#### 【0024】

「線状エピトープ」は、エピトープに特異的な抗原結合分子が結合する抗原性タンパク質内の連続的なポリペプチド、アミノ酸及び／又は糖を含む。幾つかの実施形態において、線状エピトープ内の残基の全てが、抗原結合分子によって直接的に結合される（又は結合に関与する）必要があるわけではないことに留意されたい。幾つかの実施形態において、線状エピトープは、事実上線状エピトープの配列からなるペプチドによる免疫化に由来し得る、又はタンパク質の残部から相対的に分離されたタンパク質の構造区間に由来し得る（こうして、抗原結合分子は、少なくとも主として、まさにその配列区間と相互作用し得る）。

#### 【0025】

「抗体」という用語は、最も広い意味で使用され、限定されるものではないが、慣例的な抗体（典型的には、少なくとも1つの重鎖及び少なくとも1つの軽鎖を含む）、シングルドメイン抗体（少なくとも1つのVHHドメイン及びFc領域を含むsdAb）、VHH含有ポリペプチド（少なくとも1つVHHドメインを含むポリペプチド）、及び所望の抗原結合活性を示す限り上述のいずれかのフラグメントを含む抗体様抗原結合ドメインを含む様々なポリペプチドを包含する。幾つかの実施形態において、抗体は二量体化ドメインを含む。そのような二量体化ドメインには、限定されるものではないが、重鎖定常ドメイン（CH1、ヒンジ、CH2、及びCH3を含み、CH1は典型的には、軽鎖定常ドメインCLと対をなす一方で、ヒンジは二量体化を介在する）及びFc領域（ヒンジ、CH2、及びCH3を含み、ヒンジは二量体化を介在する）が含まれる。

#### 【0026】

抗体という用語には、限定されるものではないが、キメラ抗体、ヒト化抗体、及びラクダ（ラマを含む）、サメ、マウス、ヒト、カニクイザル等の様々な種の抗体も含まれる。

#### 【0027】

本明細書で使用される「抗原結合ドメイン」という用語は、抗原に結合するのに十分な抗体の部分を指す。幾つかの実施形態において、慣例的な抗体の抗原結合ドメインは、3つ

の重鎖 C D R 及び 3 つの軽鎖 C D R を含む。したがって、幾つかの実施形態において、抗原結合ドメインは、 C D R 1 - F R 2 - C D R 2 - F R 3 - C D R 3 と、抗原への結合を維持するのに必要とされる F R 1 及び / 又は F R 4 の任意の部分とを含む重鎖可変領域、並びに C D R 1 - F R 2 - C D R 2 - F R 3 - C D R 3 と、抗原への結合を維持するのに必要とされる F R 1 及び / 又は F R 4 の任意の部分とを含む軽鎖可変領域を含む。幾つかの実施形態において、 s d A b 又は V H H 含有ポリペプチドの抗原結合ドメインは、 V H H ドメインの 3 つの C D R を含む。したがって、幾つかの実施形態において、 s d A b 又は V H H 含有ポリペプチドの抗原結合ドメインは、 C D R 1 - F R 2 - C D R 2 - F R 3 - C D R 3 と、抗原への結合を維持するのに必要とされる F R 1 及び / 又は F R 4 の任意の部分とを含む V H H ドメインを含む。

10

## 【 0 0 2 8 】

本明細書で使用される「 V H H 」又は「 V H H ドメイン」又は「 V H H 抗原結合ドメイン」という用語は、ラクダ抗体又はサメ抗体等のシングルドメイン抗体の抗原結合部分を指す。幾つかの実施形態において、 V H H は、 F R 1 、 C D R 1 、 F R 2 、 C D R 2 、 F R 3 、 C D R 3 、及び F R 4 と表される 3 つの C D R と 4 つのフレームワーク領域とを含む。幾つかの実施形態において、 V H H は、 V H H が実質的に抗原結合及び特異性を維持する限り、部分的な F R 1 及び / 又は F R 4 のみを含むように又はそれらのフレームワーク領域の一方若しくは両方を欠くように、 N 末端又は C 末端で切断されていてもよい。

20

## 【 0 0 2 9 】

「シングルドメイン抗体」及び「 s d A b 」という用語は、軽鎖を有しない V H H ドメイン等の少なくとも 1 つの単量体ドメイン及び F c 領域を含む抗体を指すために、本明細書において区別なく使用される。幾つかの実施形態において、 s d A b は、それぞれのポリペプチドが少なくとも 1 つの V H H ドメイン及び F c 領域を含む 2 つのポリペプチドの二量体である。本明細書で使用される場合に、「シングルドメイン抗体」及び「 s d A b 」という用語は、多重 V H H ドメインを含むポリペプチド、例えば、構造 V H H 1 - V H H 2 - F c 又は V H H 1 - V H H 2 - V H H 3 - F c を有し、ここで、 V H H 1 、 V H H 2 、及び V H H 3 が同一又は異なる場合があるポリペプチドを包含する。

20

## 【 0 0 3 0 】

「 V H H 含有ポリペプチド」という用語は、少なくとも 1 つの V H H ドメインを含むポリペプチドを指す。幾つかの実施形態において、 V H H ポリペプチドは、 2 つ、 3 つ、又は 4 つ以上の V H H ドメインを含み、ここで、各 V H H ドメインは、同じ又は異なっていてもよい。幾つかの実施形態において、 V H H 含有ポリペプチドは、 F c 領域を含む。幾つかのそのような実施形態において、 V H H 含有ポリペプチドは、 s d A b と称され得る。さらに、幾つかのそのような実施形態において、 V H H ポリペプチドは、二量体を形成し得る。 s d A b とも称される V H H 含有ポリペプチドの非限定的な構造には、 V H H 1 - F c 、 V H H 1 - V H H 2 - F c 、及び V H H 1 - V H H 2 - V H H 3 - F c が含まれ、ここで、 V H H 1 、 V H H 2 、及び V H H 3 は、同じ又は異なっていてもよい。そのような構造の幾つかの実施形態において、或る V H H は、リンカーによって別の V H H に連結され得る、又は或る V H H は、リンカーによって F c に連結され得る。幾つかのそのような実施形態において、リンカーは、 1 個 ~ 20 個のアミノ酸、好ましくは、主にグリシン及び任意にセリンから構成される 1 個 ~ 20 個のアミノ酸を含む。幾つかの実施形態において、 V H H 含有ポリペプチドが F c を含む場合に、それは二量体を形成する。したがって、構造 V H H 1 - V H H 2 - F c は、それが二量体を形成する場合に、四価であるとみなされる（すなわち、二量体は 4 つの V H H ドメインを有する）。同様に、構造 V H H 1 - V H H 2 - V H H 3 - F c は、それが二量体を形成する場合に、六価であるとみなされる（すなわち、二量体は 6 つの V H H ドメインを有する）。

30

## 【 0 0 3 1 】

「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体集団の抗体（ s d A b 又は V H H 含有ポリペプチドを含む）を指す。すなわち、集団を構成する個々の抗体は、少量で存在し得る天然に生じる可能性のある変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は非

40

50

常に特異的であり、単一の抗原部位に対するものである。さらに、典型的には、異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対する抗体である。したがって、モノクローナル抗体の試料は、抗原上の同じエピトープに結合することができる。「モノクローナル」という修飾成句は、抗体の実質的に均一な集団から得られる抗体の性質を示し、何らかの特定の方法による抗体の產生を必要とすると解釈されるべきではない。例えば、モノクローナル抗体は、Kohler and Milstein, 1975, Nature 256:495により最初に記載されたハイブリドーマ法によって作製され得る、又は米国特許第4,816,567号に記載されるような組換えDNA法によって作製され得る。モノクローナル抗体はまた、例えば、McCafferty et al., 1990, Nature 348:552-554に記載される技術を使用して作製されたファージライブラリーから単離され得る。

10

#### 【0032】

「CDR」という用語は、少なくとも1つの当業者に対する特定様式によって定義される相補性決定領域を示す。幾つかの実施形態において、CDRは、Chothia番号付けスキーム、Kabat番号付けスキーム、KabatとChothiaとの組み合わせ、AbM定義、及び/又は接触定義(contact definition)のいずれかに従って定義され得る。VHHは、CDR1、CDR2、及びCDR3と表される3つのCDRを含む。

20

#### 【0033】

本明細書で使用される「重鎖定常領域」という用語は、少なくとも3つの重鎖定常ドメイン、すなわち、CH1、ヒンジ、CH2、及びCH3を含む領域を指す。当然ながら、ドメイン内の機能を変えない欠失及び改変は、特段の指定がない限り、「重鎖定常領域」という用語の範囲内に含まれる。非限定的な例示的な重鎖定常領域には、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、及び $\gamma$ が含まれる。非限定的な例示的な重鎖定常領域には、 $\delta$ 及び $\mu$ も含まれる。それぞれの重鎖定常領域は、1つの抗体アイソタイプに対応する。例えば、定常領域を含む抗体はIgG抗体であり、定常領域を含む抗体はIgD抗体であり、定常領域を含む抗体はIgA抗体である。さらに、 $\mu$ 定常領域を含む抗体はIgM抗体であり、定常領域を含む抗体はIgE抗体である。或る特定のアイソタイプは、更にサブクラスに細分化され得る。例えば、IgG抗体には、限定されるものではないが、IgG1(1定常領域を含む)抗体、IgG2(2定常領域を含む)抗体、IgG3(3定常領域を含む)抗体、及びIgG4(4定常領域を含む)抗体が含まれ、IgA抗体には、限定されるものではないが、IgA1(1定常領域を含む)抗体及びIgA2(2定常領域を含む)抗体が含まれ、IgM抗体には、限定されるものではないが、IgM1及びIgM2が含まれる。

30

#### 【0034】

本明細書で使用される「Fc領域」は、CH2及びCH3を含む重鎖定常領域の一部を指す。幾つかの実施形態において、Fc領域は、ヒンジ、CH2、及びCH3を含む。様々な実施形態において、Fc領域がヒンジを含む場合に、ヒンジは、2つのFc含有ポリペチド間の二量体化を介在する。Fc領域は、本明細書で論じられる任意の抗体重鎖定常領域アイソタイプのものであり得る。幾つかの実施形態において、Fc領域は、IgG1、IgG2、IgG3、又はIgG4である。

40

#### 【0035】

本明細書で使用される「アクセプターヒトフレームワーク」は、本明細書で論じられるように、ヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークに由来する重鎖可変ドメイン(VH)フレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークに由来するアクセプターヒトフレームワークは、その同じアミノ酸配列を含むことができる、又はアミノ酸配列の変化を含み得る。幾つかの実施形態において、アミノ酸の変化の数は、VHH等の単一の抗原結合ドメイン内の全てのヒトフレームワークにわたって10個未満、又は9個未満、又は8個未満、又は7個未満、又は6個未満、又は5個未満、又は4個未満、又は3個未満である。

50

## 【0036】

「親和性」は、分子（例えば、抗体、例えば s d A b 又は V H H 含有ポリペプチド）の単一の結合部位及びその結合相手（例えば、抗原）の間の非共有結合的相互作用の合計の強さを指す。分子 X のその相手 Y に対する親和性又は見かけの親和性は、一般に、それぞれ解離定数（K<sub>d</sub>）又は K<sub>d</sub>（見かけ）によって表すことができる。親和性は、本明細書に記載されている方法を含む、当該技術分野で既知の通常の方法（例えば、E L I S A K<sub>d</sub>、K i n E x A、フローサイトメトリー、及び / 又は表面プラズモン共鳴デバイス等）によって測定され得る。このような方法には、限定されるものではないが、B I A c o r e（商標）、O c t e t（商標）、又はフローサイトメトリーを要する方法が含まれる。

## 【0037】

本明細書で使用される「K<sub>d</sub>」という用語は、抗原結合分子 / 抗原相互作用の平衡解離定数を指す。本明細書で「K<sub>d</sub>」という用語が使用される場合に、それには、K<sub>d</sub> 及び K<sub>d</sub>（見かけ）が含まれる。

## 【0038】

幾つかの実施形態において、抗原結合分子の K<sub>d</sub> は、フローサイトメトリーによって、抗原発現細胞系統を使用し、各抗体濃度で測定された平均蛍光を非線形 1 サイト結合方程式 (graphpad の Prism Software) にフィッティングして測定される。幾つかのそのような実施形態において、K<sub>d</sub> は K<sub>d</sub>（見かけ）である。

## 【0039】

「生物学的活性」という用語は、分子の任意の 1 つ以上の生物学的特性 (in vivo で見られるように天然に存在するか、又は組換え手段によって提供される若しくは可能となるかどうか) を指す。

## 【0040】

「アゴニスト」抗体又は「活性化」抗体は、標的抗原の生物学的活性を増加及び / 又は活性化する抗体である。幾つかの実施形態において、アゴニスト抗体は、抗原に結合し、その生物学的活性を少なくとも約 20%、40%、60%、80%、85% 以上増加させる。

## 【0041】

「アンタゴニスト」抗体、「ブロッキング」抗体、又は「中和」抗体は、標的抗原の生物学的活性を抑止、低下及び / 又は不活性化する抗体である。幾つかの実施形態において、中和抗体は、抗原に結合し、その生物学的活性を少なくとも約 20%、40%、60%、80%、85%、90%、95%、99% 以上低下させる。

## 【0042】

「親和性成熟」s d A b 又は V H H 含有ポリペプチドは、s d A b 又は V H H 含有ポリペプチドの抗原に対する親和性に改善をもたらす改変を有しない親 s d A b 又は V H H 含有ポリペプチドと比較して 1 つ以上の C D R に 1 つ以上のそのような改変を有する s d A b 又は V H H 含有ポリペプチドを指す。

## 【0043】

本明細書で使用される「ヒト化 V H H」は、1 つ以上のフレームワーク領域が実質的にヒトフレームワーク領域で置き換えられた V H H を指す。幾つかの場合には、ヒト免疫グロブリンの或る特定のフレームワーク領域 (F R) 残基が、対応する非ヒト残基によって置き換えられる。さらに、ヒト化 V H H は、当初の V H H にもヒトフレームワーク配列にも見られないが、s d A b 又は V H H 含有ポリペプチドの性能をさらに改良及び最適化するために含まれる残基を含み得る。幾つかの実施形態において、ヒト化 s d A b 又は V H H 含有ポリペプチドは、ヒト F c 領域を含む。理解されるように、ヒト化配列は、その一次配列によって特定され得て、必ずしも抗体が作製された過程を示すわけではない。

## 【0044】

「エフェクター・ポジティブ (effector-positive) F c 領域」は、天然配列の F c 領域の「エフェクター機能」を有する。例示的な「エフェクター機能」には、F c 受容体結合、C l q 結合及び補体依存性細胞傷害作用 (C D C)、F c 受容体結合、抗体依存性細胞

10

20

30

40

50

介在性細胞傷害作用（A D C C）、食作用、細胞表面受容体（例えば、B 細胞受容体）の下方調節、並びにB 細胞活性化等が含まれる。このようなエフェクター機能は、一般に、F c 領域を結合ドメイン（例えば、抗体可変ドメイン）と組み合わせることを要し、様々なアッセイを使用して評価することができる。

#### 【0045】

「天然配列の F c 領域」は、天然に見られる F c 領域のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む。天然配列のヒト F c 領域には、天然配列のヒト I g G 1 F c 領域（非 A アロタイプ及び A アロタイプ）、天然配列のヒト I g G 2 F c 領域、天然配列のヒト I g G 3 F c 領域、及び天然配列のヒト I g G 4 F c 領域、並びにそれらの天然に存在する変異体が含まれる。

10

#### 【0046】

「変異型 F c 領域」は、少なくとも 1 つのアミノ酸修飾により天然配列の F c 領域のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、「変異型 F c 領域」は、少なくとも 1 つのアミノ酸修飾により天然配列の F c 領域のアミノ酸配列とは異なるが、天然配列の F c 領域の少なくとも 1 つのエフェクター機能を保持するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、変異型 F c 領域は、天然配列の F c 領域又は親ポリペプチドの F c 領域と比較して、天然配列の F c 領域又は親ポリペプチドの F c 領域において、少なくとも 1 個のアミノ酸置換、例えば、約 1 個～約 10 個のアミノ酸置換、好ましくは、約 1 個～約 5 個のアミノ酸置換を有する。幾つかの実施形態において、本明細書の変異型 F c 領域は、天然配列の F c 領域及び／又は親ポリペプチドの F c 領域と少なくとも約 80 % の配列同一性、それらと少なくとも約 90 % の配列同一性、それらと少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 %、又は少なくとも約 99 % の配列同一性を有する。

20

#### 【0047】

「F c 受容体」又は「F c R」は、抗体の F c 領域に結合する受容体を記載している。幾つかの実施形態において、F c R は、天然のヒト F c R である。幾つかの実施形態において、F c R は、I g G 抗体（ガンマ受容体）に結合するものであり、F c R I サブクラス、F c R I I サブクラス、及び F c R I I I サブクラスの受容体であって、これらの受容体のアレル変異体及び選択的スプライシングされた形態を含む受容体を含む。F c R I I 受容体には、F c R I I A（「活性化受容体」）及び F c R I I B（「阻害受容体」）が含まれ、これらは同様のアミノ酸配列を有するが、主にその細胞質ドメインが異なる。活性化受容体 F c R I I A は、その細胞質ドメインに免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフ（ITAM）を含む。阻害受容体 F c R I I B は、その細胞質ドメインに免疫受容体チロシンベースの阻害モチーフ（ITIM）を含む（例えば、Dae ron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997) を参照）。F c R は、例えば、R avetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92 (1991)、Capel et al., Immunomethods 4:25-34 (1994)、及び de Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995) でレビューされている。将来特定されるものを含む他の F c R は、本明細書において「F c R」という用語によって包含される。例えば、「F c 受容体」又は「F c R」という用語はまた、胎児性受容体 F c R n を含み、これは、母体の I g G の胎児への移動（Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) 及び Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)）及び免疫グロブリンの恒常性の調節の役割を担う。F c R n への結合を測定する方法は既知である（例えば、Ghetie and Ward, Immunol. Today 18(12):592-598 (1997)、Ghetie et al., Nature Biotechnology, 15(7):637-640 (1997)、Hinton et al., J. Biol. Chem. 279(8):6213-6216 (2004)、国際公開第 2004 / 92219 号 (Hintonら) を参照）。

30

#### 【0048】

本明細書で使用される「キメラ抗原受容体」は、細胞外抗原認識ドメインと、膜貫通ドメインと、細胞内シグナル伝達ドメインとを含む操作されたポリペプチドを指す。幾つかの実施形態において、細胞外抗原認識ドメインは VHH ドメインを含む。

40

50

**【 0 0 4 9 】**

本明細書で使用される「実質的に同様」又は「実質的に同じ」という用語は、当業者が2つ以上の値の間の差を、上記値によって測定される生物学的特徴の文脈内で生物学的意義及び／又は統計学的有意性が殆どない又は全くないとみなすような、2つ以上の数値の間の十分に高度な類似性を示す。幾つかの実施形態において、2つ以上の実質的に同様の値は、5%、10%、15%、20%、25%、又は50%のいずれか1つの概数以下だけ異なる。

**【 0 0 5 0 】**

ポリペプチド「変異体」とは、配列をアラインメントし、必要に応じてギャップを導入して最大パーセントの配列同一性を達成した後に、配列同一性の部分として保存的置換を一切考慮せずに、天然配列のポリペプチドと少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性を有する生物学的に活性なポリペプチドを意味する。そのような変異体には、例えば、ポリペプチドのN末端又はC末端で1つ以上のアミノ酸残基が付加又は欠失されているポリペプチドが含まれる。幾つかの実施形態において、変異体は、少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性を有する。幾つかの実施形態において、変異体は、少なくとも約90%のアミノ酸配列同一性を有する。幾つかの実施形態において、変異体は、天然配列のポリペプチドと少なくとも約95%のアミノ酸配列同一性を有する。

10

**【 0 0 5 1 】**

本明細書で使用される場合に、ペプチド配列、ポリペプチド配列、又は抗体配列に関する「パーセント（%）のアミノ酸配列同一性」及び「ホモロジー」は、配列をアラインメントし、必要に応じてギャップを導入して最大パーセントの配列同一性を達成した後に、配列同一性の部分として保存的置換を一切考慮せずに、特定のペプチド配列又はポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセンテージとして定義される。パーセントのアミノ酸配列同一性を決定するためのアラインメントは、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、又はMEGALIGN（商標）（DNASTAR）ソフトウェア等の公的に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用して、当業者の技能の範囲内である様々な方法で達成され得る。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメーターを決定することができる。

20

**【 0 0 5 2 】**

アミノ酸置換には、限定されるものではないが、ポリペプチド中の或るアミノ酸を別のアミノ酸により置き換えることが含まれ得る。例示的な置換を表1に示す。アミノ酸置換を対象の抗体に導入し、産物を所望の活性、例えば、抗原結合の保持／改善、免疫原性の減少、又はADC若しくはCDCの改善についてスクリーニングすることができる。

30

**【 0 0 5 3 】**

40

50

## 【表1】

表1

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

10

20

30

40

50

## 【0054】

共通の側鎖特性に従ってアミノ酸をグループ分けすることができる：

(1) 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile、

(2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln、

(3) 酸性：Asp、Glu、

(4) 塩基性：His、Lys、Arg、

(5) 鎮の配向に影響する残基：Gly、Pro、

(6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe

## 【0055】

非保存的置換は、これらのクラスの1つのメンバーを別のクラスに交換することを伴う。

## 【0056】

「ベクター」という用語は、宿主細胞内で増殖され得る、クローニングされた単数又は複数のポリヌクレオチドを含むように操作することができるポリヌクレオチドを記載するために使用される。ベクターは、以下のエレメントのうちの1つ以上を含み得る：複製起点、対象のポリペプチドの発現を調節する1つ以上の調節配列（例えば、プロモーター及び／又はエンハンサー等）、及び／又は1つ以上の選択可能なマーカー遺伝子（例えば、抗生素耐性遺伝子及び比色アッセイで使用することができる遺伝子、例えば、-ガラクトシダーゼ等）。「発現ベクター」という用語は、宿主細胞において対象のポリペプチドを発現するために使用されるベクターを指す。

## 【0057】

「宿主細胞」は、ベクター又は単離されたポリヌクレオチドのレシピエントであり得る又はレシピエントであった細胞を指す。宿主細胞は、原核細胞又は真核細胞であり得る。例示的な真核細胞には、靈長類動物細胞又は非靈長類動物細胞等の哺乳動物細胞、酵母等の真菌細胞、植物細胞、及び昆虫細胞が含まれる。非限定的な例示的な哺乳動物細胞には、限定されるものではないが、NSO細胞、PER.C6（商標）細胞（Crucell）、並びに293細胞及びCHO細胞、並びにそれらの派生物、例えば293-6E細胞、CHO-DG44細胞、CHO-K1細胞、CHO-S細胞、及びCHO-DS細胞が含まれる

。宿主細胞には、単一の宿主細胞の子孫が含まれるが、自然変異、偶発変異、又は意図的変異のため、子孫は必ずしも当初の親細胞と完全に同一（形態又はゲノムDNA相補において）であるとは限らない。宿主細胞には、本明細書で提供されるポリヌクレオチド（複数の場合もある）により *in vivo* でトランスフェクションされた細胞が含まれる。

#### 【0058】

本明細書で使用される「単離された」という用語は、典型的に天然に一緒に見出される又は一緒に産生される成分の少なくとも幾つかから分離された分子を指す。例えば、ポリペプチドは、それを産生した細胞の成分の少なくとも一部から分離される場合に、「単離された」と称される。ポリペプチドが発現後に細胞によって分泌される場合に、ポリペプチドを含む上清を、それを産生した細胞から物理的に分離することは、ポリペプチドを「単離する」とみなされる。同様に、ポリヌクレオチドは、それが典型的に天然に見られるより大きなポリヌクレオチド（例えば、DNAポリヌクレオチドの場合に、ゲノムDNA又はミトコンドリアDNA等）の一部ではない場合に、又は例えば、RNAポリヌクレオチドの場合に、それを産生した細胞の成分の少なくとも一部から分離される場合に、「単離された」と称される。したがって、宿主細胞内のベクターに含まれるDNAポリヌクレオチドは、「単離された」と称され得る。

10

#### 【0059】

「個体」及び「被験体」という用語は、動物、例えば哺乳動物を指すために本明細書において区別なく使用される。幾つかの実施形態において、限定されるものではないが、ヒト、齧歯類、サル、ネコ、イヌ、ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、哺乳動物実験動物、哺乳動物家畜、哺乳動物競技用動物（sport animals）、及び哺乳動物ペットを含む哺乳動物を治療する方法が提供される。幾つかの例では、「個体」又は「被験体」は、疾患又は障害の治療を必要とする個体又は被験体を指す。幾つかの実施形態において、治療を受ける被験体は、被験体が治療に関連する障害を有する又は障害を患う十分なリスクがあると特定されたことを表す患者であり得る。

20

#### 【0060】

本明細書で使用される「疾患」又は「障害」は、治療が必要とされる及び／又は所望される状態を指す。

#### 【0061】

「腫瘍細胞」、「癌細胞」、「癌」、「腫瘍」、及び／又は「新生物」という用語は、特段の指定がない限り、本明細書において区別なく使用され、身体器官及び系の正常な機能を妨げる制御不能な増殖及び／又は異常な細胞生存の増加及び／又はアポトーシスの阻害を示す細胞（又は複数の細胞）を指す。この定義には、良性及び悪性の癌、白血病、リンパ腫及び多発性骨髄腫等の血液癌、ポリープ、過形成、並びに潜伏腫瘍又は微小転移が含まれる。

30

#### 【0062】

「癌」及び「腫瘍」という用語は、固形癌及び血液癌／リンパ腺癌を包含するとともに、悪性腫瘍、前悪性腫瘍、及び良性腫瘍、例えば異形成も包含する。例示的な癌には、限定されるものではないが、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳癌及び中枢神経系癌、乳癌、腹膜癌、子宮頸癌、絨毛癌、結腸直腸癌、結合組織癌、消化器系癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃部癌（gastric cancer）（胃腸癌を含む）、膠芽腫、肝癌、肝細胞癌、上皮内新生物、腎臓癌又は腎癌、喉頭癌、白血病、肝臓癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、及び肺扁平上皮癌）、黒色腫、骨髄腫、神経芽細胞腫、口腔癌（唇、舌、口、及び咽頭）、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系癌、唾液腺癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮癌、胃癌（stomach cancer）、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌又は子宮内膜癌、泌尿器系癌、外陰癌、ホジキンリンパ腫及び非ホジキンリンパ腫を含むリンパ腫、並びにB細胞リンパ腫（低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）、小リンパ球（SL）NHL、中悪性度／濾胞性NHL、中悪性度びまん性NHL、高悪性度免疫芽球性NHL、高悪性度リンパ芽球性NHL、高悪性度小型非分割細胞NHL、巨大病変NHLを含む）、マントル細胞リンパ腫、A

40

50

I D S 関連リンパ腫、及びワルデンストレームマクログロブリン血症、急性骨髓性白血病（A M L）、慢性リンパ球性白血病（C L L）、急性リンパ芽球性白血病（A L L）、有毛細胞白血病、慢性骨髓芽球性白血病、並びにその他の癌腫及び肉腫、並びに移植後リンパ増殖性障害（P T L D）、並びに母斑症、浮腫（脳腫瘍に関する浮腫等）及びマイグス症候群に関連する異常血管増殖が含まれる。

#### 【 0 0 6 3 】

本明細書で使用される「非腫瘍細胞」又は「非癌細胞」という用語は、正常な細胞又は組織を指す。例示的な非腫瘍細胞には、限定されるものではないが、T 細胞、B 細胞、ナチュラルキラー（N K）細胞、ナチュラルキラー-T（N K T）細胞、樹状細胞、単球、マクロファージ、上皮細胞、線維芽細胞、肝細胞、間質性腎臓細胞、線維芽細胞様滑膜細胞、骨芽細胞、及び乳房、骨格筋、臍臓、胃、卵巣、小腸、胎盤、子宮、精巣、腎臓、肺、心臓、脳、肝臓、前立腺、結腸、リンパ器官、骨に位置する細胞、及び骨由来の間葉系幹細胞が含まれる。本明細書で使用される「末梢に位置する細胞又は組織」という用語は、腫瘍細胞の近く及び／又は腫瘍微小環境内に位置しない非腫瘍細胞を指す。

10

#### 【 0 0 6 4 】

本明細書で使用される「腫瘍微小環境内の細胞又は組織」という用語は、腫瘍細胞を取り囲む及び／又は腫瘍細胞に栄養を与える細胞、分子、細胞外マトリックス及び／又は血管を指す。例示的な腫瘍微小環境内の細胞又は組織には、限定されるものではないが、腫瘍血管系、腫瘍浸潤リンパ球、線維芽細網細胞、内皮前駆細胞（E P C）、癌関連線維芽細胞、周皮細胞、他の間質細胞、細胞外マトリックス（E C M）の成分、樹状細胞、抗原提示細胞、T 細胞、制御性 T 細胞（T r e g 細胞）、マクロファージ、好中球、骨髄由来抑制細胞（M D S C）及び腫瘍の近位に位置する他の免疫細胞が含まれる。腫瘍細胞及び／又は腫瘍微小環境内に位置する細胞／組織を特定する方法は、本明細書で以下に記載されるように当該技術分野で十分に知られている。

20

#### 【 0 0 6 5 】

幾つかの実施形態において、「増加」又は「減少」は、それぞれ、統計学的に有意な増加又は減少を指す。当業者に明らかであるように、「調節」はまた、試験作用物質が存在することを除き同じ条件と比較した、標的又は抗原のそのリガンド、結合相手、ホモ多量体形若しくはヘテロ多量体形へと会合する相手又は基質の 1 つ以上に対する親和性、アビデイティ、特異性及び／又は選択性の変化（増加又は減少のいずれかであり得る）を引き起こすこと、標的又は抗原が存在する培地又は環境における 1 つ以上の条件（p H、イオン強度、補因子の存在等）に対する標的又は抗原の感受性の変化（増加又は減少のいずれかであり得る）を引き起こすこと、及び／又は細胞増殖若しくはサイトカイン産生を含み得る。これは、関与する標的に応じて、それ自体が既知の又は本明細書に記載される任意の適切な方法で及び／又は任意の適切なアッセイを使用して決定され得る。

30

#### 【 0 0 6 6 】

本明細書で使用される場合に、「免疫応答」は、疾患（例えば、癌又は癌転移）の発症を抑止若しくは防止する又はその症状を改善するのに十分である細胞性免疫応答及び／又は体液性免疫応答を包含することが意図される。「免疫応答」は、自然免疫系及び獲得免疫系の両方の側面を包含し得る。

40

#### 【 0 0 6 7 】

本明細書で使用される場合に、「治療」は、有益な又は所望の臨床結果を得るための手法である。本明細書で使用される「治療」は、ヒトを含む哺乳動物における疾患用の療法薬の任意の投与又は適用を対象とする。本開示の目的では、有益な又は所望の臨床結果には、限定されるものではないが、1 つ以上の症状の緩和、疾患の程度の減少、疾患の進展（例えば、転移、例えば肺又はリンパ節への転移）の防止又は遅延、疾患の再発の防止又は遅延、疾患の進行の遅延又は減速、疾患状態の改善、疾患又は疾患の進行の抑止、疾患又はその進行の抑止又は減速、その発達の阻止、及び寛解（部分的でも全体的でも）のいずれか 1 つ以上が含まれる。「治療」には、増殖性疾患の病理学的結果の軽減も含まれる。本明細書で提供される方法は、治療のこれらの側面のいずれか 1 つ以上を企図している。

50

上記に従って、治療という用語は、障害の全ての側面を100パーセント除去する必要はない。

**【0068】**

「改善する」とは、療法剤を投与しない場合と比べて、1つ以上の症状が軽減又は向上することを意味する。「改善」には、症状の持続期間が短縮又は減少することも含まれる。

**【0069】**

「抗癌剤」という用語は、本明細書において、その最も広い意味で、1つ以上の癌の治療に使用される作用物質を指すために使用される。そのような作用物質の例示的なクラスには、限定されるものではないが、化学療法剤、抗癌生物製剤（サイトカイン、受容体細胞外ドメイン - Fc 融合物、及び抗体等）、放射線療法、CAR-T療法薬、治療用オリゴヌクレオチド（アンチセンスオリゴヌクレオチド及び siRNA 等）、及び腫瘍溶解性ウイルスが含まれる。10

**【0070】**

「生体試料」という用語は、生きている生き物又はかつて生きていた生き物からの或る量の物質を意味する。そのような物質には、限定されるものではないが、血液（例えば、全血）、血漿、血清、尿、羊水、滑液、内皮細胞、白血球、単球、他の細胞、器官、組織、骨髄、リンパ節、及び脾臓が含まれる。

**【0071】**

実験又は比較の文脈における「コントロール」又は「参照」という用語は、分析物を含まないことが既知の組成物（「ネガティブコントロール」）又は分析物を含むことが既知の組成物（「ポジティブコントロール」）を指す。ポジティブコントロールは、既知の濃度の分析物を含み得る。コントロール又は参照はまた、抗体等の試験される作用物質の活性を欠くことが知られているコントロール作用物質を指す場合もある。20

**【0072】**

本明細書で使用される場合に、「疾患の発症を遅延させる」とは、疾患（癌等）の発症を遅らせる、妨げる、減速させる、停滞させる、安定化させる、抑制する、及び／又は引き延ばすことを意味する。この遅延は、疾患の病歴及び／又は治療される個体に応じて、様々な長さの時間となり得る。当業者に明らかであるように、十分な又は大幅な遅延は、事実上、個体が疾患を発症しないという点で防止を包含し得る。例えば、転移の発生等の末期癌を遅延させることができる。30

**【0073】**

本明細書で使用される「防止」は、疾患の素因を有し得るが、まだ疾患と診断されていない被験体における疾患の発生又は再発に対する予防をもたらすことを含む。特段の指示がない限り、「低減する」、「抑止する」、又は「防止する」という用語は、全期間にわたる完全な防止を示すのではなく又は必要とするのではなく、測定される期間だけにわたる防止を示す又は必要とする。

**【0074】**

物質／分子、アゴニスト又はアンタゴニストの「治療有効量」は、個体の疾患状態、年齢、性別、及び体重、並びに物質／分子、アゴニスト又はアンタゴニストが個体において所望の応答を誘発する能力等の要因によって変動し得る。治療有効量はまた、治療的に有益な作用が物質／分子、アゴニスト又はアンタゴニストの任意の有毒作用又は有害作用を上回る量である。治療有効量は、1回以上の投与で送達され得る。治療有効量は、必要な投与量で必要な時間にわたって、所望の治療的結果及び／又は予防的結果を達成するのに有効な量を指す。40

**【0075】**

「医薬製剤」及び「医薬組成物」という用語は、区別なく使用され、有効成分（複数の場合もある）の生物学的活性が有効になることを可能にするような形態であり、製剤を投与する被験体に対して許容不可能なほど有毒な追加の成分を含まない調剤を指す。そのような製剤は滅菌され得る。

**【0076】**

10

20

30

40

50

「薬学的に許容可能な担体」は、被験体に投与するための「医薬組成物」と一緒に含む療法剤とともに使用される当該技術分野において慣用の非毒性の固体、半固体又は液体の充填剤、希釈剤、カプセル化材料、製剤補助剤、又は担体を指す。薬学的に許容可能な担体は、使用される投与量及び濃度でレシピエントに対して無毒であり、製剤の他の成分と適合性がある。薬学的に許容可能な担体は、使用される製剤にとって適切である。

#### 【0077】

1つ以上の更なる療法剤と「組み合わせて」の投与には、同時（併用）投与及び任意の順序での連続投与が含まれる。

#### 【0078】

「同時に」という用語は、本明細書において、2つ以上の療法剤の投与であって、投与の少なくとも一部が時間的に重複する、又は1つの療法剤の投与が他の療法剤の投与に対して短い期間に含まれる、又は両方の療法剤の治療効果が少なくとも或る期間にわたり重複する、投与を指すために使用される。10

#### 【0079】

「連続的に」という用語は、本明細書において、2つ以上の療法剤の投与であって、時間的に重複しない、又は療法剤の治療効果が重複しない、投与を指すために使用される。

#### 【0080】

本明細書で使用される場合に、「～と組み合わせて」は、或る治療法の施与に別の治療法を加えることを指す。したがって、「～と組み合わせて」は、或る治療法を、個体に他の治療法を施す前、その間、又はその後に施すことを指す。20

#### 【0081】

「添付文書」という用語は、治療製品の市販パッケージに通常含まれる使用説明書であって、そのような治療製品の使用に関する指示、使用法、投与量、投与、併用療法、禁忌及び／又は警告に関する情報を含む、使用説明書を指すために使用される。

#### 【0082】

「製造品」は、少なくとも1つの試薬、例えば、疾患若しくは障害（例えば、癌）の治療用の医薬、又は本明細書に記載されるバイオマーカーを特異的に検出するプローブを含む任意の製造物（例えば、パッケージ又は容器）又はキットである。幾つかの実施形態において、製造物又はキットは、本明細書に記載される方法を実施するユニットとして宣伝、配送、又は販売される。30

#### 【0083】

「標識」及び「検出可能な標識」という用語は、例えば、抗体又は抗原に結合されて、特異的結合ペアのメンバー間の反応（例えば、結合）を検出可能にする部分を意味する。特異的結合ペアの標識されたメンバーは、「検出可能に標識された」と称される。したがって、「標識された結合性タンパク質」という用語は、結合性タンパク質の特定をもたらす標識が組み込まれたタンパク質を指す。幾つかの実施形態において、標識は、視覚的に又は機器的手段により検出可能なシグナルを生成し得る検出可能なマーカー、例えば、放射性標識されたアミノ酸の組み込み又はマーキングされたアビジン（例えば、蛍光マーカー又は光学的方法若しくは比色法により検出され得る酵素活性を含むストレプトアビジン）によって検出され得るビオチニル部のポリペプチドへの結合である。ポリペプチドの標識の例には、限定されるものではないが、放射性同位体又は放射性核種（例えば、<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C、<sup>35</sup>S、<sup>90</sup>Y、<sup>99</sup>Tc、<sup>111</sup>In、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>177</sup>Lu、<sup>166</sup>Ho、又は<sup>153</sup>Sr）、色素原、蛍光標識（例えば、FITC、ローダミン、ラントニアド蛍光体）、酵素標識（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）、化学発光マーカー、ビオチニル基、二次レポーターによって認識される予め決められたポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパー配列、二次抗体のための結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ）、及びガドリニウムキレート等の磁性剤が含まれる。イムノアッセイに通常使用される標識の代表的な例には、光を発する部分、例えば、アクリジニウム化合物、及び蛍光を発する部分、例えば、フルオレセインが含まれる。この点について、その部分自体は検出可能に標識されていない場合40

もあるが、更に別の部分と反応すると検出可能になり得る。

#### 【 0 0 8 4 】

##### 例示的な C D 1 2 3 結合性ポリペプチド

本明細書において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドが提供される。様々な実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、C D 1 2 3 に結合する少なくとも1つのV H H ドメインを含む。幾つかの実施形態において、C D 1 2 3 はヒトC D 1 2 3 である。幾つかの実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、I L - 3へのC D 1 2 3 の結合を遮断する。幾つかの実施形態において、本明細書で提供されるC D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、C D 1 2 3 に結合する1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、又は8つのV H H ドメインを含む。幾つかの実施形態において、本明細書で提供されるC D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、C D 1 2 3 に結合する1つ、2つ、3つ、又は4つのV H H ドメインを含む。C D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、C D 1 2 3 以外の1つ以上の標的タンパク質に結合する1つ以上のV H H ドメインを含み得る。そのようなポリペプチドは、「多重特異性」ポリペプチドと呼称され得る。10

#### 【 0 0 8 5 】

幾つかの実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、C D 1 2 3 に結合する少なくとも1つのV H H ドメインと、F c 領域とを含む。幾つかの実施形態において、本明細書で提供されるC D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、1つ、2つ、3つ、又は4つのV H H ドメインと、F c 領域とを含む。幾つかの実施形態において、F c 領域は、生理学的条件でC D 1 2 3 結合性ポリペプチドの二量体化を介在し、こうして二量体が形成されることにより、C D 1 2 3 結合部位の数が2倍となる。例えば、C D 1 2 3 に結合する3つのV H H ドメインと、F c 領域とを含むC D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、単量体としては三価であるが、生理学的条件では、F c 領域が二量体化を介在することができ、こうしてC D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、そのような条件下で六価の二量体として存在する。20

#### 【 0 0 8 6 】

幾つかの実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、第1のV H H ドメインがC D 1 2 3 の第1のエピトープに結合し、かつ第2のV H H ドメインがC D 1 2 3 の第2のエピトープに結合する少なくとも2つのV H H ドメインを含む。C D 1 2 3 結合性ポリペプチドがC D 1 2 3 の第1のエピトープに結合するV H H ドメインと、C D 1 2 3 の第2のエピトープに結合するV H H ドメインとを含む場合に、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、「二重エピトープ性」又は「二重特異性」と呼称され得る。幾つかの実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、第1のV H H ドメインがC D 1 2 3 に結合し、かつ第2のV H H ドメインがC D 1 2 3 以外の抗原に結合する少なくとも2つのV H H ドメインを含む。そのようなポリペプチドは、「二重特異性」又は「多重特異性」と呼称され得る。30

#### 【 0 0 8 7 】

非限定的な例示的なC D 1 2 3 結合性ポリペプチドを表2に示す。示されるシングルドメイン抗体についての配列は、本明細書の或る特定の配列の表に示されている。「h z」で始まるポリペプチド名は、対応する親ポリペプチドのヒト化型であることを示す。

#### 【 0 0 8 8 】

40

20

30

40

50

## 【表2】

表2：CD123に結合する少なくとも1つのVHHを含むポリペプチド

名称	CDR	VHH
A5	配列番号3、配列番号4、及び配列番号5	配列番号2
hzA5v2	配列番号33、配列番号34、及び配列番号35	配列番号26
1B11	配列番号7、配列番号8、及び配列番号9	配列番号6
hz1B11v28	配列番号36、配列番号37、及び配列番号38	配列番号27
C5	配列番号11、配列番号12、及び配列番号13	配列番号10
4F2	配列番号15、配列番号16、及び配列番号17	配列番号14
hz4F2v3	配列番号39、配列番号40、及び配列番号41	配列番号28
F3	配列番号19、配列番号20、及び配列番号21	配列番号18
hzF3v22	配列番号42、配列番号43、及び配列番号44	配列番号29
hzF3v26	配列番号45、配列番号46、及び配列番号47	配列番号30
1F5	配列番号23、配列番号24、及び配列番号25	配列番号22
hz1F5v1	配列番号48、配列番号49、及び配列番号50	配列番号31
hz1F5v2	配列番号51、配列番号52、及び配列番号53	配列番号32
hz1F5v6	配列番号93、配列番号94、及び配列番号95	配列番号92

10

20

30

40

50

## 【0089】

## CD123結合性ポリペプチド

様々な実施形態において、CD123に結合するVHHドメインは、配列番号3、配列番号7、配列番号11、配列番号15、配列番号19、配列番号23、配列番号33、配列番号36、配列番号39、配列番号42、配列番号45、配列番号48、配列番号51、及び配列番号93から選択されるCDR1配列と、配列番号4、配列番号8、配列番号12、配列番号16、配列番号20、配列番号24、配列番号34、配列番号37、配列番号40、配列番号43、配列番号46、配列番号49、配列番号52、及び配列番号94から選択されるCDR2配列と、配列番号5、配列番号9、配列番号13、配列番号17、配列番号21、配列番号25、配列番号35、配列番号38、配列番号41、配列番号44、配列番号47、配列番号50、配列番号53、及び配列番号95から選択されるCDR3配列とを含む。様々な実施形態において、CD123に結合するVHHドメインは、配列番号3、配列番号4、及び配列番号5；配列番号7、配列番号8、及び配列番号9；配列番号11、配列番号12、及び配列番号13；配列番号15、配列番号16、及び配列番号17；配列番号19、配列番号20、及び配列番号21；配列番号23、配列番号24、及び配列番号25；配列番号33、配列番号34、及び配列番号35；配列番号36、配列番号37、及び配列番号38；配列番号39、配列番号40、及び配列番号41；配列番号42、配列番号43、及び配列番号44；配列番号45、配列番号46、及び配列番号47；配列番号48、配列番号49、及び配列番号50；配列番号51、配列番号52、及び配列番号53；並びに配列番号93、配列番号94、及び配列番号95から選択されるCDR1配列、CDR2配列、及びCDR3配列を含む。様々な実施形態において、VHHドメインはヒト化されている。

## 【0090】

幾つかの実施形態において、CD123に結合するVHHドメインは、配列番号2、配列番号6、配列番号10、配列番号14、配列番号18、配列番号22、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、及び配列番号92から選択されるアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、CD123に結合するVHHドメインは、配列番号2、配列番号6、配列番号10、配列番号14、配列番号18、配列番号22、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、及び配列番号92から選択されるアミノ酸配列を含む。

## 【0091】

様々な実施形態において、CD123結合性ポリペプチドは、CD123に結合する1つ、2つ、3つ、又は4つのVHHドメインを含む。

## 【0092】

様々な実施形態において、CD123結合性ポリペプチドは、CD123に結合する少なくとも1つのVHHドメインと、ナチュラルキラー細胞抗原又はT細胞抗原に結合する少なくとも1つのVHHドメインとを含む。幾つかのそのような実施形態において、CD123結合性ポリペプチドは、多重特異性抗体と呼称され得る。

## 【0093】

幾つかの実施形態において、CD123結合性ポリペプチドは、Fc領域に融合された本明細書に記載される少なくとも1つのVHHドメインを含む。幾つかの実施形態において、Fc領域は、配列番号54、配列番号55、配列番号56、配列番号57、配列番号58、配列番号59、配列番号60、配列番号61、配列番号62、配列番号63、配列番号64、配列番号65、配列番号66、配列番号67、配列番号68、配列番号69、配列番号70、配列番号71、配列番号72、配列番号73、配列番号74、配列番号75、配列番号76、配列番号77、配列番号78、配列番号79、配列番号80、配列番号81、配列番号82、配列番号83、配列番号84、配列番号85、配列番号85、配列番号86、配列番号87、配列番号88、及び配列番号89から選択される配列を有する。

## 【0094】

幾つかの実施形態において、CD123に結合するVHHドメインはヒト化される。ヒト化抗体(sdAb又はVHH含有ポリペプチド等)は、治療分子として有用である。それというのも、ヒト化抗体は、抗体療法薬に対する免疫応答をもたらして療法薬の有効性を低下させ得る非ヒト抗体に対するヒト免疫応答を低減又は排除するからである。一般に、ヒト化抗体は、CDR(又はその一部)が非ヒト抗体に由来し、FR(又はその一部)がヒト抗体配列に由来する1つ以上の可変ドメインを含む。ヒト化抗体はまた、任意に、ヒト定常領域の少なくとも一部を含む。幾つかの実施形態において、ヒト化抗体における幾つかのFR残基は、例えば、抗体の特異性又は親和性を回復又は改善するために、非ヒト抗体(例えば、CDR残基の元となる抗体)からの対応する残基で置換される。

## 【0095】

ヒト化抗体及びその作製方法は、例えば、Almagro and Fransson, (2008) *Front. Biosci.* 13: 1619-1633においてレビューされており、例えば、Riechmann et al., (1988) *Nature* 332:323-329、Queen et al., (1989) *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 86: 10029-10033、米国特許第5,821,337号、米国特許第7,527,791号、米国特許第6,982,321号、及び米国特許第7,087,409号、Kashmiri et al., (2005) *Methods* 36:25-34、Padlan, (1991) *Mol. Immunol.* 28:489-498(「リサーフェイシング(resurfacing)」を記載している)、Dall'Acqua et al., (2005) *Methods* 36:43-60(「FRシャッフリング(FR shuffling)」を記載している)、並びにOsbourne et al., (2005) *Methods* 36:61-68及びKlimka et al., (2000) *Br. J. Cancer*, 83:252-260(「FRシャッフリングに対する「ガイド選択(guided selection)」アプローチを記載している」)で更に記載されている。

## 【0096】

ヒト化に使用され得るヒトフレームワーク領域には、限定されるものではないが、「ベストフィット(best-fit)」法を使用して選択されたフレームワーク領域(例えば、Sims et al. (1993) *J. Immunol.* 151:2296を参照)、重鎖可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域(例えば、Carter et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285、及びPresta et al. (1993) *J. Immunol.* 151:2623を参照)、ヒト成熟(体細胞変異した)フレームワーク領域又はヒト生殖細胞系フレームワーク領域(例えば、Almagro and Fransson, (2008) 50

Front. Biosci. 13:1619-1633を参照)、及びFRライブラリーのスクリーニングから得られるフレームワーク領域(例えば、Baca et al., (1997) J. Biol. Chem. 272: 10678-10684、及びRosok et al., (1996) J. Biol. Chem. 271:22611-22618を参照)が含まれる。典型的には、VHHのFR領域をヒトFR領域と置き換えることで、ヒト化VHHが作製される。幾つかの実施形態において、ヒトFRの或る特定のFR残基を置き換えることで、ヒト化VHHの1つ以上の特性が改善される。そのような置き換えられた残基を有するVHHドメインも、本明細書において更に「ヒト化」と称される。

#### 【0097】

様々な実施形態において、CD123結合性ポリペプチドに含まれるFc領域は、ヒトFc領域である、又はヒトFc領域に由来する。10

#### 【0098】

幾つかの実施形態において、CD123結合性ポリペプチドに含まれるFc領域は、ヒトFc領域に由来し、IgG1 E233、L234、及びL235に対応する3つのアミノ酸欠失を下部ヒンジに含み、本明細書で「Fc × ELL」と称される。Fc × ELLポリペプチドはFc Rと結合しないため、「エフェクターサイレント」又は「エフェクターヌル」と称されるが、幾つかの実施形態において、×ELL Fc領域はFcRnに結合するため、半減期の延長及びFcRn媒介性リサイクリング(FcRn mediated recycling)と関連したトランスサイトシスを伴う。

#### 【0099】

幾つかの実施形態において、CD123結合性ポリペプチドに含まれるFc領域は、ヒトFc領域に由来し、変異M252Y及びM428Vを含み、本明細書で「Fc - YV」と称される。幾つかの実施形態において、そのような変異は、エンドソームの酸性pH(6.5近く)でFcRnへの結合を増強するのに対し、中性pH(約7.2)では検出可能な結合が失われることから、FcRn媒介性リサイクリングの増強及び半減期の延長が可能となる。

#### 【0100】

幾つかの実施形態において、CD123結合性ポリペプチドに含まれるFc領域は、ヒトFc領域に由来し、ヘテロ二量体化のために設計された変異を含み、本明細書において「ノブ」と「ホール」と称される。幾つかの実施形態において、「ノブ」Fc領域は、変異T366Wを含む。幾つかの実施形態において、「ホール」Fc領域は、変異T366S、L368A、及びY407Vを含む。幾つかの実施形態において、ヘテロ二量体化に使用されるFc領域は、ヘテロ二量体Fcペアの第1のメンバー上の変異S354C等の追加の変異を含み、この変異は、ヘテロ二量体Fcペアの第2のメンバー上の対応する変異Y349Cと非対称ジスルフィドを形成する。幾つかの実施形態において、ヘテロ二量体Fcペアの一方のメンバーは、修飾H435R又はH435Kを含むことで、FcRn結合を維持しつつプロテインAの結合を妨げる。幾つかの実施形態において、ヘテロ二量体Fcペアの一方のメンバーは、修飾H435R又はH435Kを含むのに対して、ヘテロ二量体Fcペアの第2のメンバーは、H435で修飾されていない。様々な実施形態において、ホールFc領域は、修飾H435R又はH435Kを含むが(修飾がH435Rである場合に、場合によっては「ホール-R」と称される)、ノブFc領域はそれを含まない。幾つかの場合には、ホール-R変異は、存在し得るホモ二量体ホールFc領域に対するヘテロ二量体の精製を改善する。3040

#### 【0101】

CD123結合性ポリペプチドで使用され得る非限定的な例示的なFc領域には、配列番号54～配列番号89のアミノ酸配列を含むFc領域が含まれる。

#### 【0102】

#### キメラ受容体及び操作された細胞

本明細書において、本明細書で提供される1つ以上のCD123結合性VHHドメインを含む細胞外ドメインを有するキメラ抗原受容体(CAR)が提供される。本明細書で提供

10

20

30

40

50

される C A R コンストラクトは、1つ以上の C D 1 2 3 結合性 V H H ドメインを含む細胞外ドメインと、膜貫通ドメインと、細胞内シグナル伝達領域とを含む。C A R の抗原結合ユニットを形成する1つ以上の C D 1 2 3 結合性 V H H ドメインは、この C A R が C D 1 2 3 結合を発現する細胞又は組織の標的化における治療に有用であるのに十分な親和性で C D 1 2 3 結合に結合する又は結合することができる、すなわちこれを標的とする。

#### 【 0 1 0 3 】

C A R は、典型的には、T 細胞等の細胞の表面上に発現される单一融合分子における1つ以上のシグナル伝達ドメインと関連する細胞外標的化 / 結合部分を含む合成受容体である。したがって、C A R は、单一融合分子において抗原特異性とT 細胞活性化特性とを兼ね備えている。第1世代のC A R は典型的には、C D 3 又はF c 1 受容体 鎖の細胞質領域をそれらのシグナル伝達ドメインとして含んだ。第1世代のC A R は、卵巣癌、腎癌、リンパ腫、及び神経芽細胞腫を伴う患者における第I相臨床試験で試験されており、これらは中程度の奏効を誘導した (Sadelain et al., Curr Opin Immunol, 21 (2): 215-223, 2009でレビューされている)。C D 2 8 及びC D 3 等の共刺激分子のシグナル伝達ドメインを含む第2世代のC A R は、活性化シグナルと共に刺激シグナルとの組み合わせに向けたデュアルシグナル伝達を提供する。第3世代のC A R は、3つ以上のシグナル伝達ドメインを伴ってより複雑である (Sadelain et al., Cancer Discovery (3), 388-398, 2013及びDotti et al, Immuno. Rev, 257 (1), 1-36, 2014でレビューされている)。

#### 【 0 1 0 4 】

幾つかの実施形態において、提供されるC A R は、C D 1 2 3 結合性 V H H ドメインを含む。幾つかの実施形態において、C A R は1つ以上の抗原を標的とする少なくとも2つのV H H ドメインを含む。一実施形態において、C A R の抗原結合ドメインは、2つ又は少なくとも2つのC D 1 2 3 結合性 V H H ドメインを含むため、二価の分子が提供される。一実施形態において、抗原結合ドメインは、2つ又は少なくとも2つのC D 1 2 3 結合性 V H H ドメインを含むが、C D 1 2 3 上の異なるエピトープに結合する。このような場合に、抗原結合ドメインは、C D 1 2 3 の第1のエピトープに結合する第1のC D 1 2 3 結合性 V H H ドメインと、C D 1 2 3 の第2のエピトープに結合する第2のV H H ドメインとを含む。エピトープは重複している場合がある。したがって、幾つかの実施形態において、抗原結合ドメインはバイバラトピックであり、C A R はバイバラトピックC A R である。更に別の実施形態において、抗原結合ドメインは、C D 1 2 3 上の同じエピトープに結合する2つのC D 1 2 3 結合性 V H H ドメインを含む。

#### 【 0 1 0 5 】

本明細書で提供されるC A R の膜貫通ドメインは、典型的に原形質膜を横切る又は原形質膜を横切り得る若しくは原形質膜にまたがり得るドメインであり、このドメインは、細胞外抗原結合ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む内質部分に直接的又は間接的に（例えば、免疫グロブリンヒンジ配列等のスペーサーを介して）連結されている。一実施形態において、C A R の膜貫通ドメインは、膜貫通タンパク質（例えば、I型膜貫通タンパク質）の膜貫通領域、人工疎水性配列、又はそれらの組み合わせである。一実施形態において、膜貫通ドメインは、C D 3 ドメイン又はC D 2 8 膜貫通ドメインを含む。他の膜貫通ドメインは当業者には明らかであり、本明細書で提供されるC A R の実施形態に関連して使用され得る。

#### 【 0 1 0 6 】

本明細書で提供されるC A R の細胞内シグナル伝達領域は、C A R の抗原結合ドメインの結合時に、例えば、抗原の結合時にT 細胞にシグナルを伝達する1つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。幾つかの実施形態において、細胞内領域は、I T A M シグナル伝達ドメインである又はI T A M シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む。例示的な細胞内シグナル伝達ドメインには、例えば、T 細胞受容体複合体の鎖又はそのホモログ（例えば、鎖、F c s R I y 鎖及び鎖、M B 1 (I g a ) 鎖、B 2 9 (I g ) 鎖等）のいずれか、ヒトC D 3 鎖、C D 3 ポリペプチド（、及び）

10

20

30

40

50

、 s y k ファミリーチロシンキナーゼ ( S y k 、 Z A P 7 0 等) 、 s r c ファミリーチロシンキナーゼ ( L c k 、 F y n 、 L y n 等) 並びに C D 2 、 C D 5 、 O X 4 0 及び C D 2 8 等の T 細胞伝達に関する他の分子に由来するシグナル伝達ドメインが含まれる。特定の実施形態において、細胞内シグナル伝達領域は、ヒト C D 3 鎖に由来する細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

#### 【 0 1 0 7 】

幾つかの実施形態において、 C A R の細胞内シグナル伝達領域は、共刺激分子に由来する細胞内シグナル伝達ドメインを更に含み得る。そのような例では、そのようなシグナル伝達ドメインは、例えば、抗原特異的結合後に、例えば、 I T A M 含有シグナル伝達ドメイン、例えば C D 3 のみを含む C A R と比較して、記憶細胞の増殖、生存及び / 又は発達の增强を介して C A R - T 細胞活性を增强し得る。幾つかの実施形態において、共刺激ドメインは、 C D 2 8 、 C D 1 3 7 ( 4 - I B B ) 、 C D 1 3 4 ( O X 4 0 ) 、 D a p 1 0 、 C D 2 7 、 C D 2 、 C D 5 、 I C A M - 1 、 L F A - 1 ( C D 1 1 a / C D 1 8 ) 、 L c k 、 T N F R - I 、 T N F R - I I 、 F a s 、 C D 3 0 、 C D 4 0 又はそれらの組み合わせから選択されるタンパク質から得られる機能的シグナル伝達ドメインである。特定の実施形態において、共刺激シグナル伝達ドメインは、ヒトタンパク質に由来する又はヒトタンパク質から得られる。幾つかの態様において、共刺激シグナル伝達ドメインは、ヒト C D 2 8 又はヒト C D 1 3 7 ( 4 - I B B ) に由来する又はそれらから得られる。

10

#### 【 0 1 0 8 】

幾つかの実施形態において、共刺激シグナル伝達ドメインは C D 2 8 又は 4 1 B B に由来する。

20

#### 【 0 1 0 9 】

特定の実施形態において、 C A R は、細胞外抗原結合ドメインと膜貫通ドメインとを連結するヒンジ領域又はスペーサー領域を更に含む。このヒンジ領域又はスペーサー領域を使用して、得られる C A R の種々の長さ及び柔軟性を実現することができる。使用され得るヒンジ領域又はスペーサー領域の例には、限定されるものではないが、抗体の F c フラグメント、若しくはその断片若しくは誘導体、抗体のヒンジ領域、若しくはその断片若しくは誘導体、抗体の C H 2 領域、抗体の C H 3 領域、人工スペーサー配列、例えばペプチド配列、又はそれらの組み合わせが含まれる。他のヒンジ領域又はスペーサー領域は当業者には明らかであり、使用され得る。一実施形態において、ヒンジは、 I g G 4 ヒンジ又は C D 8 A ヒンジである。

30

#### 【 0 1 1 0 】

幾つかの実施形態において、スペーサー及び膜貫通ドメインは、 C D 8 に由来するヒンジ及び膜貫通ドメインである。

#### 【 0 1 1 1 】

本明細書において、本明細書で提供される C A R をコードする少なくとも 1 つの核酸を含む単離された核酸コンストラクトも提供される。幾つかの態様において、コンストラクトは、細胞における C A R の発現のための発現ベクターである。発現ベクターはウイルスベクターであり得る。ウイルスベクター技術は、当該技術分野で十分に知られており、例えば、 Sambrook et al. ( Molecular Cloning: A Laboratory Manual , Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 2013) に記載されている。哺乳動物細胞への遺伝子移入のために多くのウイルスベースのシステムが開発してきた。例えば、アデノウイルスベクター等のレトロウイルスが使用される。一実施形態において、レンチウイルスベクターが使用される。

40

#### 【 0 1 1 2 】

更なる態様において、上記の 1 つ以上の核酸コンストラクトを含む分離された細胞又は細胞集団も提供される。また、本明細書で提供される C A R を発現するように遺伝子改変されている分離された細胞又は細胞集団も提供される。したがって、本明細書において、本明細書で提供される C A R を含む、例えばそれを安定して発現する遺伝子操作された細胞が提供される。一実施形態において、細胞は、 T 細胞、ナチュラルキラー ( N K ) 細胞、

50

細胞傷害性Tリンパ球（C T L）、制御性T細胞、造血幹細胞、及び／又は多能性胚性幹細胞／多能性誘導幹細胞からなる群から選択される。幾つかの場合では、細胞はC D 4 T細胞及び／又はC D 8 T細胞等のT細胞である。幾つかの実施形態において、細胞は被験体に対して自家である。例えば、幾つかの実施形態において、T細胞は、C A R核酸コンストラクトでの操作、例えばトランスフェクション又は形質導入のために、患者から分離され得る（初代T細胞とも称される）。

#### 【0113】

例示的には、初代T細胞はe x v i v oで純化され（C D 4 細胞若しくはC D 8 細胞又は両方）、抗C D 3 / 抗C D 2 8でコーティングされたビーズ等のT C R / C D 2 8 アゴニストで刺激され得る。2日又は3日の活性化過程の後に、C A Rをコードする組換え発現ベクターは、標準的なレンチウイルス若しくはレトロウイルスの形質導入プロトコル又はプラスミドのエレクトロポレーション戦略を通じて、初代T細胞へと安定的に導入され得る。例えば、抗エピトープタグ又は天然の親分子と交差反応する抗体を使用するフローサイトメトリーによって、C A R発現について、細胞をモニターすることができる。C A Rを発現するT細胞を、抗エピトープタグ抗体でソーティングすることによって濃縮することができる、又は用途に応じて高発現若しくは低発現に関して濃縮することができる。

#### 【0114】

C A Rで操作されたT細胞を、様々な手段によって適切な機能についてアッセイすることができる。幾つかの場合には、in v i t r oでの細胞傷害性、増殖、又はサイトカインアッセイ（例えば、I F N 発現）を使用して、操作されたT細胞の機能を評価することができる。例示的な標準エンドポイントは、腫瘍系統の溶解のパーセント、操作されたT細胞の増殖、又は培養上清中のI F N タンパク質の発現である。幾つかの場合には、例えば抗原を介したC A Rの刺激時にT細胞の活性化を刺激する能力を、例えば、C D 6 9、C D 4 4若しくはC D 6 2 L等の活性化マーカーの発現、増殖及び／又はサイトカイン産生をモニターすることによって評価することができる。

#### 【0115】

##### ポリペプチドの発現及び產生

C D 1 2 3 結合性ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む核酸分子が提供される。幾つかの実施形態において、核酸分子はまた、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドの分泌を指示するリーダー配列もコードすることができ、そのリーダー配列は、典型的には、これが分泌されたポリペプチド中に存在しないように切断される。リーダー配列は、天然の重鎖（又はV H H）リーダー配列であり得る、又は別の異種リーダー配列であり得る。

#### 【0116】

核酸分子は、当該技術分野で慣用の組換えD N A技術を使用して構築され得る。幾つかの実施形態において、核酸分子は、選択された宿主細胞における発現に適した発現ベクターである。

#### 【0117】

本明細書に記載されるC D 1 2 3 結合性ポリペプチドをコードする核酸を含むベクターが提供される。そのようなベクターには、限定されるものではないが、D N Aベクター、ファージベクター、ウイルスベクター、レトロウイルスベクター等が含まれる。幾つかの実施形態において、C H O細胞若しくはC H O由来細胞等の所望の細胞型、又はN S O細胞におけるポリペプチドの発現のために最適化されたベクターが選択される。例示的なそのようなベクターは、例えば、Running Deer et al., Biotechnol. Prog. 20:880-889 (2004)に記載されている。

#### 【0118】

幾つかの実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、細菌細胞等の原核細胞において、又は真菌細胞（酵母等）、植物細胞、昆虫細胞、及び哺乳類細胞等の真核細胞において発現され得る。そのような発現は、例えば、当該技術分野で既知の手順に従って実施され得る。ポリペプチドの発現に使用され得る例示的な真核細胞には、限定されるものではないが、C O S 7 細胞を含むC O S 細胞、2 9 3 - 6 E 細胞を含む2 9 3 細胞、C H

10

20

30

40

50

O-S、DG44、Lec13 CHO細胞及びFUT8 CHO細胞を含むCHO細胞、PER.C6(商標)細胞(Crucell)、並びにNSO細胞が含まれる。幾つかの実施形態において、CD123結合性ポリペプチドは、酵母において発現され得る。例えば、米国特許出願公開第2006/0270045号を参照。幾つかの実施形態において、特定の真核宿主細胞は、ポリペプチドに対して所望の翻訳後修飾を行うその能力に基づいて選択される。例えば、幾つかの実施形態において、CHO細胞は、293細胞で產生される同じポリペプチドよりも高レベルのシアリル化を有するポリペプチドを产生する。

#### 【0119】

所望の宿主細胞への1つ以上の核酸(ベクター等)の導入は、限定されるものではないが、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラント媒介トランスフェクション、カチオン性脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、感染等を含むあらゆる方法によって達成され得る。非限定的な例示的な方法は、例えばSambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001)に記載されている。核酸は、任意の適切な方法に従って、所望の宿主細胞に一過的又は安定的にトランスフェクションされ得る。

10

#### 【0120】

本明細書に記載される核酸又はベクターのいずれかを含む宿主細胞も提供される。幾つかの実施形態において、本明細書に記載されるCD123結合性ポリペプチドを発現する宿主細胞が提供される。宿主細胞で発現されたCD123結合性ポリペプチドは、任意の適切な方法によって精製され得る。そのような方法には、限定されるものではないが、親和性マトリックス又は疎水性相互作用クロマトグラフィーの使用が含まれる。適切なアフィニティーリガンドには、ROR1 ECD及びFc領域に結合する作用物質が含まれる。例えば、プロテインA、プロテインG、プロテインA/G、又は抗体アフィニティーカラムを使用して、Fc領域に結合することで、Fc領域を含むCD123結合性ポリペプチドを精製することができる。疎水性相互作用クロマトグラフィー、例えば、ブチルカラム又はフェニルカラムもまた、抗体等の幾つかのポリペプチドを精製するのに適切であり得る。イオン交換クロマトグラフィー(例えば、陰イオン交換クロマトグラフィー及び/又は陽イオン交換クロマトグラフィー)もまた、抗体等の幾つかのポリペプチドを精製するのに適切であり得る。混合モードクロマトグラフィー(例えば、逆相/陰イオン交換、逆相/陽イオン交換、親水性相互作用/陰イオン交換、親水性相互作用/陽イオン交換等)も、抗体等の幾つかのポリペプチドを精製するのに適切であり得る。ポリペプチドを精製する多くの方法が当該技術分野で知られている。

20

#### 【0121】

幾つかの実施形態において、CD123結合性ポリペプチドは、無細胞系において產生される。非限定的な例示的な無細胞系は、例えば、Sitaraman et al., Methods Mol. Biol. 498: 229-44 (2009)、Spirin, Trends Biotechnol. 22: 538-45 (2004)、Endo et al., Biotechnol. Adv. 21: 695-713 (2003)に記載されている。

30

#### 【0122】

幾つかの実施形態において、上記の方法によって作製されたCD123結合性ポリペプチドが提供される。幾つかの実施形態において、CD123結合性ポリペプチドは、宿主細胞において作製される。幾つかの実施形態において、CD123結合性ポリペプチドは、無細胞系において作製される。幾つかの実施形態において、CD123結合性ポリペプチドは精製される。幾つかの実施形態において、CD123結合性ポリペプチドを含む細胞培養培地が提供される。

40

#### 【0123】

幾つかの実施形態において、上記の方法によって作製された抗体を含む組成物が提供される。幾つかの実施形態において、該組成物は、宿主細胞において作製されたCD123結合性ポリペプチドを含む。幾つかの実施形態において、該組成物は、無細胞系において作製されたCD123結合性ポリペプチドを含む。幾つかの実施形態において、該組成物は、精製されたCD123結合性ポリペプチドを含む。

50

## 【 0 1 2 4 】

C D 1 2 3 結合性ポリペプチドを使用して疾患を治療する例示的な方法

幾つかの実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチド又はC D 1 2 3 結合性ポリペプチドを発現する細胞を投与することを含む、個体における疾患を治療する方法が提供される。幾つかの実施形態において、個体における癌を治療する方法が提供される。幾つかの実施形態において、個体におけるC D 1 2 3 を発現する癌又はC D 1 2 3 陽性の癌を治療する方法が提供される。該方法は、本明細書で提供されるC D 1 2 3 結合性ポリペプチド又はC D 1 2 3 結合性ポリペプチドを発現する細胞を有効量、個体に投与することを含む。幾つかの実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、I L - 3 へのC D 1 2 3 の結合を遮断する。幾つかの実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドを使用して、C D 1 2 3 を発現する細胞に細胞傷害性作用物質が導入される。幾つかのそのような実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、細胞傷害性T細胞又はN K 細胞に結合する結合ドメインを含む。幾つかのそのような実施形態において、結合ドメインは、C D 3 、T細胞受容体(T C R)、TCR、C D 2 8 、C D 1 6 、C D 3 2 A 、C D 6 4 、C D 8 9 、N K p 4 6 、又はN K G 2 D に結合する。結合ドメインは、幾つかの実施形態において、V H H ドメイン、又はV H / V L 、s c F v 、F a b フラグメント等の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む抗体結合ドメインであり得る。

10

## 【 0 1 2 5 】

幾つかの実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドを細胞傷害性作用物質に連結して、免疫複合体を形成する。免疫複合体で使用される様々な細胞傷害性作用物質は当該技術分野で知られており、それには、限定されるものではないが、カリケアマイシン、アウリスタチン、ドラスタチン、チューブリシン、メイタンシノイド、クリプトフィシン、デュオカルマイシン、エスペラマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、及びエンジイン抗生物質が含まれる。

20

## 【 0 1 2 6 】

幾つかの実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、細胞傷害性細胞上で発現されるキメラ抗原受容体、例えばT細胞上で発現されるキメラ抗原受容体(C A R - T)又はN K 細胞上で発現されるキメラ抗原受容体(C A R - N K)である。そのような治療方法は、ヒト又は動物における治療方法であり得る。幾つかの実施形態において、ヒトを治療する方法が提供される。

30

## 【 0 1 2 7 】

本明細書で提供されるC D 1 2 3 結合性ポリペプチド又はC D 1 2 3 結合性ポリペプチドを発現する細胞で治療され得る非限定的な例示的な癌としては、限定されるものではないが、リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B細胞リンパ腫、低悪性度/濾胞性非ホジキンリンパ腫(N H L)、小リンパ球(S L)N H L、中悪性度/濾胞性N H L、中悪性度びまん性N H L、高悪性度免疫芽球性N H L、高悪性度リンパ芽球性N H L、高悪性度小型非分割細胞N H L、巨大病変N H L、マントル細胞リンパ腫、A I D S 関連リンパ腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、急性骨髓性白血病(A M L)、慢性リンパ球性白血病(C L L)、急性リンパ芽球性白血病(A L L)、有毛細胞白血病、慢性骨髓芽球性白血病が挙げられる。幾つかの実施形態において、癌はC D 1 2 3 を発現する(すなわち、C D 1 2 3 陽性の)癌である。

40

## 【 0 1 2 8 】

C D 1 2 3 結合性ポリペプチド又はC D 1 2 3 結合性ポリペプチドを発現する細胞は、必要に応じて被験体に投与され得る。投与の頻度の決定は、治療される病態、治療される被験体の年齢、治療される病態の重症度、治療される被験体の全般的健康状態等の考慮に基づいて、主治医等の当業者によって行われ得る。幾つかの実施形態において、有効用量のC D 1 2 3 結合性ポリペプチド又はC D 1 2 3 結合性ポリペプチドを発現する細胞が被験体に1回以上投与される。幾つかの実施形態において、有効用量のC D 1 2 3 結合性ポリペプチド又はC D 1 2 3 結合性ポリペプチドを発現する細胞が、被験体に毎日、週に2回、毎週、2週間ごとに、月に1回等で投与される。有効用量のC D 1 2 3 結合性ポリペプ

50

チド又は C D 1 2 3 結合性ポリペプチドを発現する細胞が被験体に少なくとも 1 回投与される。幾つかの実施形態において、有効用量の C D 1 2 3 結合性ポリペプチド又は C D 1 2 3 結合性ポリペプチドを発現する細胞が、少なくとも 1 ヶ月、少なくとも 6 ヶ月、又は少なくとも 1 年間にわたる複数回を含む複数回で投与され得る。

#### 【 0 1 2 9 】

幾つかの実施形態において、医薬組成物は、癌を治療（癌の予防を含む）するのに有効な量で投与される。治療有効量は、典型的には、治療される被験体の体重、その被験体の身体的状態若しくは健康状態、治療される病態の広範さ、又は治療される被験体の年齢に依存する。一般に、抗体は、用量あたり約 0 . 0 5 m g / k g ( 体重 ) ~ 約 1 0 0 m g / k g ( 体重 ) の範囲の量で投与され得る。幾つかの実施形態において、抗体は、用量あたり約 1 0 μ g / k g ( 体重 ) ~ 約 1 0 0 m g / k g ( 体重 ) の範囲の量で投与され得る。幾つかの実施形態において、抗体は、用量あたり約 5 0 μ g / k g ( 体重 ) ~ 約 5 m g / k g ( 体重 ) の範囲の量で投与され得る。幾つかの実施形態において、抗体は、用量あたり約 1 0 0 μ g / k g ( 体重 ) ~ 約 1 0 m g / k g ( 体重 ) の範囲の量で投与され得る。幾つかの実施形態において、抗体は、用量あたり約 1 0 0 μ g / k g ( 体重 ) ~ 約 2 0 m g / k g ( 体重 ) の範囲の量で投与され得る。幾つかの実施形態において、抗体は、用量あたり約 0 . 5 m g / k g ( 体重 ) ~ 約 2 0 m g / k g ( 体重 ) の範囲の量で投与され得る。幾つかの実施形態において、抗体は、用量あたり約 0 . 5 m g / k g ( 体重 ) ~ 約 1 0 m g / k g ( 体重 ) の範囲の量で投与され得る。幾つかの実施形態において、抗体は、用量あたり約 0 . 0 5 m g / k g ( 体重 ) ~ 約 2 0 m g / k g ( 体重 ) の範囲の量で投与され得る。幾つかの実施形態において、抗体は、用量あたり約 0 . 0 5 m g / k g ( 体重 ) ~ 約 1 0 m g / k g ( 体重 ) の範囲の量で投与され得る。幾つかの実施形態において、抗体は、約 5 m g / k g ( 体重 ) 以下、例えば、4 m g / k g 未満、3 m g / k g 未満、2 m g / k g 未満、又は 1 m g / k g 未満の範囲の抗体の量で投与され得る。

#### 【 0 1 3 0 】

幾つかの実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチド又は C D 1 2 3 結合性ポリペプチドを発現する細胞は、限定されるものではないが、静脈内、動脈内、非経口、腹腔内、又は皮下を含む様々な経路によって i n v i v o で投与され得る。意図される用途に応じて、適切な製剤及び投与経路を選択することができる。

#### 【 0 1 3 1 】

幾つかの実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドを使用する療法処置は、C D 1 2 3 を発現する細胞、例えば C D 1 2 3 を発現する癌細胞に細胞傷害性作用物質を標的化することによって達成される。幾つかのそのような実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドは、細胞傷害性細胞、例えば T 細胞又は N K 細胞上で発現されるキメラ抗原受容体である。

#### 【 0 1 3 2 】

##### 医薬組成物

幾つかの実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチドを含む組成物は、多種多様な薬学的に許容可能な担体を含む製剤で提供される（例えば、Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drug acts Plus, 20th ed. (2003)、Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th ed., Lippencott Williams and Wilkins (2004)、Kibbe et al., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd ed., Pharmaceutical Press (2000)を参照）。賦形剤、アジュバント、及び希釈剤を含む様々な薬学的に許容可能な担体が利用可能である。さらに、p H 調整剤及び緩衝剤、張性調整剤、安定剤、湿潤剤等の様々な薬学的に許容可能な補助物質も利用可能である。非限定的な例示的な担体には、生理食塩水、緩衝生理食塩水、デキストロース、水、グリセロール、エタノール、及びそれらの組み合わせが含まれる。

#### 【 0 1 3 3 】

幾つかの実施形態において、医薬組成物は、少なくとも 1 0 m g / m L 、 2 0 m g / m L

10

20

30

40

50

、30 mg / mL、40 mg / mL、50 mg / mL、60 mg / mL、70 mg / mL、80 mg / mL、90 mg / mL、100 mg / mL、125 mg / mL、150 mg / mL、175 mg / mL、200 mg / mL、225 mg / mL、又は250 mg / mLの濃度でCD123結合性ポリペプチドを含む。

#### 【0134】

##### 併用療法

本開示のCD123結合性ポリペプチド又は操作された細胞は、単独で又は他の抗癌剤等の他の治療方式と組み合わせて投与され得る。CD123結合性ポリペプチド又は操作された細胞は、他の治療方式の前、実質的にそれと同時に、又はその後に供給され得る（すなわち、同時に又は順次に）。幾つかの実施形態において、本明細書に記載される治療方法は、放射線療法、化学療法、ワクチン接種、標的腫瘍療法、CAR-T療法、腫瘍溶解性ウイルス療法、癌免疫療法、サイトカイン療法、外科的切除、クロマチン修飾、切除、冷却療法、腫瘍標的に対するアンチセンス剤、腫瘍標的に対するsiRNA剤、腫瘍標的に対するマイクロRNA剤若しくは抗癌剤／抗腫瘍剤、又は抗体、サイトカイン若しくは受容体細胞外ドメイン-Fc融合物等の生物製剤を施すことを更に含み得る。

10

#### 【0135】

幾つかの実施形態において、本明細書で提供されるCD123結合性ポリペプチドは、1種以上の化学療法剤、CAR-T（キメラ抗原受容体T細胞）療法薬、腫瘍溶解性ウイルス療法薬、サイトカイン療法薬、及び／又はVISTA、gpNMB、B7H4、HHL A2、CD73、CTLA4、TIGIT等の他のチェックポイント分子を標的とする作用物質と同時に与えられる。

20

#### 【0136】

幾つかの実施形態において、本開示のCD123結合性ポリペプチド又は操作された細胞は、その他の抗腫瘍剤、例えば、抗HER-2抗体、抗CD20抗体、上皮成長因子受容体（EGFR）アンタゴニスト（例えば、チロシンキナーゼ阻害剤）、HER1/EGFR阻害剤（例えば、エルロチニブ（TARCEVA（商標））、血小板由来成長因子阻害剤（例えば、GLEEVEC（商標）（メシリ酸イマチニブ））、COX-2阻害剤（例えば、セレコキシブ）、インターフェロン、CTLA4阻害剤（例えば、抗CTLA抗体イピリムマブ（YERVOY（商標））、PD-1阻害剤（例えば、抗PD1抗体、BMS-936558）、PDL1阻害剤（例えば、抗PDL1抗体、MPDL3280A）、PDL2阻害剤（例えば、抗PDL2抗体）、サイトカイン、以下の標的Erbb2受容体、Erbb3受容体、Erbb4受容体、PDGFR受容体、Blys受容体、APRIL受容体、BCMA受容体、PD-1受容体、PDL1受容体、PDL2受容体、CTLA4受容体、又はVEGF受容体の1つ以上に結合するアンタゴニスト（例えば、中和抗体）、TRAIL/Apo2、並びにその他の生物活性剤及び有機化学剤等と組み合わせて使用される。

30

#### 【0137】

幾つかの実施形態において、本明細書で提供されるCD123結合性ポリペプチド又は操作された細胞は、PD-1/PD-L1療法薬と同時に与えられる。PD-1/PD-L1療法薬の例には、ニボルマブ（BMS）、ピディリズマブ（CureTech、CT-011）、ペンプロリズマブ（Merck）、デュルバルマブ（Medimmune/AstraZeneca）、アテゾリズマブ（Genentech/Roche）、アベルマブ（Pfizer）、AMP-224（Amplimmune）、BMS-936559、AMP-514（Amplimmune）、MDX-1105（Merck）、TSR-042（Tesaro/AnaptysBio、ANB-011）、STI-A1010（Sorrento Therapeutics）、STI-A1110（Sorrento Therapeutics）、及びプログラム死-1（PD-1）又はプログラム死リガンド1（PD-L1）に対する他の作用物質が含まれる。

40

#### 【0138】

幾つかの実施形態において、本開示のCD123結合性ポリペプチド又は操作された細胞は、化学療法剤と組み合わせて使用され得る。化学療法剤の例としては、限定されるもの

50

ではないが、チオテバ及びCYTOSTAN(商標)のシクロホスファミド等のアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファン、及びピポスルファン等のアルキルスルホン酸エステル；ベンゾドーパ(benzodopa)、カルボコン、メツレドーパ(meturedopa)、及びウレドーパ(uredopa)等のアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド、及びトリメチロールメラミンを含むエチレンイミン及びメチラメラミン(methylamelinines)；アセトゲニン(特にプラタシン及びプラタシノン)；カンプトテシン(合成類似体トポテカンを含む)；ブリオスタチン；カリスタチン；CC-1065(そのアドゼレシン、カルゼレシン、及びビゼレシンの合成類似体を含む)；クリプトフィシン(特にクリプトフィシン1及びクリプトフィシン8)；ドラスタチン；デュオカルマイシン(合成類似体のKW-2189及びCB1-TM1を含む)；エロイテロビン；パンクラチスタチン；サルコジクチイン；スponジスタチン；クロラムブシリ、クロルナファジン、シクロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、塩酸メクロレタミンオキシド、メルファラン、ノベムビチン(novembichin)、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスター等のナイトロジエンマスター；カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、及びラニムスチン等のニトロソウレア；エンジイン抗生物質(例えば、カリケアマイシン、特にカリケアマイシンI及びカリケアマイシンI(例えば、Agnew, Chem Int'l. Ed. Engl., 33: 183-186(1994)を参照)；ダイネマイシンAを含むダイネマイシン；クロドロン酸塩等のビスホスホン酸塩；エスペラマイシン；並びにネオカルジノスタチンクロモフォア及び関連の色素タンパク質エンジイン抗生物質クロモフォア)、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アントラマイシン、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ADRINA MYCIN(商標)のドキソルビシン(モルホリノ-ドキソルビシン、シアノモルホリノ-ドキソルビシン、2-ピロリノ-ドキソルビシン、及びデオキシドキソルビシンを含む)、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトイシンC等のマイトイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペブロマイシン、ポルフィロマイシン、プロマイシン、ケラマイシン(quelamycin)、ロドルビシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシン等の抗生物質；メトトレキサート及び5-フルオロウラシル(5-FU)等の代謝拮抗物質；デノブテリン、メトトレキサート、ブテロブテリン、トリメトレキサート等の葉酸類似体；フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン等のプリン類似体；アンシタбин、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシリジン、ドキシフルリジン、エノシタбин、フロクスウリジン等のピリミジン類似体；カルステロン、プロピオン酸ドロスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストトラクトン等のアンドロゲン；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン等の抗副腎(anti-adrenals)；フロリン酸等の葉酸補充剤；アセグラトン；アルドホスファミド配糖体；アミノレブリン酸；エニルウラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ビスマントレン；エダトレキサート；デフォファミン(defofamine)；デメコルシン；ジアジクオン；エフロルニチン；酢酸エリプチニウム(elliptinium acetate)；エボチロン；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダミン；メイタンシン及びアンサマイトイシン等のメイタンシノイド；ミトグアゾン；ミトキサンtron；モピダンモール(mopidanmol)；ニトラエリン(nitraerine)；ペントスタチン；フェナメット；ピラルビシン；ロソキサンtron；ポドフィリン酸；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK(商標)多糖類複合体(JHS Natural Products、オレゴン州ユージーン)；ラゾキサン；リゾキシン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジコン；2,2',2''-トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン(特に、T-2毒素、ベラキュリン(verracurin)A、ロリジンA、及びアングイジン)；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミ

10

20

30

40

50

トプロニトール；ミトラクトール；ピポプロマン；ガシトシン(gacytosine)；アラビノシド(「Ara-C」)；シクロホスファミド；チオテバ；タキソイド、例えば、TAXOL(商標)のパクリタキセル(Bristol-Myers Squibb Oncology、ニュージャージー州プリンストン)、ABRAXANE(商標)のクレモホール不含のアルブミン操作されたパクリタキセルのナノ粒子製剤(American Pharmaceutical Partners、イリノイ州シャンバーグ)、及びTAXOTERE(商標)のドキセタキセル(Rhone-Poulenc Rorer、フランス国アントニー)；クロラムブシリ；GEMZAR(商標)のゲムシタбин；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトレキサート；シスプラチン、オキサリプラチン、及びカルボプラチン等の白金類似体；ビンプラスチン；白金；エトボシド(VP-16)；イホスファミド；ミトキサントロン；ビンクリスチン；NAVELBINE(商標)のビノレルビン；ノバントロン；テニポシド；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノブテリン；ゼローダ；イバンドロン酸塩；イリノテカン(Camptosar、CPT-11)(イリノテカンとともに5-FU及びロイコボリンの治療レジメンを含む)；トポイソメラーゼ阻害剤RFS-2000；ジフルオロメチルオルニチン(DMFO)；レチノイン酸等のレチノイド；カペシタбин；コンブレタスタチン；ロイコボリン(LV)；オキサリプラチン治療レジメン(FOLFIRI)を含むオキサリプラチン；細胞増殖を減少させるPKC、Raf、H-Ras、EGFR(例えば、エルロチニブ(TARCEVA(商標)))及びVEGFAの阻害剤、並びに上記のいずれかの薬学的に許容可能な塩、酸、又は誘導体が挙げられる。10

【0139】20

更なる非限定的な例示的な化学療法剤としては、例えばタモキシフェン(NOLVADEX(商標)のタモキシフェンを含む)、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン、及びFARESTON(商標)のトレミフェンを含む抗エストロゲン及び選択的エストロゲン受容体モジュレーター(SERM)等の癌に対するホルモン作用を調節又は阻害する作用を有する抗ホルモン剤；例えば、4(5)-イミダゾール、アミノグルテミド、MEGASE(商標)の酢酸メgestrol、AROMASIN(商標)のエキセメスタン、ホルメスタン、ファドロゾール、RIVISOR(商標)のボロゾール、FEMARA(商標)のレトロゾール、及びARIMIDEX(商標)のアナストロゾール等の副腎におけるエストロゲン産生を調節する酵素アロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害剤；並びにフルタミド、ニルタミド、ビカルタミド、ロイプロリド、及びゴセレリン等の抗アンドロゲン；並びにトロキサシタбин(1,3-ジオキソランスクレオシドシトシン類似体)；アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に、例えば、PKC、Ralf及びH-Ras等の異常な細胞増殖に関係するシグナル伝達経路における遺伝子の発現を阻害するアンチセンスオリゴヌクレオチド；VEGF発現阻害剤(例えば、ANGIOZYME(商標)リボザイム)及びHER2発現阻害剤等のリボザイム；遺伝子療法ワクチン、例えば、ALLOVETIN(商標)ワクチン、LEUVETIN(商標)ワクチン、及びVAXID(商標)ワクチン等のワクチン；PROLEUKIN(商標)(アルデスロイキン)のrIL-2；LURTOTECAN(商標)のトポイソメラーゼ1阻害剤；ABARELIX(商標)のGnRHアゴニスト；並びに上記のいずれかの薬学的に許容可能な塩、酸、又は誘導体が挙げられる。30

【0140】40

幾つかの実施形態において、CD123結合性ポリペプチド及び追加の作用物質は単一の治療用組成物へと製剤化され、CD123結合性ポリペプチド及び追加の作用物質は同時に投与される。代替的には、CD123結合性ポリペプチド又は操作された細胞と追加の作用物質とは互いに別々であり、例えば、それぞれが別個の治療用組成物へと製剤化され、CD123結合性ポリペプチド若しくは操作された細胞及び追加の作用物質は同時に投与される、又はCD123結合性ポリペプチド若しくは操作された細胞及び追加の作用物質は、治療レジメン中の異なる時間で投与される。例えば、CD123結合性ポリペプチド若しくは操作された細胞は追加の作用物質の投与前に投与される、CD123結合性ポ50

リペプチド若しくは操作された細胞は追加の作用物質の投与後に投与される、又は C D 1 2 3 結合性ポリペプチド若しくは操作された細胞及び追加の作用物質は交互に投与される。C D 1 2 3 結合性ポリペプチド及び追加の作用物質は、単回投与又は多回投与で投与され得る。

#### 【 0 1 4 1 】

幾つかの実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチド又は操作された細胞及び追加の作用物質（複数の場合もある）は同時に投与される。例えば、C D 1 2 3 結合性ポリペプチド及び追加の作用物質（複数の場合もある）は、単一の組成物で製剤化され得る、又は2つ以上の別個の組成物として投与され得る。幾つかの実施形態において、C D 1 2 3 結合性ポリペプチド若しくは操作された細胞及び追加の作用物質（複数の場合もある）は逐次に投与される、又はC D 1 2 3 結合性ポリペプチド若しくは操作された細胞及び追加の作用物質は治療レジメン中の異なる時間で投与される。

10

#### 【 0 1 4 2 】

##### 診断及び治療の非限定的な例示的な方法

幾つかの実施形態において、本明細書に記載される方法は、被験体及び／又は被験体（例えば、癌患者）からの検体を評価するのに有用である。幾つかの実施形態において、評価は、診断、予後診断、及び／又は治療への奏効のうちの1つ以上である。

#### 【 0 1 4 3 】

幾つかの実施形態において、本明細書に記載される方法は、タンパク質の存在、不存在、又はレベルを評価することを含む。幾つかの実施形態において、本明細書に記載される方法は、核酸の存在、不存在、又は発現のレベルを評価することを含む。これらの測定に本明細書に記載される組成物を使用することができる。例えば、幾つかの実施形態において、本明細書に記載される方法は、腫瘍の検体又は腫瘍から培養された細胞を、本明細書に記載される療法剤と接触させることを含む。

20

#### 【 0 1 4 4 】

幾つかの実施形態において、評価により、治療（本明細書に記載される抗体による治療を含む）が指示され得る。幾つかの実施形態において、評価により、切除後の補助療法を使用する又は差し控えることが指示され得る。補助治療とも呼ばれる補助療法は、一次治療、主治療、又は初回治療に加えてなされる治療である。非限定的な例として、補助療法は、全ての検出可能な疾患が取り除かれたが、潜在疾患のため再燃の統計的リスクが残っている場合に、通常は手術後になされる追加の治療であり得る。幾つかの実施形態において、ポリペプチドは、癌の治療における補助療法薬として使用される。幾つかの実施形態において、ポリペプチドは、癌の治療における単独補助療法薬として使用される。幾つかの実施形態において、本明細書に記載されるポリペプチドは、癌の治療における補助療法薬としては差し控えられる。例えば、患者が本明細書に記載される抗体に応答する可能性が低い又は最小限の応答しか有しない場合に、生活の質のために、及び無効な化学療法による不必要的毒性を避けるために、治療を施さないこともできる。このような場合に、緩和ケアが使用される場合がある。

30

#### 【 0 1 4 5 】

幾つかの実施形態において、ポリペプチドは、切除前に術前補助療法薬として投与される。幾つかの実施形態において、術前補助療法薬は、任意の手術の前に腫瘍を縮小及び／又はダウングレードする療法薬を指す。幾つかの実施形態において、術前補助療法薬は、手術前に癌患者に投与される化学療法薬を意味する。幾つかの実施形態において、術前補助療法薬は、手術前に癌患者に投与される抗体を意味する。術前補助化学療法薬が通常考慮される癌型には、例えば、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、子宮頸癌、膀胱癌、及び肺癌が含まれる。幾つかの実施形態において、ポリペプチドは、癌の治療における術前補助療法薬として使用される。幾つかの実施形態において、その使用は切除前である。

40

#### 【 0 1 4 6 】

幾つかの実施形態において、本明細書に記載される方法で企図される腫瘍微小環境は、腫瘍血管系、腫瘍浸潤リンパ球、線維芽細胞、内皮前駆細胞（E P C）、癌関連線維芽

50

細胞、周皮細胞、他の間質細胞、細胞外マトリックス（E C M）の成分、樹状細胞、抗原提示細胞、T細胞、制御性T細胞、マクロファージ、他のリンパ球細胞、好中球、及び腫瘍の近位に位置する他の免疫細胞の1つ以上である。

#### 【0147】

##### キット

本明細書に記載されるCD123結合性ポリペプチドのいずれか及び適切な包装を含む製品及びキットも提供される。幾つかの実施形態において、本発明は、(i) CD123結合性ポリペプチドと、(ii) 該キットを使用してCD123結合性ポリペプチドを個体に投与するための使用説明書とを含むキットを含む。

#### 【0148】

本明細書に記載される組成物に適切な包装は、当該技術分野で知られており、例えば、バイアル（例えば、密封バイアル）、容器、アンプル、ボトル、広口瓶、フレキシブルな包装（例えば、密封マイラー又はプラスチックバッグ）等が含まれる。これらの製造品は、更に滅菌及び/又は密封され得る。本明細書に記載される組成物を含む単位剤形も提供される。これらの単位剤形は、単回又は多回単位剤形で適切な包装内で保存され得て、更に滅菌及び密封もされ得る。本発明のキットに提供される使用説明書は、典型的には、ラベル又は添付文書（例えば、キットに含まれる紙シート）に書かれた指示であるが、機械可読の指示（例えば、磁気記憶ディスク又は光学記憶ディスクに保持された指示）も許容可能である。抗体の使用に関する使用説明書は一般に、意図された治療又は工業的使用のための投与量、投与スケジュール、及び投与経路に関する情報を含む。キットは、個々の適切な治療を選択することの説明を更に含み得る。

#### 【0149】

容器は、単位用量、バルク包装（例えば、多回用量包装）又はサブユニット用量であり得る。例えば、1週間、2週間、3週間、4週間、6週間、8週間、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月以上のいずれかの概数の期間等の長期間にわたって個体に効果的な治療をもたらすのに十分な用量の本明細書に開示される分子を含むキットも提供され得る。キットはまた、多回単位用量の分子及び使用説明書を含むことができ、薬局、例えば、病院薬局及び調剤薬局での保存及び使用に十分な量で包装され得る。幾つかの実施形態において、キットは、再構成、再懸濁、又は再水和することで、一般的に抗体の安定な水性懸濁液を形成することができる乾燥（例えば、凍結乾燥）組成物を含む。

#### 【実施例】

#### 【0150】

以下で論じられる実施例は、本発明を純粹に例示することが意図され、決して本発明を限定するとみなされるべきではない。これらの実施例は、以下の実験が、実施された全て又は唯一の実験であることを表すとは意図されない。使用される数値（例えば、量、温度等）に関して正確さを保証するための努力がなされたが、幾らかの実験誤差及び偏差が考慮に入れられるべきである。特段の指示が無い限り、部は重量部であり、分子量は平均分子量であり、温度は摂氏温度であり、圧力は大気圧であるか又は近大気圧である。

#### 【0151】

##### 実施例1：CD123シングルドメイン抗体

ヒトCD123を標的とするシングルドメイン抗体を、ヒトCD123細胞外ドメインの組換え型によるラマ及びアルパカの免疫化を介して作製した。

#### 【0152】

特異的な抗CD123抗体の力価が発生した後に、免疫された動物からの500mLの血液からラマ/アルパカ末梢血単核細胞（P B M C）を単離し、Qiagen RNeasy Maxiキットを使用して全mRNAを単離し、引き続きThermo Super script IV逆転写酵素及びオリゴ-d Tプライミングを使用して、ファーストストランドcDNAに変換した。このcDNAをテンプレートとして使用してPCRを介してV H H配列を特異的に增幅し、V H H - F c - A G A 2融合タンパク質として酵母表面ディスプレイベクターへとクローニングした。

10

20

30

40

50

## 【0153】

組換え形の C D 1 2 3 の E C D を使用して、磁気ビーズ分離に続いて蛍光活性化セルソーティング ( F A C S ) を介して、 V H H - F c - A G A 2 融合タンパク質を提示する酵母ライブラリーを濃縮した。選別された酵母をプレートアウトし、分離されたコロニーを採取して 9 6 ウェルプロックに入れ、表面提示された V H H - F c からの発現を培地への分泌に切り替える培地中で増殖させた。9 6 ウェルの酵母分泌培養物からの上清を、 C D 1 2 3 で一過性にトランスフェクションされた 2 9 3 F 細胞 ( C D 1 2 3 陽性) 又はトランスフェクションされていない 2 9 3 F 細胞 ( C D 1 2 3 陰性) に適用し、洗浄し、蛍光体標識された抗ヒト I g G 1 F c 二次抗体で処理し、9 6 ウェルのフローサイトメトリーによって分析した。

10

## 【0154】

C D 1 2 3 陽性細胞に結合して C D 1 2 3 陰性細胞には結合しない V H H をコードする核酸配列を、ヒト F c コーディング領域とインフレームで哺乳動物発現ベクターへとクローニングし、 H E K 2 9 3 F r e e s t y l e 細胞 ( 2 9 3 F 細胞) 又は C H O 細胞におけるポリエチレンイミンを使用した一過性トランスフェクションにより発現させた。3 日～7 日後に上清を回収し、分泌された組換えタンパク質をプロテイン A クロマトグラフィーにより精製し、2 8 0 n m での吸光度及び吸光係数から濃度を計算した。

## 【0155】

C D 1 2 3 に結合する V H H ドメインを含むシングルドメイン抗体 ( s d A b ) のエピトープを、バイオレイヤー干渉測定法を使用して比較した。5 μ g / m L のヒスチジンタグ付きヒト C D 1 2 3 を、ニッケル - ニトリロ三酢酸 ( N i - N T A ) でコーティングされたキャプチャセンサー上に固定化した。次いで、1 0 0 n M の 1 つ s d A b を C D 1 2 3 抗原へとロードし、平衡化させた。次いで、センサーを 1 0 0 n M の第 2 の s d A b 中に移した。アッセイシグナルの増加は結合を表し、第 2 の s d A b が第 1 の s d A b のエピトープとは異なるエピトープを標的とすることを示している。

20

## 【0156】

ヒト V H 3 - 2 3 生殖細胞系列を足場として使用して、ラクダ科由来の C D 1 2 3 V H H をヒト化した。溶解性、特異性、安定性、及び / 又は親和性に寄与するラクダ科の残部は改変しないままにした。さらに、可能であれば、必要に応じて、潜在的な開発可能性の不利益を招くアミノ酸配列を改変して、このリスクを軽減した。さらに、全てのヒト化変異体は、米国特許出願公開第 2 0 1 6 / 0 2 0 7 9 8 1 号に記載される L e u 1 1 G 1 u ( L 1 1 E ) 改変を含んでいた。

30

## 【0157】

これらの結果は、A 5 、 F 3 、 C 5 、 1 B 1 1 、 1 F 5 、及び 4 F 2 の s d A b のヒト化型の中で 4 つの異なるエピトープが見出されたことを示している。図 1 A に示されるように、試験された s d A b のいずれも、 h z A 5 v 2 の s d A b と同じエピトープを有しない。図 1 B に示されるように、 C 5 及び h z 1 F 5 v 1 の s d A b は、 h z F 3 v 2 2 の s d A b と同じであり、 h z 1 B 1 1 v 2 8 及び h z 4 F 2 v 3 の s d A b のエピトープとは異なるエピトープを有する。図 1 C に示されるように、 h z 4 F 2 v 3 の s d A b は、 h z 1 B 1 1 v 2 8 の s d A b とは異なるエピトープを有する。結果の概要を以下の表 3 に示す。

40

## 【0158】

50

## 【表3】

表3

sdAb	エピトープビン
hzA5v2	1
hzF3v22	2
C5	2
hz1F5v1	2
hz1B11v28	3
hz4F2v3	4

10

20

30

40

## 【0159】

## 実施例2：CD123へのポリペプチドの結合

ヒトCD123へのsdAbの結合をフローサイトメトリーによって評価した。各sdAbは、以下の表4に示されるVHHドメインと、EUナンバリングによるアミノ酸Glu233、Leu234、及びLeu235が欠失されたヒトIgG1×ELLのFc領域とを含んでいた（配列番号55）。HEK293細胞を、完全長CD123（Uniprotアクセション番号P26951-1；成熟形、配列番号1）をコードするプラスミドで一過性にトランスフェクションし、図2A～図2Mにおける陽性細胞系統として使用し、トランスフェクションされていないHEK293細胞をCD123陰性細胞として使用した。図2Nでは、CD123を発現するMolm-13細胞を陽性細胞系統として使用した。各細胞型を、96ウェル丸底プレートにおいてFACSバッファー（PBS 1%BSA、0.1%NaN<sub>3</sub> pH7.4）中で30000個の細胞/ウェルにて播種した。sdAbをFACSバッファー中に3倍の11点段階希釈において希釈した。播種した細胞にsdAb希釈物を加え、アッセイプレートを4℃で30分間インキュベートした。150μLのFACSバッファー中に2回洗浄した後に、各ウェル中の細胞を、A1exa Fluor 647結合された二次抗ヒトIgGのFACSバッファー中の1:2000希釈物100μL中に再懸濁し、4℃で30分間インキュベートした。細胞を更に2回洗浄した後に、結合された抗体をフローサイトメトリーによって検出した。

## 【0160】

InteliciteのiQue Plusにおいてフローサイトメトリー分析を行い、蛍光を中心蛍光強度としてプロットした。見かけの親和性（Kd、nM）を、PRISMグラフソフトウェアにおいて1サイト結合非線形回帰を使用して決定した。

## 【0161】

図2A～図2Nに示されるように、試験されたsdAbはCD123結合を示し、CD123を発現しないトランスフェクションされていないHEK293細胞には結合しなかった。見かけの結合親和性を以下の表4に示す。

## 【0162】

50

## 【表4】

表4

sdAb	見かけの $K_d$ (nM)	V H H ドメインの配列番号
A5-IgG1	0.12	2
hzA5v2-IgG1	0.11	26
F3-IgG1	0.53	18
hzF3v22-IgG1	0.59	29
hzF3v26-IgG1	0.93	30
1F5-IgG1	0.97	22
hz1F5v1-IgG1	0.58	31
hz1F5v2-IgG1	0.92	32
1B11-IgG1	0.52	6
hz1B11v28-IgG1	0.96	27
4F2-IgG1	1.37	14
hz4F2v3-IgG1	2.40	28
hz1F5v6-IgG1	1.36	92

10

20

30

40

## 【0163】

## 実施例3：IL-3へのCD123結合の阻害

固定量の組換えIL-3-mFcの存在下でCD123を発現するHEK-293細胞に対するsdAbの力価測定をすることにより、或る特定のCD123結合性sdAbを、IL-3へのCD123結合を遮断する能力について試験した。結合されたIL-3を、蛍光体結合された抗マウスIgG特異的二次抗体を使用してフローサイトメトリーによって検出した。

## 【0164】

その実験の結果は図3に示されている。A5、C5、及びF3のsdAbは全てIL-3へのCD123結合を遮断することができた(図3A)。hz1F5v1及び抗CD123抗体の類似体CSL362(米国特許出願公開第2013/0137855号を参照)もIL-3へのCD123結合を遮断することができた(図3B)。

## 【0165】

本開示は、本開示の趣旨又は本質的な特徴から逸脱することなく、他の特定の形態で具体化され得る。したがって、上述の実施形態は、全ての点で例示としてみなされるべきであって、本開示を限定するものとはみなされない。したがって、本開示の範囲は、上述の詳細な説明ではなく、添付の特許請求の範囲によって示されるため、特許請求の範囲の意味及び均等の範囲内にある全ての変更は、本明細書に含まれることが意図される。

## 【0166】

50

【表 5】

或る特定の配列の表

配列番号	説明	配列
1	ヒト C D 1 2 3、成熟鎖	TKEDPNPPITNLRMKAKAQQLTWDLNRNVTDIECVKDADYSMPAVNNSYCQFGAISLC EVTNYTVRVANPPFSTWILFPENSGKPWAGAENLTCWIHDVDFLCSWAVGPGAPADV QYDLYLNVANRRQQYECLHYKTDAQGTRIGCRFDDISRLSSGSQSSHILVRGRSAAFG IPCTDKFVVFSQIEILTPPNMTAKCNKTHSFMHWKMRSHFNRFKRYELQIQKRMQPVI TEQVRDRTSFQLLNPGBTYVQIRARERVYEFLSAWSTPQRFECQEEGANTRAWTSL LIALGTLLALVCVFVICRRLVMQRLFPRIPHMKDPIDGSFQNDKLVVWEAGKAGLEE CLVTEVQVQVQKT
2	A5	EVQLVQSGGGLVQAGGSLRLSCAVSGGTFSYYGMMAWFQPPGKEREWVASNSWIAGST YYAGSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADLLATADDEYDYWGQGTQ VTV
3	A5 CDR1	GGTFSSYGM
4	A5 CDR2	SNSWIAGSTY
5	A5 CDR3	DLLATADDEYDY
6	1B11	QVQLVQSGGGSVQAGGSLRLSCAAAGRQTQSAVAMGWFRQDPGKDRDFVAIRWSGGNT YYADSAEGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYSCAISMNHFGMYDYWGQGTQVT V
7	1B11 CDR1	GRTQSAVAMG
8	1B11 CDR2	AIRWSGGNTY
9	1B11 CDR3	SMNHFGMYDY
10	C5	QVTLRESGGGLVQAGGSLRLSCKGSGRAINTYAMGWFRQAPGKEREFVAAISWNGGHT RYADSVQGRFAISRDNAADNTMYLQMNSLKPEDTAVYHCAAYSODYHRIATMEADADSWG QGTQVTV
11	C5 CDR1	GRAINTYAMG
12	C5 CDR2	AISWNGGHTR
13	C5 CDR3	YSDYHRIATMEADADS
14	4F2	EVQLVQSGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTVSNYPMAWFQAPGKEREFVAHISWSGITS ILNSVNDRTISRDNAKNTIYLQMNSLKPEDTAVYYCAAQRPTAGPKGPFGYWGQGT QVTV
15	4F2 CDR1	GRTVSNYPMA
16	4F2 CDR2	HISWSGITS
17	4F2 CDR3	AQRPTAGPKGPFGY
18	F3	EVQLVQSGGGLVQAGGSLRLSCRASGRAINSYNMGWFRQAPGKEREFVSAINWNGART YYQDALKGRAISRDNARNNTMYLQMNNLKPEDTAVYYCAAAGRWSAAVPSGEDQYNFW GQGTQVTV
19	F3 CDR1	GRAINSYNMG
20	F3 CDR2	AINWNGARTY
21	F3 CDR3	AGRWSAAVPSGEDQYNF
22	1F5	QVQLVQSGGGLVQAGGSLTVSCTASGRAINMYAMGWFRQAPGKEREFVAAINWNGAYT QYADSVKGRFTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAQYYCSADADYNTYVSPNKRVSYWG QGTQVTV
23	1F5 CDR1	GRAINMYAMG
24	1F5 CDR2	AINWNGAYTQ
25	1F5 CDR3	DADYNTYVSPNKRVSY
26	hzA5v2	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASGGTFSSYGMMAWFQAPGKEREWVASNSWIAGST

10

20

30

40

50

		YYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCAADLLATADDEYDYWGQGTL VTV
27	hz1B11v28	EVQLVESGGEVQPGGLRLSCAASGRTVSNYPMAWRQAPGKEREFAHISWSGITS YYAESVEGRFTISRDNAKNTVYLQMSSLRAEDTAVYSCAISLNHFGLYDYWGQGTLVT V
28	hz4F2v3	EVQLVESGGEVQPGGLRLSCAASGRTVSNYPMAWRQAPGKEREFAHISWSGITS ILNSVNDRFTISRDNAKNTIYLQMSSLRAEDTAVYYCAAQRPTAGPKGPFGYWGQGTL V
29	hzF3v22	EVQLVESGGGLVQPGGLRLSCAASGRAINAYNMGWFRQAPGKGREFVSAINWNAART YYAESVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCAASGRWSAAVPSGEDQYNFW GQGTLVT
30	hzF3v26	EVQLVESGGGLVQPGGLRLSCRASGRAINAYNMGWFRQAPGKGREFVSAINWNAART YYAESVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCAASGRWSAAVPSGEDQYNFW GQGTLVT
31	hz1F5v1	EVQLVESGGEVQPGGLRLSCAASGRAINMYAMGWFRQAPGKEREFAAINWNGAYT QYAESVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCSADADYNTYVSPNKRVSYWG QGTLVT
32	hz1F5v2	EVQLVESGGEVQPGGLRLSCTASGRAINMYAMGWFRQAPGKEREFAAINWNGAYT QYAESVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCSADADYNTYVSPNKRVSYWG QGTLVT
33	h z A 5 v 2 の C D R 1	GGTFSSYGM
34	h z A 5 v 2 の C D R 2	SNSWIAGSTY
35	h z A 5 v 2 の C D R 3	DLLATADDEYDY
36	h z 1 B 1 1 v 2 8 の C D R 1	GRTQSAVAMG
37	h z 1 B 1 1 v 2 8 の C D R 2	AIRWSGGNTY
38	h z 1 B 1 1 v 2 8 の C D R 3	SLNHFGLYDY
39	h z 4 F 2 v 3 の C D R 1	GRTVSNYPMA
40	h z 4 F 2 v 3 の C D R 2	HISWSGITS
41	h z 4 F 2 v 3 の C D R 3	AQRPTAGPKGPFGY
42	h z F 3 v 2 2 の C D R 1	GRAINAYNMG
43	h z F 3 v 2 2 の C D R 2	AINWNAARTY
44	h z F 3 v 2 2 の C D R 3	SGRWSAAVPSGEDQYNF
45	h z F 3 v 2 6 の C D R 1	GRAINAYNMG
46	h z F 3 v 2 6 の C D R 2	AINWNAARTY
47	h z F 3 v 2 6 の C D R 3	SGRWSAAVPSGEDQYNF
48	h z 1 F 5 v 1 の C D R 1	GRAINMYAMG

10

20

30

40

50

49	h z 1 F 5 v 1 の C D R 2	AINWNGAYTQ
50	h z 1 F 5 v 1 の C D R 3	DADYNTYVSPNKRVSY
51	h z 1 F 5 v 2 の C D R 1	GRAINMYAMG
52	h z 1 F 5 v 2 の C D R 2	AINWNGAYTQ
53	h z 1 F 5 v 2 の C D R 3	DADYNTYVSPNKRVSY
92	hz1F5v6	EVQLVESGGEVQPGGSLRLSCAASGRAINMYAMGWFRQAPGKEREFAA INWNAAYTQYAESVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCSADADYNTYVSPNKRVSYWG QGTLVTVKP
93	h z 1 F 5 v 6 の C D R 1	GRAINMYAMG
94	h z 1 F 5 v 6 の C D R 2	AINWNAAYTQ
95	h z 1 F 5 v 6 の C D R 3	DADYNTYVSPNKRVSY
54	ヒト I g G 1 の F c 領域	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLTSKLTVDKSRWQQGVFSCVMHEALHNHTQKSLSLSPGK
55	ヒト I g G 1 の x E L L F c 領域	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLTSKLTVDKSRWQQGVFSCVMHEALHNHTQKSLSLSPGK
56	F c 領域 M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 V (Y V) S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノブ	DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPPKD TLYISRTPEV CVVVDVSHED PEV KFNWYVD GVEVHNAKT PREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEY CKVSNK ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPCRDELTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAV E WESNGQPENN YKTPPVLD DSFFLTSKL TVDKSRWQQ NVFSCSVVHE A LHNHTQKS SLSLSPGK
57	F c 領域 M 2 5 2 Y 、 M 4 2 8 V 、 H 4 3 5 R (Y V R) T 3 6 6 S 、 L 3 6 8 A 、 Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPPKD TLYISRTPEV CVVVDVSHED PEV KFNWYVD GVEVHNAKT PREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEY CKVSNK ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAV E WESNGQPENN YKTPPVLD DSFFLTSKL TVDKSRWQQ NVFSCSVVHE A LHNRYTQKS SLSLSPGK
58	F c 領域 x E L L H 4 3 5 R	DKTHTC PPCPAPGGPS VFLFPPPKD TLmisrtpev TCVVVDVSHE DPEVKFN WYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTIKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFPYPSDIAV EW ESNGQPEN NYKTPPVLD SDGSFFLTSKL TVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHN HYTQK SLSLSPGK
59	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 V (Y V)	DKTHTC PPCPAPGGPS VFLFPPPKD TLYISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFN WYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTIKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFPYPSDIAV EW ESNGQPEN NYKTPPVLD SDGSFFLTSKL TVDKSRWQQ GNVFSCSVVH EALHN HYTQK SLSLSPGK
60	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 L	DKTHTC PPCPAPGGPS VFLFPPPKD TLYISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFN WYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTIKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFPYPSDIAV EW

10

20

30

40

50

	(Y L)	ESNGQOPEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVLH EALHN HYTQK SLSLSPGK
61	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y、M 4 2 8 L、H 4 3 5 R (Y L R)	DKTHTC PPCPAPGGPS VFLFPPKPKD TLYISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFN WV DGVEVNAKT KPREEQYNST YRVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EW ESNGQOPEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVLH EALHN RYTQK SLSLSPGK
62	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y、M 4 2 8 V、H 4 3 5 R (Y V R)	DKTHTC PPCPAPGGPS VFLFPPKPKD TLYISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFN WV DGVEVNAKT KPREEQYNST YRVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EW ESNGQOPEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVVH EALHN RYTQK SLSLSPGK
63	F c 領域 x E L L S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノ ブ	DKTHTC PPCPAPGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFN WV DGVEVNAKT KPREEQYNST YRVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPCRDELT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAV EW ESNGQOPEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHN HYTQK SLSLSPGK
64	F c 領域 x E L L H 4 3 5 R S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノ ブ	DKTHTC PPCPAPGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFN WV DGVEVNAKT KPREEQYNST YRVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPCRDELT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAV EW ESNGQOPEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHN RYTQK SLSLSPGK
65	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 V (Y V) S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノ ブ	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDEVKFNWYV DG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK
66	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 L (Y L) S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノ ブ	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDEVKFNWYV DG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK
67	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y、M 4 2 8 L、H 4 3 5 R (Y L R) S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノ ブ	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDEVKFNWYV DG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVHEALHNRYTQKSLSLSPGK
68	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y、M 4 2 8 V、H 4 3 5 R (Y V R) S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノ ブ	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDEVKFNWYV DG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVHEALHNRYTQKSLSLSPGK
69	F c 領域 x E L L T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDEVKFNWYV DG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPV LDSDGSFFLVSCLTVDSRWWQQGNVFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

70	F c 領域 x E L L H 4 3 5 R、 T 3 6 6 S、 L 3 6 8 A、 Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI KGQPREPVQVTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK LDSDGSFFLVSCLTVDKSRWQQGNVFCSVHEALHNRYTQKSLSLSPGK
71	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 V (Y V) T 3 6 6 S、 L 3 6 8 A、 Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI KGQPREPVQVTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK LDSDGSFFLVSCLTVDKSRWQQGNVFCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK
72	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 L (Y L) T 3 6 6 S、 L 3 6 8 A、 Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI KGQPREPVQVTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK LDSDGSFFLVSCLTVDKSRWQQGNVFCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK
73	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y、 M 4 2 8 L、 H 4 3 5 R (Y L R) T 3 6 6 S、 L 3 6 8 A、 Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI KGQPREPVQVTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK LDSDGSFFLVSCLTVDKSRWQQGNVFCSVHEALHNRYTQKSLSLSPGK
74	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y、 M 4 2 8 V、 H 4 3 5 R (Y V R) T 3 6 6 S、 L 3 6 8 A、 Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI KGQPREPVQVTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK LDSDGSFFLVSCLTVDKSRWQQGNVFCSVHEALHNRYTQKSLSLSPGK
75	F c 領域 H 4 3 5 R	DKTHTCPPCP APELLGGPS VFLFPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEV KFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNK ALP APIEKTIKA KGQPREPVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVH EA LHNHYTQK SLSLSPGK
76	F c 領域 M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 V (Y V)	DKTHTCPPCP APELLGGPS VFLFPKPKD TLYISRTPEV TCVVVDVSHE DPEV KFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNK ALP APIEKTIKA KGQPREPVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVH EA LHNHYTQK SLSLSPGK
77	F c 領域 M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 L (Y L)	DKTHTCPPCP APELLGGPS VFLFPKPKD TLYISRTPEV TCVVVDVSHE DPEV KFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNK ALP APIEKTIKA KGQPREPVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVLH EA LHNHYTQK SLSLSPGK
78	F c 領域 M 2 5 2 Y、 M 4 2 8	DKTHTCPPCP APELLGGPS VFLFPKPKD TLYISRTPEV TCVVVDVSHE DPEV KFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNK

10

20

30

40

50

	L、H 4 3 5 R (Y L R)	ALP APIEKTIKSA KGQPREPVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDI EWESNGQPEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVLH EA LHNRYTQK SLSLSPGK
79	F c 領域 M 2 5 2 Y 、 M 4 2 8 V 、 H 4 3 5 R (Y V R)	DKTHTCPPCP APELLGGPS VFLFPKPKD TLYISRPEV TCVVVDVSHE DPEV KFNWYV DGVEVHNART KPREEQYNST YRVVSLTBL HQDWLNGKEY KCKVSNK ALP APIEKTIKSA KGQPREPVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDI EWESNGQPEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVHH EA LHNRYTQK SLSLSPGK
80	F c 領域 S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノブ	DKTHTCPPCP APELLGGPS VFLFPKPKD TLMISRPEV TCVVVDVSHE DPEV KFNWYV DGVEVHNART KPREEQYNST YRVVSLTBL HQDWLNGKEY KCKVSNK ALP APIEKTIKSA KGQPREPVY TLPPCRDELT KNQVSLWCLV KGFYPSDI EWESNGQPEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EA LHNHYTQK SLSLSPGK
81	F c 領域 H 4 3 5 R S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノブ	DKTHTCPPCP APELLGGPS VFLFPKPKD TLMISRPEV TCVVVDVSHE DPEV KFNWYV DGVEVHNART KPREEQYNST YRVVSLTBL HQDWLNGKEY KCKVSNK ALP APIEKTIKSA KGQPREPVY TLPPCRDELT KNQVSLWCLV KGFYPSDI EWESNGQPEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EA LHNRYTQK SLSLSPGK
82	F c 領域 M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 L (Y L) S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノブ	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKD TLYISRPEV TCVVVDVSHE DPEV KFNWYV DGVEVHNARTKPREEQYNSTYRVVSLTBLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI EWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVLHEAHNHYTQKSLSLSPGK
83	F c 領域 M 2 5 2 Y 、 M 4 2 8 L 、 H 4 3 5 R (Y L R) S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノブ	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKD TLYISRPEV TCVVVDVSHE DPEV KFNWYV DGVEVHNARTKPREEQYNSTYRVVSLTBLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI EWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVLHEAHNRYTQKSLSLSPGK
84	F c 領域 M 2 5 2 Y 、 M 4 2 8 V 、 H 4 3 5 R (Y V R) S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノブ	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKD TLYISRPEV TCVVVDVSHE DPEV KFNWYV DGVEVHNARTKPREEQYNSTYRVVSLTBLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI EWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVLHEAHNRYTQKSLSLSPGK
85	F c 領域 T 3 6 6 S 、 L 3 6 8 A 、 Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKD TLMISRPEV TCVVVDVSHE DPEV KFNWYV DGVEVHNARTKPREEQYNSTYRVVSLTBLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPSDI EWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMHEAHNHYTQKSLSLSPGK
86	F c 領域 H 4 3 5 R 、 T 3 6 6 S 、 L 3 6 8 A 、 Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKD TLMISRPEV TCVVVDVSHE DPEV KFNWYV DGVEVHNARTKPREEQYNSTYRVVSLTBLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPSDI EWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMHEAHNRYTQKSLSLSPGK
87	F c 領域 M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 V (Y V) T 3 6 6 S 、 L 3 6 8 A 、 Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKD TLYISRPEV TCVVVDVSHE DPEV KFNWYV DGVEVHNARTKPREEQYNSTYRVVSLTBLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPSDI EWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSVLHEAHNHYTQKSLSLSPGK
88	F c 領域 M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 L (Y L)	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKD TLYISRPEV TCVVVDVSHE DPEV KFNWYV DGVEVHNARTKPREEQYNSTYRVVSLTBLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPSDI EWESNGQPENNYKTT

10

20

30

40

50

	T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	PPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSVHLHEALHNHYTQKSLSLSPGK
89	F c 領域 M 2 5 2 Y、M 4 2 8 L、H 4 3 5 R (Y L R) T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSVHLHEALHNRYTQKSLSLSPGK
90	C D 1 2 3 の E C D	TKEDPNPPITNLRMKAKAQQLTWDLNRNVTDIECVKDADYSMPAVNNSYCQFGAISLC EVTNYTVRVANPPFSTWILFPENSGKPWAGAENLTCWIHDVDFLSCSWAVGPGAPADV QYDLYLNVNANRRQQYECLHYKTDAQGTRIGCRFDDISRLSSGSQSSHILVRGRSAAFG IPCTDKFVVFSQIEILTPPNMTAKCNKTHSFMHWKMRSHFNRKFRYELQIQKRMQPVI TEQVRDRRTSFQLLNPGTYTVQIRARERVYEFLSAWSTPQRFECDQEEGANRAWR
91	H i s タグ付き C D 1 2 3 の E C D	TKEDPNPPITNLRMKAKAQQLTWDLNRNVTDIECVKDADYSMPAVNNSYCQFGAISLC EVTNYTVRVANPPFSTWILFPENSGKPWAGAENLTCWIHDVDFLSCSWAVGPGAPADV QYDLYLNVNANRRQQYECLHYKTDAQGTRIGCRFDDISRLSSGSQSSHILVRGRSAAFG IPCTDKFVVFSQIEILTPPNMTAKCNKTHSFMHWKMRSHFNRKFRYELQIQKRMQPVI TEQVRDRRTSFQLLNPGTYTVQIRARERVYEFLSAWSTPQRFECDQEEGANTRAWRGGS GGSHHHHHHHHHHH

## 【図面】

【図 1 A】

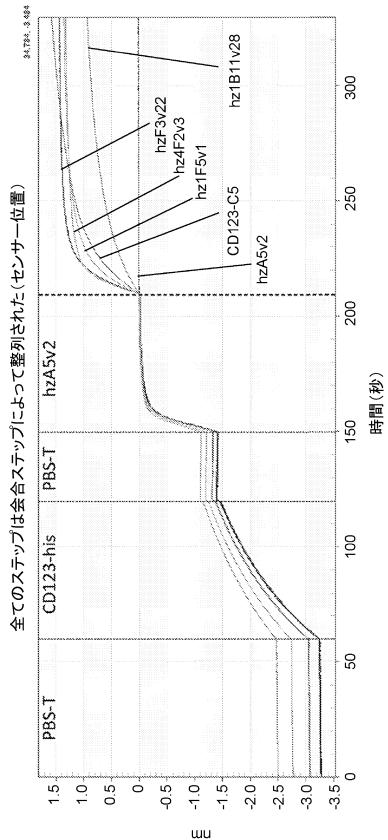


FIG. 1A

【図 1 B】

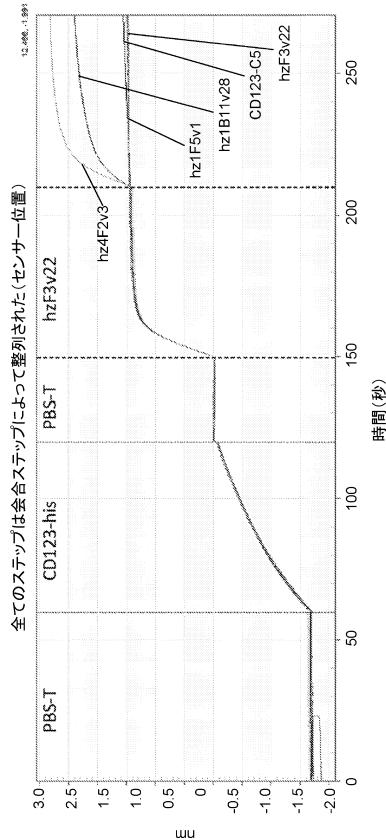


FIG. 1B

10

20

30

40

50

【図 1 C】

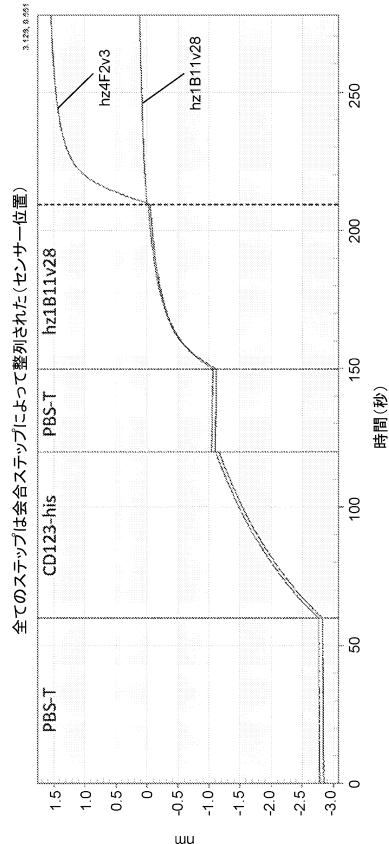


FIG. 1C

【図 2 A】

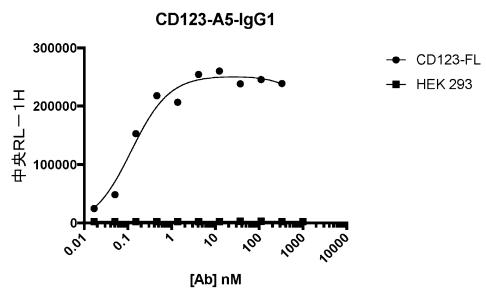


FIG. 2A

10

20

30

40

50

【図 2 B】

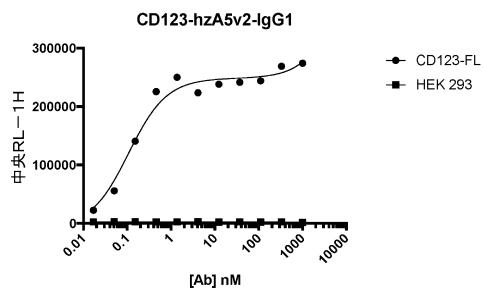


FIG. 2B

【図 2 C】

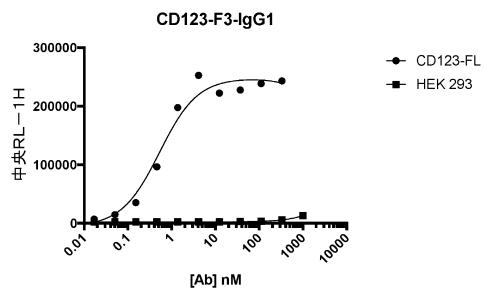


FIG. 2C

【図2D】

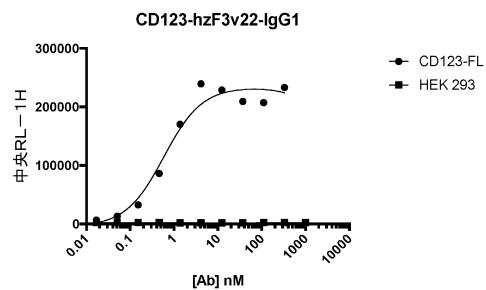


FIG. 2D

【図2E】

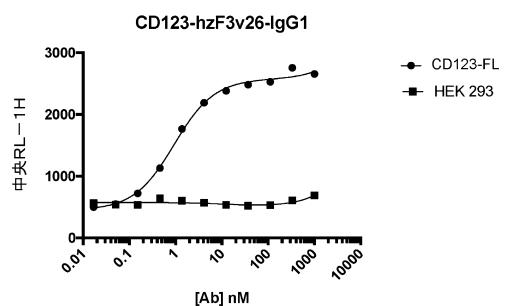


FIG. 2E

10

【図2F】

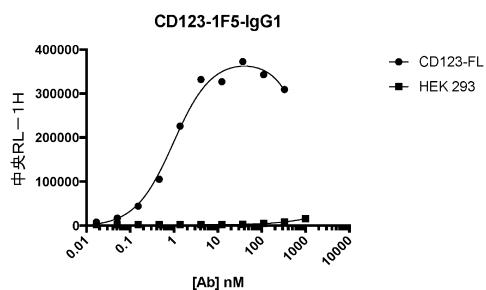


FIG. 2F

【図2G】

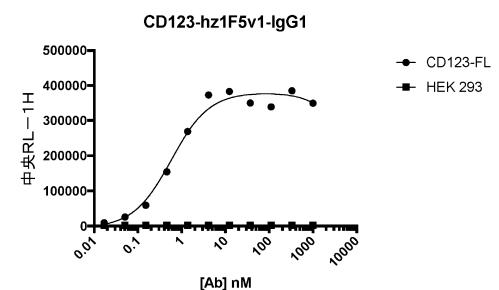


FIG. 2G

20

【図2H】

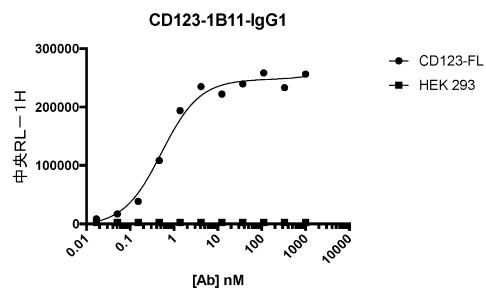


FIG. 2H

【図2I】

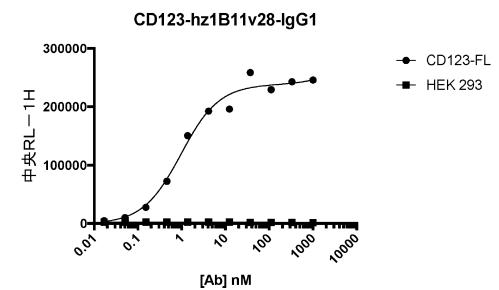


FIG. 2I

30

40

50

【図2 J】

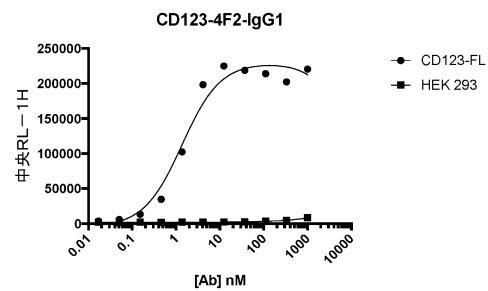


FIG. 2J

【図2 K】

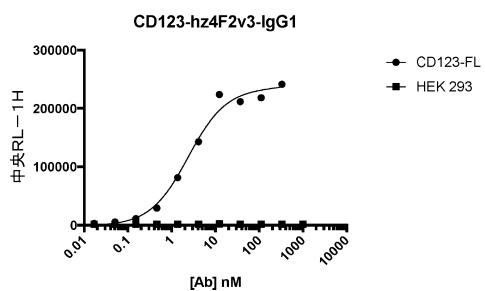


FIG. 2K

10

【図2 L】

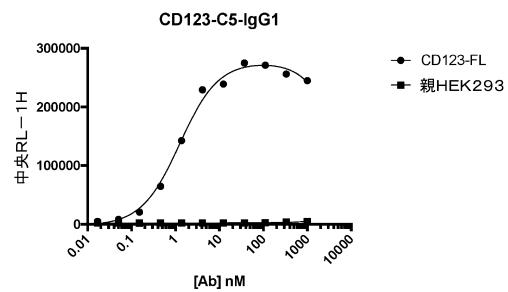


FIG. 2L

20

【図2 M】

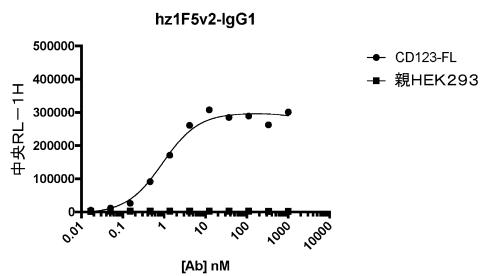


FIG. 2M

【図2 N】

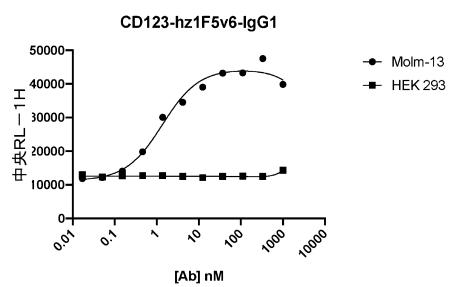


FIG. 2N

【図3 A】

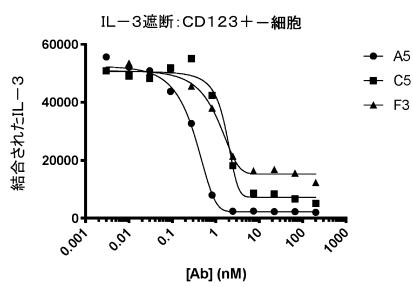


FIG. 3A

30

40

50

【図3B】

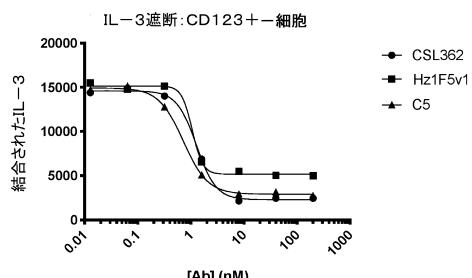


FIG. 3B

10

【配列表】

2022532868000001.app

20

30

40

50

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/US2020/030968																
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. C07K16/28 ADD.																		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K																		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched																		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  EPO-Internal																		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Category*</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Relevant to claim No.</th> <th style="text-align: right; padding: 2px;">20</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">WO 2015/044386 A1 (ABLYNX NV [BE]) 2 April 2015 (2015-04-02) figure 1.2; examples 1.1, 1.3; tables 3,5 -----</td> <td style="padding: 2px;">1-42</td> <td style="text-align: right; padding: 2px;">20</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">WO 2018/102795 A2 (UNIV SOUTHERN CALIFORNIA [US]) 7 June 2018 (2018-06-07) paragraph [551552]; claim 68; sequences 1467, 4591 -----</td> <td style="padding: 2px;">1-42</td> <td></td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">WO 2018/091606 A1 (ABLYNX NV [BE]) 24 May 2018 (2018-05-24) claims A-4, C-8, C-9, C-13; examples 10-13,20,25 -----</td> <td style="padding: 2px;">1-42</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	20	X	WO 2015/044386 A1 (ABLYNX NV [BE]) 2 April 2015 (2015-04-02) figure 1.2; examples 1.1, 1.3; tables 3,5 -----	1-42	20	X	WO 2018/102795 A2 (UNIV SOUTHERN CALIFORNIA [US]) 7 June 2018 (2018-06-07) paragraph [551552]; claim 68; sequences 1467, 4591 -----	1-42		X	WO 2018/091606 A1 (ABLYNX NV [BE]) 24 May 2018 (2018-05-24) claims A-4, C-8, C-9, C-13; examples 10-13,20,25 -----	1-42	
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	20															
X	WO 2015/044386 A1 (ABLYNX NV [BE]) 2 April 2015 (2015-04-02) figure 1.2; examples 1.1, 1.3; tables 3,5 -----	1-42	20															
X	WO 2018/102795 A2 (UNIV SOUTHERN CALIFORNIA [US]) 7 June 2018 (2018-06-07) paragraph [551552]; claim 68; sequences 1467, 4591 -----	1-42																
X	WO 2018/091606 A1 (ABLYNX NV [BE]) 24 May 2018 (2018-05-24) claims A-4, C-8, C-9, C-13; examples 10-13,20,25 -----	1-42																
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.																		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority, claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed																		
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family																		
Date of the actual completion of the international search  10 July 2020	Date of mailing of the international search report  20/07/2020																	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.O. Box 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040. Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer  Siaterli, Maria																	

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/US2020/030968

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- forming part of the international application as filed:
    - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
    - on paper or in the form of an image file.
  - furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
  - furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
    - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
    - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2.  In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

10

20

30

40

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No PCT/US2020/030968
---

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 2015044386	A1 02-04-2015	AU 2014326674 A1 CA 2925061 A1 CN 105814082 A EP 3049439 A1 JP 2016538242 A PT 3049439 T US 2016251440 A1 WO 2015044386 A1		28-04-2016 02-04-2015 27-07-2016 03-08-2016 08-12-2016 31-03-2020 01-09-2016 02-04-2015
WO 2018102795	A2 07-06-2018	AU 2017366739 A1 BR 112019011277 A2 CA 3044682 A1 CL 2019001480 A1 CN 110352068 A CO 2019007092 A2 EP 3548055 A2 JP 2020500530 A KR 20190101979 A PH 12019501227 A1 WO 2018102795 A2		06-06-2019 22-10-2019 07-06-2018 31-01-2020 18-10-2019 18-09-2019 09-10-2019 16-01-2020 02-09-2019 21-10-2019 07-06-2018
WO 2018091606	A1 24-05-2018	AU 2017361846 A1 BR 112019010061 A2 CA 3043515 A1 CN 110177809 A EP 3541846 A1 JP 2020500510 A KR 20190080934 A US 2020157216 A1 WO 2018091606 A1		30-05-2019 13-08-2019 24-05-2018 27-08-2019 25-09-2019 16-01-2020 08-07-2019 21-05-2020 24-05-2018

## フロントページの続き

(51)国際特許分類 F I テーマコード(参考)

C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	7/00 (2006.01)	A 6 1 P	7/00	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68	

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

ニアラホヤノーストーリーパインズロード 11025 スイート 200 シー／オー インヒブルクス インコーポレイテッド

(72)発明者 クラゴ ウィリアム

アメリカ合衆国 92037 カリフォルニアラホヤノーストーリーパインズロード 110  
25 スイート 200 シー／オー インヒブルクス インコーポレイテッド

(72)発明者 ホーランド アンドリュー

アメリカ合衆国 92037 カリフォルニアラホヤノーストーリーパインズロード 110  
25 スイート 200 シー／オー インヒブルクス インコーポレイテッド

(72)発明者 マー ミルトン

アメリカ合衆国 92037 カリフォルニアラホヤノーストーリーパインズロード 110  
25 スイート 200 シー／オー インヒブルクス インコーポレイテッド

(72)発明者 ティマー ジョン シー。

アメリカ合衆国 92037 カリフォルニアラホヤノーストーリーパインズロード 110  
25 スイート 200 シー／オー インヒブルクス インコーポレイテッド

(72)発明者 エッケルマン ブレンダン ピー。

アメリカ合衆国 92037 カリフォルニアラホヤノーストーリーパインズロード 110  
25 スイート 200 シー／オー インヒブルクス インコーポレイテッド

F ターム(参考) 4B064 AG26 AG27 CA19 CC24 DA01

4B065 AA01X AA57X AA83X AA87X AA90X AA90Y AB01 AC14 BA02 BD25  
CA25 CA44

4C076 AA95 CC27 EE41 EE59 FF67

4C084 AA17 NA05 NA06 NA07 NA14 ZA511 ZA512 ZB261 ZB262 ZB271  
ZB272 ZC75

4C085 AA14 BB11 CC01 DD62 EE01 EE03

4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA40 CA40 DA75 DA76 EA20  
FA74