(19)日本国特許庁(JP)

# (12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7676304号
(P7676304)

(45)発行日　令和7年5月14日(2025.5.14)

(24)登録日　令和7年5月2日(2025.5.2)

(51)国際特許分類

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| *Ａ６１Ｋ　39/395 (2006.01)* | Ａ６１Ｋ | 39/395 | Ｎ | |
| *Ａ６１Ｋ　9/08 (2006.01)* | Ａ６１Ｋ | 9/08 | | |
| *Ａ６１Ｋ　9/19 (2006.01)* | Ａ６１Ｋ | 9/19 | | |
| *Ｃ０７Ｋ　16/46 (2006.01)* | Ｃ０７Ｋ | 16/46 | | |
| *Ｃ０７Ｋ　16/28 (2006.01)* | Ｃ０７Ｋ | 16/28 | ＺＮＡ | |

ＦＩ

請求項の数　50　（全76頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2021-517615(P2021-517615)
(86)(22)出願日　令和1年9月27日(2019.9.27)
(65)公表番号　特表2022-512569(P2022-512569A)
(43)公表日　令和4年2月7日(2022.2.7)
(86)国際出願番号　PCT/US2019/053462
(87)国際公開番号　WO2020/072306
(87)国際公開日　令和2年4月9日(2020.4.9)
審査請求日　令和4年9月5日(2022.9.5)
(31)優先権主張番号　62/739,542
(32)優先日　平成30年10月1日(2018.10.1)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者　500203709
アムジェン インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９１３２０， サウザンド オークス， ワン アムジェン センター ドライブ
(74)代理人　100118902
弁理士　山本 修
(74)代理人　100106208
弁理士　宮前 徹
(74)代理人　100196508
弁理士　松尾 淳一
(74)代理人　100107386
弁理士　泉谷 玲子
(72)発明者　ジャガナサン，バーラドワージ
アメリカ合衆国カリフォルニア州９１３
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　二特異性抗体の凝集を減少させるための方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

二特異性抗体の凝集体を減少させるための方法であって、

解凍した二特異性抗体組成物を少なくとも４時間、５℃～４５℃の温度で保持することを含み、

前記二特異性抗体が解凍前に－２０℃～－４０℃の温度で保管されていたものであり、そして、前記二特異性抗体が（ｓｃＦｖ）$_2$形式である、

そして、前記組成物は、ｐＨ３～ｐＨ７を有し、そして、前記二特異性抗体及び緩衝液を含む、

前記方法。

【請求項２】

前記二特異性抗体が製剤原料である、請求項１に記載の方法。

【請求項３】

前記二特異性抗体が、４時間～９６時間、前記温度で保持される、請求項１又は２に記載の方法。

【請求項４】

前記二特異性抗体が、８時間～４８時間、１０℃～３０℃の温度で保持される、請求項１～３の何れか１項に記載の方法。

【請求項５】

前記二特異性抗体が、５℃～４５℃の温度で解凍される、請求項１～４の何れか１項に

記載の方法。
【請求項６】
前記二特異性抗体が、－２０℃～－３５℃の温度で保管されていた、請求項１～５の何れか１項に記載の方法。
【請求項７】
前記二特異性抗体が、－３０℃で保管されていた、請求項１～６の何れか１項に記載の方法。
【請求項８】
前記凝集体が、高分子量（ＨＭＷ）凝集体を含む、請求項１～７の何れか１項に記載の方法。
【請求項９】
前記二特異性抗体が、前記保持期間後に前記ＨＭＷ凝集体１％未満を含む、請求項８に記載の方法。
【請求項１０】
前記二特異性抗体が、前記ＨＭＷ凝集体０．５％未満を含む、請求項９に記載の方法。
【請求項１１】
前記ＨＭＷ凝集体が、前記二特異性抗体の二量体を含む、請求項８～１０の何れか１項に記載の方法。
【請求項１２】
二特異性抗体を含む組成物を調製するための方法であって、
－２０℃～－４０℃の温度で保管されていた（ｓｃＦｖ）$_2$形式の二特異性抗体を含む製剤原料を解凍し、
前記二特異性抗体を含む前記解凍した製剤原料を、少なくとも４時間、５℃～４５℃の温度で保持すること
を含む、
ここにおいて、前記組成物は、ｐＨ３～ｐＨ７を有し、そして、前記二特異性抗体及び緩衝液を含む、
方法。
【請求項１３】
前記組成物が、前記二特異性抗体を含む医薬組成物である、請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】
前記製剤原料をろ過することをさらに含む、請求項１２又は１３に記載の方法。
【請求項１５】
前記組成物を製剤形態に分割することをさらに含む、請求項１２～１４の何れか１項に記載の方法。
【請求項１６】
前記製剤原料が、４時間～９６時間、前記温度で保持される、請求項１２～１５の何れか１項に記載の方法。
【請求項１７】
前記製剤原料が、８時間～４８時間、１０℃～３０℃の温度で保持される、請求項１２～１６の何れか１項に記載の方法。
【請求項１８】
前記製剤原料が、５℃～４５℃の温度で解凍される、請求項１２～１７の何れか１項に記載の方法。
【請求項１９】
前記製剤原料が、－２０℃～－３５℃の温度で保管されていた、請求項１２～１８の何れか１項に記載の方法。
【請求項２０】
前記製剤原料が－３０℃で保管されていた、請求項１２～１９の何れか１項に記載の方法。

【請求項２１】
二特異性抗体を含む組成物を調製するための方法であって、（ｓｃＦｖ）$_2$形式の二特異性抗体を含む解凍した製剤原料を５℃～４５℃の温度で少なくとも４時間保持することを含み、前記製剤原料が解凍前に前記製剤原料のガラス転移温度（Ｔｇ’）以上で凍結されていた、
ここにおいて、前記組成物は、ｐＨ３～ｐＨ７を有し、そして、前記二特異性抗体及び緩衝液を含む、
方法。
【請求項２２】
前記製剤原料が、解凍前に－１０℃～前記製剤原料のＴｇ’以上の温度で凍結されていた、請求項２１に記載の方法。
【請求項２３】
前記製剤原料が、－３２℃で凍結されていた、請求項２１又は２２に記載の方法。
【請求項２４】
前記製剤原料が、４時間～９６時間、前記温度で保持される、請求項２１～２３の何れか１項に記載の方法。
【請求項２５】
前記製剤原料が５℃～４５℃の温度で解凍される、請求項２１～２４の何れか１項に記載の方法。
【請求項２６】
前記製剤原料が解凍される温度と同じ温度で前記製剤原料が保持される、請求項２１～２５の何れか１項に記載の方法。
【請求項２７】
前記製剤原料が、１５℃～３０℃の温度で３０時間～５０時間、解凍され、保持される、請求項２６に記載の方法。
【請求項２８】
前記組成物を製剤形態に分割することをさらに含む、請求項２１～２７の何れか１項に記載の方法。
【請求項２９】
前記製剤原料が、保持期間後にＨＭＷ凝集体１％未満を含む、請求項１２～２８の何れか１項に記載の方法。
【請求項３０】
前記製剤原料が、前記ＨＭＷ凝集体０．５％未満を含む、請求項２９に記載の方法。
【請求項３１】
前記ＨＭＷ凝集体が、前記二特異性抗体の二量体を含む、請求項２９又は３０に記載の方法。
【請求項３２】
前記製剤原料が、０．０５ｍｇ／ｍＬ～２０ｍｇ／ｍＬの濃度で前記二特異性抗体を含む、請求項１～３１の何れか１項に記載の方法。
【請求項３３】
前記組成物を凍結乾燥させることをさらに含む、請求項１２～３２の何れか１項に記載の方法。
【請求項３４】
前記組成物を噴霧乾燥させることをさらに含む、請求項１２～３２の何れか１項に記載の方法。
【請求項３５】
請求項１～３４の何れか１項に記載の方法であって、前記二特異性抗体が、
標的細胞表面抗原に結合する第１の結合ドメインと、
ヒトＣＤ３に結合する第２の結合ドメインと、を含む、
前記方法。

【請求項３６】
前記標的細胞表面抗原が、ＣＤ１９、ＣＤ３３又はＢＣＭＡである、請求項３５に記載の方法。
【請求項３７】
請求項３６に記載の方法であって、前記第１の結合ドメインがＶＨ領域及びＶＬ領域を含み、
前記ＶＨが配列番号７７のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号７８のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号２８のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号３２若しくは３３のアミノ酸配列を含むか；又は
前記ＶＨが配列番号１３２のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号１３３のアミノ酸配列を含む、方法。
【請求項３８】
前記二特異性抗体が、配列番号１７、４０又は１３５のアミノ酸配列を含む、請求項３７に記載の方法。
【請求項３９】
前記二特異性抗体が、２つのポリペプチド単量体を含む第３のドメインをさらに含み、それぞれがヒンジ、ＣＨ２及びＣＨ３ドメインを含み、前記２つのポリペプチド単量体がペプチドリンカーを介して互いに連結される、請求項１～３８の何れか１項に記載の方法。
【請求項４０】
前記第３のドメインが、アミノからカルボキシルの順にヒンジ－ＣＨ２－ＣＨ３－リンカー－ヒンジ－ＣＨ２－ＣＨ３を含む、請求項３９に記載の方法。
【請求項４１】
前記第３のドメインがＨＬＥドメインである、請求項４０に記載の方法。
【請求項４２】
前記二特異性抗体が、ＣＤ１９、ＣＤ３３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＭＳＬＮ、ＣＤＨ１９、ＦＬＴ３、ＤＬＬ３、ＣＤＨ３、ＣＤ７０、ＢＣＭＡ又はＰＳＭＡから選択される少なくとも１つの標的細胞表面抗原、に結合する第１の結合ドメインを有する、請求項３５、３９～４１の何れか１項に記載の方法。
【請求項４３】
請求項４２に記載の方法であって、前記第１の結合ドメインがＶＨ領域及びＶＬ領域を含み、
前記ＶＨが配列番号１０８のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号１０９のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが、配列番号２７のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号３２のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号４８のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号４９のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号５９のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号６０のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号７７のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号７８のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号１０８のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号１１２のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号８９のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号９０のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号１００のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号１０１のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号１２１のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号１２２のアミノ酸配列を含むか；

前記ＶＨが配列番号１８８のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号１８９のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号１３２のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号１３３のアミノ酸配列を含むか；又は
前記ＶＨが配列番号１７３のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号１７４のアミノ酸配列を含む、方法。
【請求項４４】
前記二特異性抗体が、配列番号６３、１１４、４１、８２、１３６、１０４、９３、１７７、１２５、１９０又は５２のアミノ酸配列を含む、請求項４３に記載の方法。
【請求項４５】
前記二特異性抗体が、配列番号６３、１１４、４１、８２、１３６、１０４、９３、１７７、１２５、１９０又は５２のアミノ酸配列からなる、請求項４４に記載の方法。
【請求項４６】
前記二特異性抗体が、マスクされた二特異性抗原結合タンパク質である、請求項１～３４の何れか１項に記載の方法。
【請求項４７】
請求項４６に記載の方法であって、前記マスクされた二特異性抗原結合タンパク質が、
（ａ）第１の抗原に結合する第１の抗体又はその抗原結合断片（ＡＢ１）及びＡＢ１にカップリングされるマスキングドメイン（ＭＤ１）であって、前記ＭＤ１が、
（１）その抗原へのＡＢ１の結合を阻害するか又は減少させる第１のマスキングペプチド（ＭＰ１）及び
（２）タンパク質認識部位（ＰＲ１）を含み、
タンパク質又はプロテアーゼによるＰＲ１への結合又はその切断が、その抗原に結合するＡＢ１を増加させる、
第１の抗体又はその抗原結合断片（ＡＢ１）及びマスキングドメイン（ＭＤ１）と；
（ｂ）第２の抗原に結合する第２の抗体又はその抗原結合断片（ＡＢ２）及びＡＢ２にカップリングされる第２のマスキングドメイン（ＭＤ２）であって、前記ＭＤ２が、
（１）その抗原へのＡＢ２の結合を阻害するか又は減少させる第２のマスキングペプチド（ＭＰ）及び
（２）第２のタンパク質認識部位（ＰＲ２）を含み、
タンパク質又はプロテアーゼによるＰＲ２への結合又はその切断が、その抗原へ結合するＡＢ２を増加させる、
第２の抗体又はその抗原結合断片（ＡＢ２）及び第２のマスキングドメイン（ＭＤ２）と、
を含む、方法。
【請求項４８】
前記ＰＲ１及びＰＲ２が、同じタンパク質認識配列を含む、請求項４７に記載の方法。
【請求項４９】
前記ＡＢ１がヒトＣＤ３に結合し、前記ＡＢ２がヒトＥＧＦＲに結合する、請求項４７または４８に記載の方法。
【請求項５０】
前記組成物が、さらに、糖類及び界面活性剤を含む、請求項１～４９の何れか１項に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本願は、参照により本明細書に組み込まれる２０１８年１０月１日出願の米国仮特許出願第６２／７３９，５４２号明細書の利益を主張する。
【０００２】
本願は、二特異性抗体の凝集を減少させるための方法に関する。より具体的には、本願

は、凍結状態下での保管の結果起こる、二特異性Ｔ細胞エンゲージャー抗体など、本明細書中で開示される二特異性抗体の凝集を減少させるための方法に関する。

【背景技術】

【０００３】

抗体などの治療用タンパク質は、患者に役立つ重要な医薬品のクラスである。一般的には、治療用タンパク質は、大量に、真核細胞中で産生され、精製される。タンパク質は温度変化に敏感であるため、これらの治療用タンパク質の製剤原料は、－２０℃～－８０℃の範囲の温度で凍結状態下で保管され、運ばれる。凍結によって、治療用タンパク質の貯蔵寿命が延び、最終処方の段取り及び市販される製品包装へのタンパク質の充填について、融通が利くようになる。操作上の基盤及び保管のための物流管理及び出荷は、その範囲でより高い温度であることが好ましい。

【０００４】

凍結／解凍工程は、タンパク質に対するストレスの原因となり得る。例えば、タンパク質製剤原料の凍結工程中に水が結晶化し、これにより、タンパク質分子が、最初のレベルの数倍の濃度レベルに達し得る。濃度変化の結果、タンパク質の熱力学的安定性が損なわれ得、これがアンフォールディング事象につながり、凝集を引き起こす。例えば、１８Ｌａｍ Ｐｈｉｌｉｐｐｅ ｅｔ ａｌ．，Ｑｕａｌｉｔｙ ｂｙ Ｄｅｓｉｇｎ ｆｏｒ Ｂｉｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｒｕｇ Ｐｒｏｄｕｃｔ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ，ｐｐ．１５９－１８９（Ｊａｍｅｅｌ Ｆ．ｅｔ ａｌ．ｅｄ．，２０１５）を参照。同様のストレスは解凍過程にも含まれ得、これらは、適時に氷を融解させるためにより高温が必要とされるので、深刻なものになり得る。同上。このように、タンパク質凝集体（例えば高分子量（ＨＭＷ）凝集体）は、治療用タンパク質を含む製剤原料が凍結状態下で保管され、及び／又は出荷される場合の凍結／解凍工程の結果から生じ得る。しかし、凝集体はタンパク質の安定性、免疫原性及び効力に悪影響を与え得るので、製剤原料中に凝集体が存在することは望ましくない。凍結状態下での保管の結果生じるタンパク質凝集を減少させる方法が必要とされている。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００５】

凍結状態下での保管の結果、二特異性抗体、特に二特異性Ｔ細胞エンゲージャー抗体（ＢｉＴＥ）の凝集を減少させるための方法が、本明細書中で提供される。本願は、解凍後にある時間にわたってある特定温度で二特異性抗体を保持することにより、凍結状態下での保管中に形成された凝集体が減少するという驚くべき知見を対象とする。

【０００６】

一実施形態では、解凍された二特異性抗体を約５℃～約４５℃の温度で少なくとも４時間保持することを含む、二特異性抗体の凝集体を減少させるための方法が本明細書中で開示され、この二特異性抗体は、解凍前に約－２０℃～約－４０℃の温度で保管されていた。一実施形態では、解凍された二特異性抗体は、約４時間～約９６時間、その温度で保持される。一実施形態では、解凍された二特異性抗体は、約１０時間～約４８時間、約１０℃～約３０℃の温度で保持される。一実施形態では、解凍された二特異性抗体は、８時間～４８時間、約１０℃～約３０℃の温度で保持される。

【０００７】

一実施形態では、二特異性抗体は、約５℃～約４５℃の温度で解凍される。一実施形態では、二特異性抗体は、解凍前に約－２０℃～約－３５℃の温度で保管され、別の実施形態では、二特異性抗体は、解凍前に約－３０℃で保管されていた。一実施形態では、凝集体は、高分子量（ＨＭＷ）凝集体を含む。一実施形態では、ＨＭＷ凝集体は、二特異性抗体の二量体を含む。一実施形態では、二特異性抗体は、保持期間後、ＨＭＷ凝集体約１％未満を含み、別の実施形態では、二特異性抗体は、保持期間後、ＨＭＷ凝集体約０．５％未満を含む。

【０００８】

一実施形態では、約－２０℃～約－４０℃の温度で保管された二特異性抗体を含む製剤原料を解凍し、二特異性抗体を含む解凍された製剤原料を少なくとも４時間、約５℃～約４５℃の温度で保持することを含む、二特異性抗体を含む組成物を調製するための方法が、本明細書中で開示される。一実施形態では、製剤原料は、約４時間～約９６時間、その温度で保持される。別の実施形態では、製剤原料は、約１０時間～約４８時間、約１０℃～約３０℃の温度で保持される。別の実施形態では、製剤原料は、８時間～４８時間、約１０℃～約３０℃の温度で保持される。一実施形態では、製剤原料は、約５℃～約４５℃の温度で解凍される。一実施形態では、製剤原料は、約－２０℃～約－３５℃の温度で保管され、別の実施形態では、製剤原料は約－３０℃で保管されていた。一実施形態では、本組成物を調製するための方法は、製剤原料をろ過することをさらに含み、別の実施形態では、本組成物を調製するための方法は、本組成物を製剤形態に分割することをさらに含む。一実施形態では、本組成物は、二特異性抗体を含む医薬組成物である。

【０００９】

一実施形態では、二特異性抗体を含む組成物を調製するための方法が本明細書中で開示され、この方法は、二特異性抗体を含む解凍された製剤原料を少なくとも４時間、約５℃～約４５℃の温度で保持することを含み、この製剤原料は、解凍前に製剤原料のガラス転移温度（Ｔｇ’）以上で凍結されていた。一実施形態では、製剤原料は、約－１０℃～製剤原料のガラス転移温度以上の温度で凍結され、別の実施形態では、製剤原料は約－３２℃で凍結されていた。一実施形態では、製剤原料は、約４時間～約９６時間、その温度で保持される。一実施形態では、製剤原料は、約５℃～約４５℃の温度で解凍される。別の実施形態では、製剤原料は、製剤原料が解凍される温度と同じ温度で保持される。別の実施形態では、製剤原料は、３０時間～５０時間、約１５℃～約３０℃の同じ温度で、解凍され、保持される。別の実施形態では、本組成物を調製するための方法は、本組成物を製剤形態に分割することをさらに含む。別の実施形態では、本組成物を調製するための方法は、本組成物を乾燥凍結することをさらに含む。また別の実施形態では、本組成物を調製するための方法は、本組成物を噴霧乾燥することをさらに含む。

【００１０】

一実施形態では、製剤原料は、保持期間後、ＨＭＷ凝集体約１％未満を含み、別の実施形態では、製剤原料は、ＨＭＷ凝集体約０．５％未満を含む。一実施形態では、ＨＭＷ凝集体は、二特異性抗体の二量体を含む。

【００１１】

一実施形態では、製剤原料は、約０．０５ｍｇ／ｍＬ～約２０ｍｇ／ｍＬの濃度で二特異性抗体を含む。

【００１２】

一実施形態では、二特異性抗体は、二特異性Ｔ細胞エンゲージャー抗体（ＢｉＴＥ）である。一実施形態では、二特異性抗体は、標的細胞表面抗原に結合する第１の結合ドメイン及びヒトＣＤ３に結合する第２の結合ドメインを含み、二特異性抗体は（ｓｃＦｖ）２形式である。一実施形態では、二特異性抗体は、ＣＤ１９、ＣＤ３３又はＢＣＭＡから選択される標的細胞表面抗原に結合する第１の結合ドメイン及びヒトＣＤ３に結合する第２の結合ドメインを含み、二特異性抗体は（ｓｃＦｖ）２形式である。

【００１３】

一実施形態では、二特異性抗体は、第１の結合ドメイン及び第２の結合ドメインを含み、第１の結合ドメインはＶＨ領域及びＶＬ領域を含み、ＶＨは、配列番号７７のアミノ酸配列を含み、ＶＬは、配列番号７８のアミノ酸配列を含むか；又はＶＨが配列番号２８のアミノ酸配列を含み、ＶＬが配列番号３２若しくは３３のアミノ酸配列を含むか；又はＶＨが配列番号１３２のアミノ酸配列を含み、ＶＬが配列番号１３３のアミノ酸配列を含む。別の実施形態では、二特異性抗体は、配列番号１７、４０又は１３５のアミノ酸配列を含む。

【００１４】

一実施形態では、二特異性抗体はＢｉＴＥであり、ＢｉＴＥは、２つのポリペプチド単

量体を含む第３のドメインをさらに含み、それぞれがヒンジ、ＣＨ２及びＣＨ３ドメインを含み、２つのポリペプチド単量体はペプチドリンカーを介して互いに連結される。別の実施形態では、第３のドメインは、アミノからカルボキシルへの順でヒンジ－ＣＨ２－ＣＨ３－リンカー－ヒンジ－ＣＨ２－ＣＨ３を含む。一実施形態では、第３のドメインは半減期延長（ＨＬＥ）ドメインである。

【００１５】

一実施形態では、二特異性抗体は、第１の結合ドメイン、第２の結合ドメイン及び第３のドメインを含み、第１の結合ドメインは、ＣＤ１９、ＣＤ３３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＭＳＬＮ、ＣＤＨ１９、ＦＬＴ３、ＤＬＬ３、ＣＤＨ３、ＣＤ７０、ＢＣＭＡ又はＰＳＭＡから選択される少なくとも１つの標的細胞表面抗原に結合し、第２の結合ドメインはヒトＣＤ３に結合し、第３のドメインは２つのポリペプチド単量体を含み、それぞれがヒンジ、ＣＨ２及びＣＨ３ドメインを含み、この２つのポリペプチド単量体はペプチドリンカーを介して互いに連結される。

【００１６】

一実施形態では、二特異性抗体は、第１の結合ドメイン、第２の結合ドメイン及び第３のドメインを含み、第１の結合ドメインは、ＶＨ領域及びＶＬ領域を含み、ＣＤ１９、ＣＤ３３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＭＳＬＮ、ＣＤＨ１９、ＦＬＴ３、ＤＬＬ３、ＣＤＨ３、ＣＤ７０、ＢＣＭＡ又はＰＳＭＡから選択される少なくとも１つの標的細胞表面抗原に結合し、第２の結合ドメインは、ヒトＣＤ３に結合し、第３のドメインは、２つのポリペプチド単量体を含み、それぞれがヒンジ、ＣＨ２及びＣＨ３ドメインを含み、この２つのポリペプチド単量体はペプチドリンカーを介して互いに連結され：（ａ）ＶＨが配列番号１０８のアミノ酸配列を含み、ＶＬが配列番号１０９のアミノ酸配列を含むか；又は（ｂ）ＶＨが配列番号２７のアミノ酸配列を含み、ＶＬが配列番号３２のアミノ酸配列を含むか；又は（ｃ）ＶＨが配列番号４８のアミノ酸配列を含み、ＶＬが配列番号４９のアミノ酸配列を含むか；又は（ｄ）ＶＨが配列番号５９のアミノ酸配列を含み、ＶＬが配列番号６０のアミノ酸配列を含むか；又は（ｅ）ＶＨが配列番号７７のアミノ酸配列を含み、ＶＬが配列番号７８のアミノ酸配列を含むか；又は（ｆ）ＶＨが配列番号１０８のアミノ酸配列を含み、ＶＬが配列番号１１２のアミノ酸配列を含むか；又は（ｇ）ＶＨが配列番号８９のアミノ酸配列を含み、ＶＬが配列番号９０のアミノ酸配列を含むか；又は（ｈ）ＶＨが配列番号１００のアミノ酸配列を含み、ＶＬが配列番号１０１のアミノ酸配列を含むか；又は（ｉ）ＶＨが配列番号１２１のアミノ酸配列を含み、ＶＬが配列番号１２２のアミノ酸配列を含むか；又は（ｊ）ＶＨが配列番号１８８のアミノ酸配列を含み、ＶＬが配列番号１８９のアミノ酸配列を含むか；又は（ｋ）ＶＨが配列番号１３２のアミノ酸配列を含み、ＶＬが配列番号１３３のアミノ酸配列を含むか；又は（ｌ）ＶＨが配列番号１７３のアミノ酸配列を含み、ＶＬが配列番号１７４のアミノ酸配列を含む。

【００１７】

一実施形態では、二特異性抗体は、第１の結合ドメイン、第２の結合ドメイン及び第３のドメインを含み、第１の結合ドメインは、ＣＤ１９、ＣＤ３３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＭＳＬＮ、ＣＤＨ１９、ＦＬＴ３、ＤＬＬ３、ＣＤＨ３、ＣＤ７０、ＢＣＭＡ又はＰＳＭＡから選択される少なくとも１つの標的細胞表面抗原に結合し、第２の結合ドメインはヒトＣＤ３に結合し、第３のドメインは、２つのポリペプチド単量体を含み、それぞれが、ヒンジ、ＣＨ２及びＣＨ３ドメインを含み、この２つのポリペプチド単量体がペプチドリンカーを介して互いに連結され、二特異性抗体は、配列番号６３、１１４、４１、８２、１３６、１０４、９３、１７７、１２５、１９０又は５２から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる。

【００１８】

一実施形態では、二特異性抗体は、マスクされた二特異性抗原結合タンパク質である。一実施形態では、マスクされた二特異性抗原結合タンパク質は、（ａ）第１の抗原に結合する第１の抗体又はその抗原結合断片（ＡＢ１）及びＡＢ１にカップリングされるマスキングドメイン（ＭＤ１）であって、ＭＤ１が、（１）その抗原へのＡＢ１の結合を阻害す

るか又は減少させる第１のマスキングペプチド（ＭＰ１）及び（２）タンパク質認識部位（ＰＲ１）を含み、タンパク質又はプロテアーゼによるＰＲ１への結合又はその切断が、その抗原に結合するＡＢ１を増加させる、第１の抗体又はその抗原結合断片（ＡＢ１）及びマスキングドメイン（ＭＤ１）と；（ｂ）第２の抗原に結合する第２の抗体又はその抗原結合断片（ＡＢ２）及びＡＢ２にカップリングされる第２のマスキングドメイン（ＭＤ２）であって、ＭＤ２が、（１）その抗原へのＡＢ２の結合を阻害するか又は減少させる第２のマスキングペプチド（ＭＰ）及び（２）第２のタンパク質認識部位（ＰＲ２）を含み、タンパク質又はプロテアーゼによるＰＲ２への結合又はその切断が、その抗原へ結合するＡＢ２を増加させる、第２の抗体又はその抗原結合断片（ＡＢ２）及び第２のマスキングドメイン（ＭＤ２）と、を含む。一実施形態では、ＰＲ１及びＰＲ２は、同じタンパク質認識配列を含む。別の実施形態では、ＡＢ１はヒトＣＤ３に結合し、ＡＢ２はヒトＥＧＦＲに結合する。

【図面の簡単な説明】

【００１９】

【図１】図１は、様々なＨＬＥ　ＢｉＴＥ分子を－２０℃で１カ月保管した後の、凝集体レベル（ΔＨＭＷ％）の上昇を示す。

【図２Ａ】図２Ａは、異なるｐＨを有する組成物中で－２０℃で１カ月間保管した後の、ＤＬＬ３ｘＣＤ３　ＨＬＥ　ＢｉＴＥの凝集体レベル（ΔＨＭＷ％）の上昇を示す。

【図２Ｂ】図２Ｂは、異なる温度で１カ月間保管した後の、ＤＬＬ３ｘＣＤ３　ＨＬＥ　ＢｉＴＥの凝集体レベル（ΔＨＭＷ％）の上昇を示す。

【図３Ａ】図３Ａ、３Ｂ、３Ｃ及び３Ｄは、－２０℃又は－３０℃での保管後に様々なＨＬＥ　ＢｉＴＥにおいてＨＭＷ凝集体レベルが上昇したこと、及び解凍後の２４時間にわたる室温での保持により凝集体レベルが低下したことを示す。

【図３Ｂ】図３Ａ、３Ｂ、３Ｃ及び３Ｄは、－２０℃又は－３０℃での保管後に様々なＨＬＥ　ＢｉＴＥにおいてＨＭＷ凝集体レベルが上昇したこと、及び解凍後の２４時間にわたる室温での保持により凝集体レベルが低下したことを示す。

【図３Ｃ】図３Ａ、３Ｂ、３Ｃ及び３Ｄは、－２０℃又は－３０℃での保管後に様々なＨＬＥ　ＢｉＴＥにおいてＨＭＷ凝集体レベルが上昇したこと、及び解凍後の２４時間にわたる室温での保持により凝集体レベルが低下したことを示す。

【図３Ｄ】図３Ａ、３Ｂ、３Ｃ及び３Ｄは、－２０℃又は－３０℃での保管後に様々なＨＬＥ　ＢｉＴＥにおいてＨＭＷ凝集体レベルが上昇したこと、及び解凍後の２４時間にわたる室温での保持により凝集体レベルが低下したことを示す。

【図４】図４は、ＢｉＴＥ分子のＨＭＷレベル低下の、保持時間及び保持温度依存性を示す。

【図５】図５は、ベンジルアルコールの効果を安定化させることを示す。

【発明を実施するための形態】

【００２０】

方法

二特異性抗体の凝集体、特に二特異性抗体が凍結状態下で保管されるときに形成された凝集体を減少させるための方法が、本明細書中に記載される。本明細書中で使用される場合、「凝集体」又は「凝集」という用語は、２個以上の分子の会合を指す。ある一定の実施形態では、凝集体は、非凝集分子よりも大きい分子量及び／又は寸法を有する高分子量（ＨＭＷ）凝集体である。ある一定の実施形態では、凝集体は、２個以上の抗体分子の会合を含む。ある一定の実施形態では、凝集体は、二特異性抗体の二量体を含む２個以上の二特異性抗体分子の会合を含む。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、二特異性Ｔ細胞エンゲージャー抗体（ＢｉＴＥ）である。

【００２１】

凝集体の存在及び／又はレベルは、例えば、サイズ排除クロマトグラフィー、陽イオン交換クロマトグラフィー、Ｘ線回折、変調示差走査熱量測定（ｍＤＳＣ）及び非変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＰＡＧＥ）など、分子のサイズを決定する技術などの当技

術分野で公知の技術により決定され得る。一実施形態では、タンパク質凝集体の存在及び／又はレベルは、サイズ排除ＨＰＬＣ（ＳＥ－ＨＰＬＣ）により決定される。別の実施形態では、タンパク質凝集体の存在及び／又はレベルは、サイズ排除高速ＨＰＬＣ（ＳＥ－ＵＨＰＬＣ）により決定される。

【００２２】

一態様では、二特異性抗体の凝集体を減少させるための方法が本明細書中で開示され、この方法は、解凍された二特異性抗体をある一定の温度で少なくとも４時間保持することを含み、この二特異性抗体は、解凍前に凍結状態下で保管されていた。本明細書中で使用される場合、「解凍された二特異性抗体」又は「二特異性抗体を含む解凍された製剤原料」という用語は、液体状態の二特異性抗体又は温熱への曝露の結果として凍結状態からもたらされる二特異性抗体を含む液体状態の製剤原料を指すことが理解される。ある一定の実施形態では、解凍された二特異性抗体又は二特異性抗体を含む解凍された製剤原料は、凍結物質不含又は実質的に不含の、液体状態の、二特異性抗体又は二特異性抗体を含む製剤原料である。

【００２３】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体は製剤原料である。本明細書中で使用される場合、「製剤原料」という用語は、夾雑タンパク質、脂質及び核酸（例えば、液体培地中に存在するか又は宿主細胞由来（例えば哺乳動物、酵母又は細菌宿主細胞由来）の夾雑タンパク質、脂質及び核酸）及び生物学的夾雑物（例えばウイルス及び細菌夾雑物）から、十分に精製又は単離されており、さらなる実質的な精製及び／又は夾雑物除去段階なく、医薬組成物に処方され得る、組み換えタンパク質（例えば二特異性抗体）を指すと理解される。製剤原料という用語は、十分に精製された組み換えタンパク質（例えば二特異性抗体）及び１つ以上の薬学的に適切な賦形剤を含む組成物を包含する。

【００２４】

ある一定の実施形態では、解凍された製剤原料は、組み換えタンパク質（例えば二特異性抗体）に加えて１つ以上の賦形剤を含む組成物である。医薬組成物に適切であるために適切な賦形剤が使用され得る。典型的な賦形剤としては、緩衝液（例えば酢酸緩衝液、グルタミン酸緩衝液、クエン酸緩衝液、乳酸緩衝液、コハク酸緩衝液、酒石酸緩衝液、フマル酸緩衝液、マレイン酸緩衝液、ヒスチジン緩衝液又はリン酸緩衝液）、糖類（例えばグルコース、ガラクトース、フルクトース、キシロース、スクロース、ラクトース、マルトース、トレハロース、ソルビトール、マンニトール又はキシリトール）及び界面活性剤（例えばポリソルベート２０又はポリソルベート８０）が挙げられる。ある一定の実施形態では、解凍された製剤原料は、組み換えタンパク質（例えば二特異性抗体）、緩衝液（例えばグルタミン酸緩衝液又はクエン酸緩衝液）、糖類（例えばスクロース）及び任意選択により界面活性剤（例えばポリソルベート８０）を含む組成物である。解凍された製剤原料のｐＨは約３．０～７．０又は約４．０～約６．０の範囲であり得る。

【００２５】

ある一定の実施形態では、高温に曝露することによって、凍結二特異性抗体が解凍される。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、約０℃～約５０℃、又は約０℃～約４０℃、又は約０℃～約３０℃、又は約５℃～約４５℃、又は約５℃～約３０℃、又は約１０℃～約５０℃、又は約１０℃～約４０℃、又は約１０℃～約３０℃、又は約１５℃～約５０℃、又は約１５℃～約４０℃、又は約１５℃～約３０℃、又は約２０℃～約３０℃、又は約２５℃～約３０℃の温度で解凍される。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、約０℃～約２５℃、又は約５℃～約２５℃、又は約１０℃～約２５℃、又は約１５℃～約２５℃、又は約２０℃～約２５℃の温度で解凍される。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、約０℃、約５℃、約１０℃、約１５℃、約２０℃、約２５℃、又は約３０℃、又は約４０℃、又は約４５℃、又は約５０℃の温度で解凍される。当業者により認識され得るように、二特異性抗体は、均一な温度分布及び／又は解凍中に形成される濃度勾配の破壊を確実にするために、解凍中に穏やかに混合され得る。例えば傾斜振盪器を使用するか又は二特異性抗体の容器を穏やかに転倒撹拌することによって、穏やかな混合が達成さ

れ得る。或いは、二特異性抗体は、解凍後に穏やかに混合され得る。

【００２６】

ある一定の実施形態では、本方法は、解凍された二特異性抗体をある一定の温度で少なくとも４時間保持することを含む。ある一定の実施形態では、保持温度は、約０℃～約５０℃、又は約０℃～約４０℃、又は約５℃～約５０℃、又は約５℃～約４５℃、又は約５℃～約４０℃、又は約５℃～約３０℃、又は約１０℃～約５０℃、又は約１０℃～約４５℃、又は約１０℃～約４０℃、又は約１０℃～約３０℃、又は約１５℃～約４０℃、又は約１５℃～約３０℃である。ある一定の実施形態では、保持温度は、約１５℃～約２５℃である。ある一定の実施形態では、保持温度は、約５℃、又は約１０℃、又は約１５℃、又は約１７℃、又は約１９℃、又は約２０℃、又は約２３℃、又は約２５℃、又は約２７℃、又は約３０℃、又は約３５℃、又は約４０℃、又は約４５℃である。ある一定の実施形態では、解凍された二特異性抗体は、約４時間～約１２０時間、又は約４時間～約９６時間、又は約４時間～約７２時間、又は約４時間～約４８時間、又は約４時間～約２４時間、又は約１０時間～約１２０時間、又は約１０時間～約９６時間、又は約１０時間～約７２時間、又は約１０時間～約４８時間、又は約１０時間～約２４時間、又は約２４時間～約１２０時間、又は約２４時間～約１００時間、又は約２４時間～約９６時間、又は約２４時間～約７２時間、又は約２４時間～約４８時間、又は約４８時間～約１００時間、又は約４８時間～約９６時間、又は約４８時間～約７２時間、又は約７２時間～約１００時間、又は約７２時間～約９６時間、上記の何れか１つの温度で保持される。

【００２７】

ある一定の実施形態では、解凍された二特異性抗体は、約４時間～約１２０時間、又は約４時間～約１００時間、又は約４時間～約９６時間、又は約４時間～約７２時間、又は約４時間～約４８時間、又は約４時間～約２４時間、約５℃～約４５℃の温度で保持される。ある一定の実施形態では、解凍された二特異性抗体は、約４時間～約２４時間、又は約１０時間～約１２０時間、又は約１０時間～約９６時間、又は約１０時間～約７２時間、又は約１０時間～約４８時間、又は約１０時間～約２４時間、約１０℃～約３０℃の温度で保持される。ある一定の実施形態では、解凍された二特異性抗体は、約４時間～約２４時間、又は約４時間～約１０時間、約３０℃～約４５℃の温度で保持される。ある一定の実施形態では、解凍された二特異性抗体は、約４時間～約１２０時間、又は約４時間～約５０時間、又は約４時間～約２４時間、又は約８時間～約５０時間、又は約１５時間～約５０時間、又は約４時間～約１００時間、又は約８時間～約１００時間、又は約１５時間～約１００時間、又は約２４時間～約９６時間、又は約２４時間～約７２時間、又は約２４時間～約４８時間、又は約４８時間～約１００時間、又は約４８時間～約９６時間、又は約４８時間～約７２時間、又は約７２時間～約１００時間、又は約７２時間～約９６時間、約１５℃～約４５℃の温度で保持される。ある一定の実施形態では、解凍された二特異性抗体は、約４時間～約２４時間、又は約１０時間～約１２０時間、又は約１０時間～約９６時間、又は約１０時間～約７２時間、又は約１０時間～約４８時間、又は約１０時間～約２４時間、約２４時間～約９６時間、又は約２４時間～約７２時間、又は約２４時間～約４８時間、又は約４８時間～約１００時間、又は約４８時間～約９６時間、又は約４８時間～約７２時間、又は約７２時間～約１００時間、又は約７２時間～約９６時間、約１５℃～約３０℃の温度で保持される。ある一定の実施形態では、解凍された二特異性抗体は、約４時間～約２４時間、又は約１０時間～約４８時間、又は約１５時間～約３０時間、又は約１５時間～約２４時間、又は約２４時間～約１２０時間、又は約２４時間～約９６時間、又は約２４時間～約７２時間、又は約２４時間～約４８時間、又は約４８時間～約１００時間、又は約４８時間～約９６時間、又は約４８時間～約７２時間、又は約７２時間～約１００時間、又は約７２時間～約９６時間、約１５℃～約２５℃の温度で保持される。別の実施形態では、解凍された二特異性抗体は、約１０時間、又は約１５時間、又は約２０時間、又は約２４時間、又は約３６時間、又は約４８時間、又は約６０時間、又は約７２時間、又は約８４時間、又は約９６時間、又は約１２０時間、約１５℃～約３０℃の温度で保持される。

【００２８】
二特異性抗体は、解凍前に凍結状態下で保管されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、約－２０℃～約－５０℃の温度で保管されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、約－２０℃～約－４０℃の温度で保管されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、約－２５℃～約－３５℃の温度で保管されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、約－２０℃、約－３０℃、約－３５℃、約－４０℃、又は約－５０℃の温度で保管されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、約－３０℃の温度で保管されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、０℃～抗体のガラス転移温度（Ｔｇ’）又は抗体を含む組成物のＴｇ’以上の温度で保管されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、約－１０℃～抗体のＴｇ’又は抗体を含む組成物のＴｇ’以上の温度で保管されていた。

【００２９】
ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、約１日～約５年間、約－２０℃～約－４０℃の温度で保管されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、約１週間～約５年間又は約１カ月～約５年間、約－２０℃～約－４０℃の温度で保管されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、約１週間、約２週間、約３週間、約４週間、約１カ月、約６カ月、約１８カ月、約１年、約２年、約３年、約４年又は約５年間、約－２０℃～約－４０℃の温度で保管されていた。

【００３０】
本明細書で使用される場合、「約」という用語は、特定の値又は範囲を修飾するために使用されるとき、所与の値又は範囲において、記載される値又は範囲の上下、２０パーセント、例えば１０パーセント、５パーセント、４パーセント、３パーセント、２パーセント又は１パーセントを含め、変動があり得ることを意味すると理解される。

【００３１】
本明細書中で使用される場合、「保管する」又は「保管される」という用語は、二特異性抗体が、ある一定の条件下で、後の使用又はさらなる処理のために置かれるか又は置いておかれることを指す。ある一定の実施形態では、抗体は、上記の何れかの温度下に置かれ、これは、例えば、必要とされる温度を維持し得る、冷凍庫、冷蔵トラック又は出荷装置を使用することにより達成され得る。当業者により認識され得るように、上記の保管温度下で保管した場合、抗体は凍結される。

【００３２】
二特異性抗体は、保管温度下でその完全性を維持し得る何れかの適切な容器中で保管され得る。典型的な容器としては、バイアル、瓶、バッグ及びカーボーイが挙げられる。このような容器は、当技術分野で周知であり、市販されている。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、例えば市販されているフレキシブル凍結解凍（ｆｌｅｘｉｂｌｅ　ｆｒｅｅｚｅ　ｔｈａｗ）容器など、例えばＣｅｌｓｉｕｓ（登録商標）ＦＦＴシステムなどの使い捨て容器中で保管される。保管下の二特異性抗体の体積は、保管のために使用される容器の体積により決定される。ある一定の実施形態では、容器の体積は、５ｍＬ、１０ｍＬ、１００ｍＬ、５００ｍＬ、１リットル（Ｌ）、２Ｌ、３Ｌ、４Ｌ、５Ｌ、６Ｌ、７Ｌ、８Ｌ、９Ｌ、１０Ｌ又は１２Ｌである。ある一定の実施形態では、保管下の二特異性抗体の容器は、約５ｍＬ、約１０ｍＬ、約１００ｍＬ、約５００ｍＬ、約１リットル（Ｌ）、約２Ｌ、約３Ｌ、約４Ｌ、約５Ｌ、約６Ｌ、約７Ｌ、約８Ｌ、約９Ｌ、約１０Ｌ又は約１２Ｌである。

【００３３】
ある一定の実施形態では、保管下の二特異性抗体の濃度は、約０．０１ｍｇ／ｍＬ～約２５ｍｇ／ｍＬ、又は約０．０５ｍｇ／ｍＬ～約２５ｍｇ／ｍＬ、又は約０．１ｍｇ／ｍＬ～約２５ｍｇ／ｍＬ、又は約０．５ｍｇ／ｍＬ～約２５ｍｇ／ｍＬ、又は約１ｍｇ／ｍＬ～約２５ｍｇ／ｍＬの範囲である。ある一定の実施形態では、保管下の二特異性抗体の濃度は、約１ｍｇ／ｍＬ～約２０ｍｇ／ｍＬ、又は約１ｍｇ／ｍＬ～約１５ｍｇ／ｍＬ、又は約１ｍｇ／ｍＬ～約１０ｍｇ／ｍＬ、又は約１ｍｇ／ｍＬ～約５ｍｇ／ｍＬの範囲で

ある。ある一定の実施形態では、保管下での二特異性抗体の濃度は、約０．０１ｍｇ／ｍＬ、約０．０５ｍｇ／ｍＬ、約０．１ｍｇ／ｍＬ、約０．５ｍｇ／ｍＬ、約１ｍｇ／ｍＬ、約２ｍｇ／ｍＬ、約３ｍｇ／ｍＬ、約４ｍｇ／ｍＬ、約５ｍｇ／ｍＬ、約６ｍｇ／ｍＬ、約７ｍｇ／ｍＬ、約８ｍｇ／ｍＬ、約９ｍｇ／ｍＬ、約１０ｍｇ／ｍＬ、約１１ｍｇ／ｍＬ、約１２ｍｇ／ｍＬ、約１３ｍｇ／ｍＬ、約１４ｍｇ／ｍＬ、約１５ｍｇ／ｍＬ、約１６ｍｇ／ｍＬ、約１７ｍｇ／ｍＬ、約１８ｍｇ／ｍＬ、約１９ｍｇ／ｍＬ、約２０ｍｇ／ｍＬ、又は約２５ｍｇ／ｍＬである。

【００３４】

二特異性抗体を含む組成物を調製するための方法も本明細書中で開示される。ある一定の実施形態では、本方法は、凍結状態で保管されていた二特異性抗体を含む製剤原料を解凍し、解凍した製剤原料をある一定の温度で少なくとも４時間保持することを含む。

【００３５】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約－２０℃～約－５０℃の温度で保管されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約－２０℃～約－３５℃の温度で保管されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約－２５℃～約－３５℃の温度で保管されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約－２０℃、約－３０℃、約－３５℃、約－４０℃、又は約－５０℃の温度で保管されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約－３０℃の温度で保管されていた。

【００３６】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約１日～約５年間、約－２０℃～約－５０℃の温度で保管されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約１週間～約５年間又は約１カ月～約５年間、約－２０℃～約－４０℃の温度で保管されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約１週間、約２週間、約３週間、約４週間、約１カ月、約６カ月、約１８カ月、約１年、約２年、約３年、約４年又は約５年間、約－２０℃～約－４０℃の温度で保管されていた。

【００３７】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む組成物を調製するための方法は、二特異性抗体を含む解凍製剤原料をある一定の温度で少なくとも４時間保持することを含み、この製剤原料は、解凍前に製剤原料のガラス転移温度（Ｔｇ’）以上である温度で凍結されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約－１０℃～製剤原料のＴｇ’以上の温度である温度で凍結されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約－２０℃～製剤原料のＴｇ’以上の温度で凍結されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約１日～約５年又は約１週間～約５年間、製剤原料のＴｇ’以上（例えば約－１０℃～Ｔｇ’以上）である温度で凍結されていた。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約１カ月、約６カ月、約１年、約１８カ月、約２年、約３年、約４年又は約５年間にわたり、製剤原料のＴｇ’以上（例えば約－１０℃～Ｔｇ’以上）である温度で凍結されていた。ある一定の実施形態では、製剤原料のＴｇ’は約－３０℃、又は約－３２℃、又は約－３５℃である。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約１カ月、約６カ月、約１年、約１８カ月、約２年、約３年、約４年又は約５年間、約－３２℃である温度で凍結されていた。

【００３８】

当業者により認識され得るように、二特異性抗体又は二特異性抗体を含む製剤原料のガラス転移温度は、当技術分野で公知の方法、例えば、示差走査熱量測定（ＤＳＣ）、熱機械的分析（ＴＭＡ）、動的機械分析（ＤＭＡ）及び膨張率測定により決定され得る。

【００３９】

二特異性抗体を含む製剤原料は、保管／凍結温度下でその完全性を維持し得る何らかの適切な容器中で保管され得たか又は凍結され得た。典型的な容器としては、バイアル、瓶、バッグ及びカーボーイが挙げられる。このような容器は当技術分野で周知であり市販されている。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、例えば市販のフレ

キシブル凍結解凍（ｆｌｅｘｉｂｌｅ　ｆｒｅｅｚｅ　ｔｈａｗ）容器など、例えばＣｅｌｓｉｕｓ（登録商標）ＦＦＴシステムなどの使い捨て容器中で保管される。保管下の二特異性抗体を含む製剤原料の体積は、保管のために使用される容器の体積により決定される。ある一定の実施形態では、容器の体積は、１Ｌ、２Ｌ、３Ｌ、４Ｌ、５Ｌ、６Ｌ、７Ｌ、８Ｌ、９Ｌ、１０Ｌ又は１２Ｌである。

【００４０】

二特異性抗体を含む製剤原料は、高温に曝露することにより解凍され得る。ある一定の実施形態では、製剤原料は、約０℃～約５０℃、又は約０℃～約４０℃、又は約０℃～約３０℃、又は約５℃～約４５℃、又は約５℃～約３０℃、又は約１０℃～約３０℃、又は約１５℃～約３０℃、又は約２０℃～約３０℃、又は約２５℃～約３０℃の温度で解凍される。ある一定の実施形態では、製剤原料は、約０℃～約２５℃、又は約５℃～約２５℃、又は約１０℃～約２５℃、又は約１５℃～約２５℃、又は約２０℃～約２５℃の温度で解凍される。ある一定の実施形態では、製剤原料は、約０℃、約５℃、約１０℃、約１５℃、約２０℃、約２５℃、約２７℃、又は約３０℃、又は約４０℃、又は約４５℃、又は約５０℃の温度で解凍される。

【００４１】

ある一定の実施形態では、本方法は、約０℃～約５０℃、又は約０℃～約４０℃、又は約５℃～約５０℃、又は約５℃～約４５℃、又は約１０℃～約５０℃、又は約１０℃～約４５℃、又は約１０℃～約３０℃、又は約１５℃～約４０℃、又は約１５℃～約３０℃の温度で解凍製剤原料を保持することを含む。ある一定の実施形態では、解凍製剤原料は、約１５℃～約２５℃の温度で保持される。ある一定の実施形態では、解凍製剤原料は、約５℃、又は約１０℃、又は約１５℃、又は約１７℃、又は約１９℃、又は約２１℃、又は約２３℃、又は約２５℃、又は約２７℃、又は約２９℃、又は約４０℃、又は約４５℃の温度で保持される。ある一定の実施形態では、解凍製剤原料は、上記温度の何れか１つで、約４時間～約１５０時間、又は約４時間～約１００時間、又は約４時間～約７２時間、又は約４時間～約４８時間、又は約４時間～約２４時間、又は約１０時間～約１５０時間、又は約１０時間～約１００時間、又は約１０時間～約７２時間、又は約１０時間～約４８時間、又は約１０時間～約２４時間、又は約２４時間～約１５０時間、又は約２４時間～約１２０時間、又は約２４時間～約１００時間、又は約２４時間～約９６時間、又は約２４時間～約７２時間、又は約２４時間～約４８時間にわたり、約４８時間～約１００時間、又は約４８時間～約９６時間、又は約４８時間～約７２時間、又は約７２時間～約１００時間、又は約７２時間～約９６時間、保持される。

【００４２】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む解凍製剤原料は、少なくとも約４時間、約５℃～約４５℃の温度で保持される。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む解凍製剤原料は、約４時間～約１２０時間、又は約４時間～約９６時間、又は約４時間～約７２時間、又は約４時間～約４８時間、又は約４時間～約２４時間、約５℃～約４５℃の温度で保持される。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む解凍製剤原料は、約４時間～約１００時間、又は約４時間～約５０時間、約１０℃～約４５℃の温度で保持される。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む解凍製剤原料は、約４時間～約１５０時間、又は約４時間～約１２０時間、又は約４時間～約９６時間、又は約４時間～約７２時間、又は約４時間～約４８時間、又は約４時間～約２４時間、又は約１０時間～約１２０時間、又は約１０時間～約９６時間、又は約１０時間～約７２時間、又は約１０時間～約４８時間、又は約１０時間～約２４時間、約１５℃～約４０℃の温度で保持される。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む解凍製剤原料は、約１０時間～約９６時間、又は約１０時間～約７２時間、又は約１０時間～約４８時間、又は約１０時間～約２４時間、又は約２４時間～約９６時間、又は約２４時間～約７２時間、又は約２４時間～約４８時間、又は約４８時間～約１００時間、又は約４８時間～約９６時間、又は約４８時間～約７２時間、又は約７２時間～約１００時間、又は約７２時間～約９６時間、約１５℃～約３０℃の温度で保持される。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む解凍製剤

原料は、約１５時間～約９６時間、又は約１５時間～約７２時間、又は約１５時間～約４８時間、又は約２４時間～約９６時間、又は約２４時間～約７２時間、又は約２４時間～約４８時間、又は約４８時間～約１００時間、又は約４８時間～約９６時間、又は約４８時間～約７２時間、又は約７２時間～約１００時間、又は約７２時間～約９６時間、約１５℃～約２５℃の温度で保持される。一実施形態では、二特異性抗体を含む解凍製剤原料は、約１０時間～約９６時間、又は約１０時間～約７２時間、又は約１０時間～約４８時間、又は約１０時間～約２４時間、又は約２４時間～約９６時間、又は約２４時間～約７２時間、又は約２４時間～約４８時間、又は約４８時間～約９６時間、又は約７２時間～約９６時間、約１０℃～約３０℃の温度で保持される。別の実施形態では、二特異性抗体を含む解凍製剤原料は、約４時間、又は約１０時間、又は約２４時間、又は約４８時間、又は約６０時間、又は約７２時間、又は約９６時間、又は約１２０時間、又は約１５０時間、約１０℃～約３０℃の温度で保持される。

【００４３】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む解凍製剤原料は、二特異性抗体を含む製剤原料中の凝集対のレベルが、凍結状態下での保管前とほぼ同じレベルに低下するように、ある時間にわたり約５℃～約４５℃の温度で保持される。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む解凍された製剤原料は、約４時間～二特異性抗体を含む製剤原料中の凝集体のレベルが凍結状態下での保管の前とほぼ同じレベルに低下する時間までの期間にわたり、約５℃～約４５℃の温度で保持される。当業者により認識され得るように、解凍製剤原料中の凝集体のレベルを特定の温度での凍結状態下での保管の前とほぼ同じレベルに低下させるために必要な時間は、当技術分野で公知であり、使用される方法（例えばＳＥ－ＵＨＰＬＣ）を使用して、凍結状態下での保管前の製剤原料中で、及び融解後の様々な時点で凝集体のレベルを測定することにより決定され得、例えば実施例５を参照のこと。

【００４４】

ある一定の実施形態では、製剤原料は、製剤原料が解凍される温度と同じ温度で保持される。例えば、二特異性抗体を含む製剤原料は、例えば約５℃～約４５℃の温度などの上記で開示される解凍及び保持温度の何れかの温度で解凍され得、次に、解凍後少なくとも４時間（例えば、約４時間～約１５０時間、又は約４時間～約１２０時間、又は約４時間～約９６時間、又は約４時間～約７２時間、又は約４時間～約４８時間、又は約４時間～約２４時間、又は約８時間～約９６時間、又は約８時間～約７２時間、又は約８時間～約４８時間、又は約２４時間～約７２時間、又は約２４時間～約４８時間）、同じ温度で保持され得る。製剤原料が解凍されるか否かは、当業者により容易に判断され得る。

【００４５】

ある一定の実施形態では、製剤原料は、製剤原料が解凍される温度と同じ温度で保持され、製剤原料は、二特異性抗体を含む製剤原料中の凝集体のレベルが凍結状態下での保管前とほぼ同じレベルに低下するまで全時間（解凍及び保持のための時間）にわたり同じ温度下に置く。実施例で示されるように、当業者は、当技術分野で公知の方法、例えばＳＥ－ＵＨＰＬＣを使用して、凍結前及び解凍後の様々な時点の製剤原料中の凝集体のレベルを決定し得る。一実施形態では、製剤原料は、約３０時間～約１００時間の全時間、又は約３０時間～約９０時間の全時間、又は約３０時間～約８０時間の全時間、又は約３０時間～約７０時間の全時間、又は約３０時間～約６０時間の全時間、又は約３０時間～約５０時間の全時間にわたり、約５℃～約４５℃の同じ温度で、解凍され、保持される。一実施形態では、製剤原料は、約３０時間～約１００時間の全時間、又は約３０時間～約９０時間の全時間、又は約３０時間～約８０時間の全時間、又は約３０時間～約７０時間の全時間、又は約３０時間～約６０時間の全時間、又は約３０時間～約５０時間の全時間にわたり、約１５℃～約３０℃の同じ温度で、解凍され、保持される。

【００４６】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料を解凍中に穏やかに混合する。穏やかな混合は、例えば傾斜振盪器を使用するか又は製剤原料の容器を穏やかに転倒撹拌することによって達成され得る。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料

を解凍中に混合せず、代わりに解凍後に製剤原料を穏やかに混合する。

【００４７】

ある一定の実施形態では、製剤原料は、約０．０１ｍｇ／ｍＬ～約２５ｍｇ／ｍＬ、又は約０．０５ｍｇ／ｍＬ～約２５ｍｇ／ｍＬ、約０．１ｍｇ／ｍＬ～約２５ｍｇ／ｍＬ、約０．５ｍｇ／ｍＬ～約２５ｍｇ／ｍＬ、又は約１ｍｇ／ｍＬ～約２５ｍｇ／ｍＬの濃度で二特異性抗体を含む。ある一定の実施形態では、製剤原料は、約１ｍｇ／ｍＬ～約２０ｍｇ／ｍＬ、又は約１ｍｇ／ｍＬ～約１５ｍｇ／ｍＬ、又は約１ｍｇ／ｍＬ～約１０ｍｇ／ｍＬ、又は約１ｍｇ／ｍＬ～約５ｍｇ／ｍＬの濃度で二特異性抗体を含む。ある一定の実施形態では、製剤原料は、約０．０１ｍｇ／ｍＬ、約０．０５ｍｇ／ｍＬ、約０．１ｍｇ／ｍＬ、約０．５ｍｇ／ｍＬ、約１ｍｇ／ｍＬ、約２ｍｇ／ｍＬ、約３ｍｇ／ｍＬ、約４ｍｇ／ｍＬ、約５ｍｇ／ｍＬ、約６ｍｇ／ｍＬ、約７ｍｇ／ｍＬ、約８ｍｇ／ｍＬ、約９ｍｇ／ｍＬ、約１０ｍｇ／ｍＬ、約１１ｍｇ／ｍＬ、約１２ｍｇ／ｍＬ、約１３ｍｇ／ｍＬ、約１４ｍｇ／ｍＬ、約１５ｍｇ／ｍＬ、約１６ｍｇ／ｍＬ、約１７ｍｇ／ｍＬ、約１８ｍｇ／ｍＬ、約１９ｍｇ／ｍＬ、約２０ｍｇ／ｍＬ、又は約２５ｍｇ／ｍＬの濃度で二特異性抗体を含む。

【００４８】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約ｐＨ３．５～約ｐＨ７．５又は約ｐＨ４．０～約ｐＨ７．０の範囲のｐＨを有する。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約ｐＨ４．０～約ｐＨ６．５の範囲のｐＨを有する。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約ｐＨ４．０～約ｐＨ４．８の範囲のｐＨを有する。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、約３．５、約４．０、約４．２、約４．４、約４．６、約４．８、約５．０、約５．２、約５．４、約５．６、約５．８、約６、約６．２、約６．４、約６．６、約７．０又は約７．５のｐＨを有する。

【００４９】

ある一定の実施形態では、本方法は、製剤原料をろ過することをさらに含む。ある一定の実施形態では、ろ過段階は、滅菌ろ過を含む。滅菌ろ過は、当技術分野で周知であり、一般的に使用される。例えば、滅菌ろ過は、液流の方向がろ過媒体（例えば膜）に対して垂直であり、精製液体がろ過媒体を通過する、Ｎｏｒｍａｌ　Ｆｌｏｗ　Ｆｉｌｔｒａｔｉｏｎ（ＮＦＦ）を使用して行われ得る。ある一定の実施形態では、二特異性抗体の凝集を減少させ得る薬剤、例えばアミノ酸、ポリオール、例えばベンジルアルコール、シクロデキストラン、デキストラン及びポリエチレングリコール（ＰＥＧ）などを製剤原料に添加し得る。

【００５０】

ある一定の実施形態では、本方法により調製される組成物は医薬組成物である。本明細書で使用される場合、「医薬組成物」という用語は、それを必要とする患者（例えばヒト）への注射及び／又は投与に適した二特異性抗体を含む処方物を指すものと理解される。より詳しくは、医薬組成物は実質的に無菌であり、レシピエントに対して過度な毒性又は感染性を有する如何なる物質も含有しない。

【００５１】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む組成物を調製するための方法は、本組成物を製剤形態に分割することをさらに含む。このような製剤形態は、単位剤形で、例えばアンプル、単回投与容器において、又は複数回投与容器において与えられ得る。製剤は、必要に応じて、二特異性抗体を含有する１つ以上の単位剤形を含有し得る、バイアル、パック又はディスペンサー装置中で与えられ得る。

【００５２】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む組成物を調製するための方法は、本組成物を凍結乾燥させることをさらに含む。ある一定の実施形態では、凍結乾燥段階は、本組成物を製剤形態に分割した後に行われる。医薬組成物を凍結乾燥させるための方法は、当技術分野で周知であり、一般的に使用される。例えば、Ｃｒｙｏｐｒｅｓｅｒｖａｔｉｏ

ｎ ａｎｄ Ｆｒｅｅｚｅ－Ｄｒｙｉｎｇ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ（Ｊ．Ｇ．Ｄａｙ ａｎｄ Ｇ．Ｎ．Ｓｔａｃｅｙ ｅｄ．，Ｓｐｒｉｎｇｅｒ ２０１７）を参照。凍結乾燥段階は、分割段階前又は後に行われ得る。

【００５３】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む組成物を調製するための方法は、本組成物を噴霧乾燥することをさらに含む。医薬組成物を噴霧乾燥するための方法は、当技術分野で周知であり、一般的に使用される。例えば、Ｎｉｖｅｎ，Ｒ．，Ｐｒｅｓｔｒｅｌｓｋｉ，Ｓ．Ｊ．，Ｔｒｅｕｈｅｉｔ，Ｍ．Ｊ．，Ｉｐ，Ａ．Ｙ．ａｎｄ Ａｒａｋａｗａ，Ｔ．Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｎｅｂｕｌｉｚａｔｉｏｎ ＩＩ．Ｓｔａｂｉｌｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ Ｇ－ＣＳＦ ｔｏ ａｉｒ－ｊｅｔ ｎｅｂｕｌｉｚａｔｉｏｎ ａｎｄ ｔｈｅ ｒｏｌｅ ｏｆ ｐｒｏｔｅｃｔａｎｔｓ．（１９９６）Ｉｎｔ．Ｊ．Ｐｈａｒｍ．１２７：１９１－２０を参照。噴霧乾燥段階は、分割段階の前又は後に行われ得る。

【００５４】

本明細書中で開示される方法は、二特異性抗体の凝集体を減少させる。本方法は、解凍された抗体が、ある一定の温度、例えば約５℃～約４５℃で、少なくとも４時間（例えば約４時間～約９６時間の期間）保持される場合、凍結状態下（例えば約－２０℃～約－４０℃）での保管中に形成された凝集体を減少させるという驚くべき知見に基づく。何らかの理論により縛られることを望むものではないが、凝集体は、保持期間後に非凝集状態に戻ると考えられる。

【００５５】

ある一定の実施形態では、凝集体はＨＭＷ凝集体を含む。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、保持期間後、ＨＭＷ凝集体約５％未満又は約３％未満又は約２％未満又は約１％未満又は約０．５％未満を含む。ある一定の実施形態では、凍結状態下で形成されるＨＭＷ凝集体が凍結前と同じレベル又は実質的に同じレベルに減少する。ある一定の実施形態では、ＨＭＷ凝集体は、二特異性抗体の二量体を含む。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、保持期間後、二特異性抗体の二量体約１％未満を含む。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、保持期間後、二特異性抗体の二量体約０．５％未満を含む。

【００５６】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、保持期間後、ＨＭＷ凝集体約５％未満又は約３％未満又は約２％未満又は約１％未満又は約０．５％未満を含む。ある一定の実施形態では、ＨＭＷ凝集体は二特異性抗体の二量体を含む。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、保持期間後、二特異性抗体の二量体約１％未満を含む。ある一定の実施形態では、二特異性抗体を含む製剤原料は、保持期間後、二特異性抗体の二量体約０．５％未満を含む。

【００５７】

本明細書中で開示される方法は、二特異性抗体又は二特異性抗体を含む製剤原料の安定性に影響がないか又は実質的に影響がない。ある一定の実施形態では、本方法は、凍結前の二特異性抗体又は製剤原料と比較して、同じ又は実質的に同じ色及び／又は透明性を有する、二特異性抗体又は二特異性抗体を含む製剤原料を作製する。ある一定の実施形態では、本方法は、凍結前に、二特異性抗体又は製剤原料と比較して、同じ又は実質的に同じチャージバリアントを有する、二特異性抗体又は二特異性抗体を含む製剤原料を作製する。ある一定の実施形態では、本方法は、凍結前の二特異性抗体又は二特異性抗体を含む製剤原料と比較して、同じ又は実質的に同じ効力を有する二特異性抗体又は二特異性抗体を含む製剤原料を作製する。ある一定の実施形態では、本方法は、凍結前の二特異性抗体又は二特異性抗体を含む製剤原料と比較して、同じ又は実質的に同じクリッピングレベルを有する二特異性抗体又は二特異性抗体を含む製剤原料を作製する。ある一定の実施形態では、本方法は、凍結前の二特異性抗体又は二特異性抗体を含む製剤原料と比較して、同じ又は実質的に同じ化学的修飾（例えばグリコシル化）を有する二特異性抗体又は二特異性抗体を含む製剤原料を作製する。ある一定の実施形態では、本方法は、凍結前の二特異性抗体又は二特異性抗体を含む製剤原料と比較して、同じ又は実質的に同じｐＨを有する二

特異性抗体又は二特異性抗体を含む製剤原料を作製する。

【００５８】

二特異性抗体

本明細書中で開示される方法で使用され得る二特異性抗体は、凍結状態下で、例えば－２０℃～－５０℃の範囲の温度で、例えば抗体の異なる領域間の疎水性相互作用ゆえに凝集する傾向があるものを含む。本明細書中で使用される場合、「二特異性抗体」という用語は、２つの異なる抗原又は標的又はエピトープに特異的に結合可能な抗体を指すものとして理解される。ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、ある抗原又は標的に特異的に結合する第１のドメインと、別の抗原又は標的に特異的に結合する第２のドメインと、を含む。ある一定の実施形態では、二特異性抗体の第１のドメインは、標的細胞表面抗原に特異的に結合し、二特異性抗体の第２の結合ドメインは、ヒトＣＤ３、Ｔ細胞上のＴ細胞受容体複合体のサブユニットに特異的に結合する。ある一定の好ましい実施形態では、二特異性抗体は、二特異性Ｔ細胞エンゲージャー（ＢｉＴＥ）抗体コンストラクトである。例えば国際公開第２００８１１９５６７号パンフレット及び国際公開第２０１７１３４１４０号パンフレットを参照。

【００５９】

本明細書中で下のように、「ドメインが特異的に結合する」又は「結合するドメイン」という用語は、ある種の標的又はエピトープに特異的に結合する／それと相互作用する／それを認識するドメインを指すものと理解される。抗体コンストラクトの結合ドメインは、標的結合を可能にする抗体の最小構造要件を含む。この最小要件は、少なくとも３つの軽鎖ＣＤＲ（即ち軽鎖可変領域（ＶＬ）領域のＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３）及び／又は３つの重鎖ＣＤＲ（即ち重鎖可変領域（ＶＨ）領域のＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３）、好ましくは６つ全てのＣＤＲの存在によって定義され得る。好ましくは、これらのＣＤＲは、抗体ＶＬ及び抗体ＶＨのフレームワークに含まれる。この用語は、全長抗体及び抗体変異体の断片を含む。抗体断片、抗体変異体又は結合ドメインの例としては、次のもの：（１）Ｆａｂ断片、ＶＬ、ＶＨ、ＣＬ及びＣＨ１ドメインを有する一価断片；（２）Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、ヒンジ領域でジスルフィド架橋により連結される２つのＦａｂ断片を有する二価断片；（３）２つのＶＨ及びＣＨ１ドメインを有するＦｄ断片；（４）抗体のシングルアームのＶＬ及びＶＨドメインを有するＦｖ断片、（５）ＶＨドメインを有する、ｄＡｂ断片（Ｗａｒｄ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８９）Ｎａｔｕｒｅ　３４１：５４４－５４６）；（６）単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）及び（７）１本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）が挙げられ、好ましいのは後者（例えばｓｃＦｖ－ライブラリ由来）である。さらなる抗体断片としては、ＶＨ、ＶＨＨ、ＶＬ、（ｓ）ｄＡｂ、Ｆａｂ’及び「ｒ　ＩｇＧ」（「半抗体」）が挙げられる。

【００６０】

「抗体コンストラクト」という用語は、その構造及び／又は機能が、抗体、例えば全長又は完全免疫グロブリン分子の構造及び／又は機能に基づいており、及び／又は抗体若しくはその断片の可変重鎖（ＶＨ）及び／又は可変軽鎖（ＶＬ）ドメインから引き出される分子を指すと理解される。従って、抗体コンストラクトは、その特異的な標的又は抗原に結合可能である。抗体コンストラクトとしては、抗体バリアントとも呼ばれる、抗体の修飾断片、例えばｓｃＦｖ、ジ－ｓｃＦｖ又はバイ（ｓ）－ｓｃＦｖ、ｓｃＦｖ－Ｆｃ、ｓｃＦｖ－ジッパー、ｓｃＦａｂ、Ｆａｂ$_2$、Ｆａｂ$_3$、ダイアボディー、１本鎖ダイアボディー、タンデムダイアボディー（Ｔａｎｄａｂ’ｓ）、タンデムジ－ｓｃＦｖ、タンデムトリ－ｓｃＦｖ、「マルチボディ」、例えばトリアボディー又はテトラボディー及び単一ドメイン抗体、例えばナノボディー又は、他のＶ領域若しくはドメインに非依存的に抗原若しくはエピトープに特異的に結合するＶＨＨ、ＶＨ若しくはＶＬであり得る１つのみの可変ドメインを含む単一可変ドメイン抗体も挙げられる。

【００６１】

本明細書中で使用される場合、「１本鎖Ｆｖ」、「１本鎖抗体」又は「ｓｃＦｖ」という用語は、重鎖及び軽鎖の両方由来の可変領域を含むが、定常領域を欠く単一ポリペプチ

ド鎖抗体断片を指すと理解される。通常、一本鎖抗体は、抗原結合を可能にする所望の構造を形成可能にする、ＶＨとＶＬドメインとの間のポリペプチドリンカーをさらに含む。１本鎖抗体は、Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ｖｏｌ．１１３，Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ ａｎｄ Ｍｏｏｒｅ ｅｄｓ．Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ｐｐ．２６９－３１５（１９９４）においてＰｌｕｃｋｔｈｕｎによって詳細に論じられる。１本鎖抗体を作製する様々な方法が知られており、米国特許第４，６９４，７７８号明細書及び同第５，２６０，２０３号明細書；国際公開第８８／０１６４９号パンフレット；Ｂｉｒｄ（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４４２；Ｈｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：５８７９－５８８３；Ｗａｒｄ ｅｔ ａｌ．（１９８９）Ｎａｔｕｒｅ ３３４：５４４５４；Ｓｋｅｒｒａ ｅｔ ａｌ．（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：１０３８－１０４１に記載されるものが挙げられる。具体的な実施形態では、１本鎖抗体は、二特異性ヒト及び／又はヒト化及び／又は合成抗体でもあり得る。

【００６２】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体の第１及び第２のドメインは、「二特異性１本鎖抗体コンストラクト」、より好ましくは二特異性「１本鎖Ｆｖ」（ｓｃＦｖ）である。Ｆｖ断片の２つのドメインであるＶＬ及びＶＨが、個別の遺伝子によってコードされるものの、それらは、組み換え法を用いて、ＶＬ及びＶＨ領域が一価分子を形成するように対形成する単一のタンパク質鎖としてそれらの作製を可能にする、本明細書中に記載のような、合成リンカーによって連結され得る；例えば、Ｈｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ ＵＳＡ ８５：５８７９－５８８３を参照。これらの抗体断片は、当業者にとって公知の従来技術を用いて得られ、その断片は、完全又は全長抗体と同じように機能について評価される。故に、ｓｃＦｖは通常、約１０～約２５アミノ酸、好ましくは約１５～２０アミノ酸の短いリンカーペプチドで連結される、免疫グロブリンの重鎖（ＶＨ）及び軽鎖（ＶＬ）の可変領域の融合タンパク質である。リンカーは通常、柔軟性のためにグリシン、並びに溶解性のためにセリン又はスレオニンに富み、ＶＨのＮ末端をＶＬのＣ末端に連結するか又はその逆の何れかであり得る。このｓｃＦｖは、定常領域の除去及びリンカーの導入にもかかわらず、元の免疫グロブリンの特異性を保持する。

【００６３】

二特異性１本鎖可変断片（形式（ｓｃＦｖ）$_2$を有するバイ－ｓｃＦｖ又はジ－ｓｃＦｖ）は、２個のｓｃＦｖ分子を（例えば本明細書中に記載のようなリンカーを用いて）連結することにより改変され得る。連結は、２個のＶＨ領域及び２個のＶＬ領域を有する単一のペプチド鎖を作製して、タンデムｓｃＦｖを生成させることによってなされ得る（例えば、Ｋｕｆｅｒ Ｐ．ｅｔ ａｌ．，（２００４）Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２２（５）：２３８－２４４を参照）。別の可能性は、２つの可変領域を一緒に折り畳むには短すぎる（例えば約５アミノ酸の）リンカーペプチドを用いてｓｃＦｖ分子を作製し、ｓｃＦｖを二量体化させることである。このタイプは、ダイアボディーとして知られている（例えば、Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ，Ｐｈｉｌｉｐｐ ｅｔ ａｌ．，（Ｊｕｌｙ １９９３）Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｎａｔｉｏｎａｌ Ａｃａｄｅｍｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ ｏｆ Ａｍｅｒｉｃａ ９０（１４）：６４４４－８を参照）。

【００６４】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体の第１及び第２のドメインは、それぞれ、標的細胞表面抗原及びヒトＣＤ３に特異的に結合する。ある一定の実施形態では、二特異性抗体の第１及び第２のドメインは、（ｓｃＦｖ）$_2$、ｓｃＦｖ－シングルドメインｍＡｂ、ダイアボディー及び何れかの形式のオリゴマーからなる群から選択される形式で二特異性抗体コンストラクトを形成する。

【００６５】

ある一定の実施形態では、第１、第２又は第１及び第２のドメイン何れかが、単一ドメイン抗体、それぞれ、単一ドメイン抗体の可変ドメイン又は少なくともＣＤＲを含み得る。単一ドメイン抗体は、他のＶ領域又はドメインに非依存的に、特異抗原に選択的に結合可能である１つのみの（単量体の）抗体可変ドメインを含む。最初の単一ドメイン抗体は、ラクダにおいて見出される重鎖抗体から作製され、これらは、ＶＨＨ断片と呼ばれる。軟骨魚類も、それから$V_{NAR}$断片と呼ばれる単一ドメイン抗体を得ることのできる重鎖抗体（ＩｇＮＡＲ）を有する。代替的なアプローチは、例えば、ヒト又はげっ歯類由来の一般的な免疫グロブリン由来の二量体可変ドメインを単量体に分割し、それによって単一ドメインＡｂとしてＶＨ又はＶＬを得ることである。単一ドメイン抗体に関する大部分の研究は、現時点で重鎖可変ドメインに基づいているが、軽鎖由来のナノボディーも標的エピトープに特異的に結合することが示されている。単一ドメイン抗体の例は、ｓｄＡｂ、ナノボディー又は単一可変ドメイン抗体と呼ばれる。

【００６６】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体の第１の（結合）ドメインは標的細胞表面抗原に結合する。一部の実施形態では、標的細胞表面抗原はＣＤ７０である。ＣＤ７０（ＣＤ２７Ｌ又はＴＮＦＳＦ７としても知られる）は、正常な発現が活性化Ｔ及びＢ細胞、成熟樹状細胞及び胸腺髄質上皮細胞のサブセットに制限されるＩＩ型膜内在性タンパク質である。

【００６７】

他の実施形態では、標的細胞表面抗原は腫瘍抗原である。本明細書中で使用される場合、「腫瘍抗原」という用語は、腫瘍細胞上に提示されるそれらの抗原を指すものと理解される。これらの抗原は、細胞外部分とともに細胞表面上に提示され得、多くの場合、分子の膜貫通部分及び細胞質部分を併せ持つ。これらの抗原は、腫瘍細胞によってのみ提示され得、正常細胞によって決して提示され得ない。腫瘍抗原は、腫瘍細胞上に限って発現され得るか、又は正常細胞と比較して腫瘍特異的突然変異を示し得る。この場合、それらは、腫瘍特異抗原と呼ばれる。より一般的な抗原は、腫瘍細胞及び正常細胞によって提示される抗原であり、それらは、腫瘍関連抗原と呼ばれる。これらの腫瘍関連抗原は、正常細胞と比較して過剰発現され得るか、又は正常組織と比較して、腫瘍組織のよりコンパクトさに欠ける構造ゆえに、腫瘍細胞において抗体結合のために接近可能である。一部の実施形態では、第２の（結合）ドメインは、ＣＤ１９、ＣＤ３３、上皮増殖因子受容体変異体ｉｉｉ（ＥＧＦＲｖＩＩＩ）、メソテリン（ＭＳＬＮ）、カドヘリン１９（ＣＤＨ１９）、ＦＭＳ様チロシンキナーゼ３（ＦＬＴ３）、デルタ様リガンド３（ＤＬＬ３）、胎盤カドヘリン（ＣＤＨ３）、Ｂ細胞成熟抗原（ＢＣＭＡ）又は前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）から選択される腫瘍抗原に結合する。一部の実施形態では、腫瘍抗原はヒト腫瘍抗原である。

【００６８】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体の第２の（結合）ドメインは、Ｔ細胞の表面上のヒトＣＤ３のイプシロンに結合する。ある一定の好ましい実施形態では、二特異性抗体の第２のドメインは、ヒトＣＤ３ε鎖の細胞外エピトープに結合する。一部の好ましい実施形態では、ヒトＣＤ３の細胞外エピトープに結合する二特異性抗体の第２のドメインは、次から選択されるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２及びＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ領域を含む：

（ａ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号２７で示されるようなＣＤＲ－Ｌ１、国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号２８で示されるようなＣＤＲ－Ｌ２及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号２９で示されるようなＣＤＲ－Ｌ３；

（ｂ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１１７で示されるようなＣＤＲ－Ｌ１、国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１１８で示されるようなＣＤＲ－Ｌ２及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１１９で示されるようなＣＤＲ－Ｌ３；及び

（ｃ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１５３で示される

ようなＣＤＲ－Ｌ１、国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１５４で示されるようなＣＤＲ－Ｌ２及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１５５で示されるようなＣＤＲ－Ｌ３。

【００６９】

別の好ましい実施形態では、二特異性抗体の第２のドメインは、ヒトＣＤ３イプシロン鎖の細胞外エピトープに結合し、次から選択されるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２及びＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨ領域を含む：

（ａ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１２で示されるようなＣＤＲ－Ｈ１、国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１３で示されるようなＣＤＲ－Ｈ２及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１４で示されるようなＣＤＲ－Ｈ３；

（ｂ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号３０で示されるようなＣＤＲ－Ｈ１、国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号３１で示されるようなＣＤＲ－Ｈ２及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号３２で示されるようなＣＤＲ－Ｈ３；

（ｃ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号４８で示されるようなＣＤＲ－Ｈ１、国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号４９で示されるようなＣＤＲ－Ｈ２及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号５０で示されるようなＣＤＲ－Ｈ３；

（ｄ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号６６で示されるようなＣＤＲ－Ｈ１、国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号６７で示されるようなＣＤＲ－Ｈ２及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号６８で示されるようなＣＤＲ－Ｈ３；

（ｅ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号８４で示されるようなＣＤＲ－Ｈ１、国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号８５で示されるようなＣＤＲ－Ｈ２及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号８６で示されるようなＣＤＲ－Ｈ３；

（ｆ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１０２で示されるようなＣＤＲ－Ｈ１、国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１０３で示されるようなＣＤＲ－Ｈ２及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１０４で示されるようなＣＤＲ－Ｈ３；

（ｇ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１２０で示されるようなＣＤＲ－Ｈ１、国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１２１で示されるようなＣＤＲ－Ｈ２及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１２２で示されるようなＣＤＲ－Ｈ３；

（ｈ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１３８で示されるようなＣＤＲ－Ｈ１、国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１３９で示されるようなＣＤＲ－Ｈ２及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１４０で示されるようなＣＤＲ－Ｈ３；

（ｉ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１５６で示されるようなＣＤＲ－Ｈ１、国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１５７で示されるようなＣＤＲ－Ｈ２及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１５８で示されるようなＣＤＲ－Ｈ３；及び

（ｊ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１７４で示されるようなＣＤＲ－Ｈ１、国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１７５で示されるようなＣＤＲ－Ｈ２及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１７６で示されるようなＣＤＲ－Ｈ３。

【００７０】

ある一定の好ましい実施形態では、上記の３群のＶＬ　ＣＤＲが、第２の結合ドメイン内でＶＨ　ＣＤＲの上記の１０個の群と組み合わせられて、ＣＤＲ１～３をそれぞれ含む

（３０）群を形成する。
【００７１】
ＣＤ３に結合する第２のドメインが、国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１５、１９、３３、３７、５１、５５、６９、７３、８７、９１、１０５、１０９、１２３、１２７、１４１、１４５、１５９、１６３、１７７又は１８１で示されるような、又は配列番号１５又は２４として今回の配列リストで示されるようなＶＨ領域の群から選択されるＶＨ領域を含むことも好ましい。
【００７２】
ＣＤ３に結合する第２のドメインが、国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１７、２１、３５、３９、５３、５７、７１、７５、８９、９３、１０７、１１１、１２５、１２９、１４３、１４７、１６１、１６５、１７９若しくは１８３で示されるような、又は配列番号１６又は２５として今回の配列リストで示されるようなＶＬ領域の群から選択されるＶＬ領域を含むことが好ましい。
【００７３】
より好ましくは、二特異性抗体は、次から選択されるＶＬ領域及びＶＨ領域を含むＣＤ３に結合する第２のドメインを特徴とする：
（ａ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１７又は２１で示されるようなＶＬ領域及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１５又は１９で示されるようなＶＨ領域；
（ｂ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号３５又は３９で示されるようなＶＬ領域及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号３３又は３７で示されるようなＶＨ領域；
（ｃ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号５３又は５７で示されるようなＶＬ領域及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号５１又は５５で示されるようなＶＨ領域；
（ｄ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号７１又は７５で示されるようなＶＬ領域及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号６９又は７３で示されるようなＶＨ領域；
（ｅ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号８９又は９３で示されるようなＶＬ領域及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号８７又は９１で示されるようなＶＨ領域；
（ｆ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１０７又は１１１で示されるようなＶＬ領域及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１０５又は１０９で示されるようなＶＨ領域；
（ｇ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１２５又は１２９で示されるようなＶＬ領域及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１２３又は１２７で示されるようなＶＨ領域；
（ｈ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１４３又は１４７で示されるようなＶＬ領域及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１４１又は１４５で示されるようなＶＨ領域；
（ｉ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１６１又は１６５で示されるようなＶＬ領域及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１５９又は１６３で示されるようなＶＨ領域；又は
（ｊ）国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１７９又は１８３で示されるようなＶＬ領域及び国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号１７７又は１８１で示されるようなＶＨ領域。
【００７４】
また好ましい実施形態では、二特異性抗体は、配列番号１６又は２５で示されるようなＶＬ領域及び配列番号１５又は２４として今回の配列リストで示されるようなＶＨ領域を含むＣＤ３に結合する第２のドメインを含む。

【００７５】
上記の二特異性抗体の好ましい実施形態は、国際公開第２００８／１１９５６７号パンフレットの配列番号２３、２５、４１、４３、５９、６１、７７、７９、９５、９７、１１３、１１５、１３１、１３３、１４９、１５１、１６７、１６９、１８５又は１８７から選択されるか又は配列番号２６として今回の配列リストで示されるアミノ酸配列を含むＣＤ３に結合する第２のドメインを特徴とする。
【００７６】
好ましい実施形態によれば、第１の及び／又は第２のドメインは次の方式を有する：ＶＨ領域とＶＬ領域との対は、１本鎖抗体（ｓｃＦｖ）の形式である。ＶＨ及びＶＬ領域は、ＶＨ－ＶＬ又はＶＬ－ＶＨの順に配置される。ＶＨ領域がリンカー配列のＮ末端に配置され、ＶＬ領域がリンカー配列のＣ末端に配置されることが好ましい。ある一定の実施形態では、二特異性抗体の第１及び第２のドメインは、これらの形式の何れかの（ｓｃＦｖ）$_2$、ｓｃＦｖ－単一ドメインｍＡｂ、ダイアボディー又はオリゴマーから選択される形式の二特異性抗体を形成する。
【００７７】
ある一定の好ましい実施形態では、二特異性抗体は第３のドメインをさらに含む。ある一定の実施形態では、第３のドメインは１本鎖Ｆｃ（ｓｃＦｃ）ドメインである。ある一定の好ましい実施形態では、ｓｃＦｃドメインはｓｃＦｃ半減期延長（ＨＬＥ）ドメインである。
【００７８】
「Ｆｃ」部分又は「Ｆｃ」単量体は、免疫グロブリン分子のＣＨ２ドメインの機能を有する少なくとも１つのドメイン及びＣＨ３ドメインの機能を有する少なくとも１つのドメインを含むポリペプチドを指すと理解される。このＣＨドメインを含むポリペプチドは「ポリペプチド単量体」である。Ｆｃ単量体は、少なくとも重鎖の第１の定常領域免疫グロブリンドメイン（ＣＨ１）を除く免疫グロブリンの定常領域の断片を含むが、少なくとも、１つのＣＨ２ドメインの機能的部分及び１つのＣＨ３ドメインの機能的部分を維持しており、ＣＨ２ドメインがＣＨ３ドメインに対してアミノ末端側にある、ポリペプチドであり得る。好ましい実施形態では、Ｆｃ単量体は、Ｉｇ－Ｆｃヒンジ領域の一部、ＣＨ２領域及びＣＨ３領域を含み、ヒンジ領域がＣＨ２ドメインに対してアミノ末端側にあるポリペプチド定常領域であり得る。二特異性抗体のヒンジ領域は二量体化を促進すると考えられる。このようなＦｃポリペプチド分子は、例えば免疫グロブリン領域のパパイン消化により得られ得る（当然ではあるが２個のＦｃポリペプチドの二量体が得られる）。別の実施形態では、Ｆｃ単量体は、ＣＨ２領域及びＣＨ３領域の一部を含むポリペプチド領域であり得る。このようなＦｃポリペプチド分子は、例えば免疫グロブリン分子のペプシン消化により得られ得る。一実施形態では、Ｆｃ単量体のポリペプチド配列は、実質的に次のＦｃポリペプチド配列と同様である：ＩｇＧ１　Ｆｃ領域、ＩｇＧ２　Ｆｃ領域、ＩｇＧ３　Ｆｃ領域、ＩｇＧ４　Ｆｃ領域、ＩｇＭ　Ｆｃ領域、ＩｇＡ　Ｆｃ領域、ＩｇＤ　Ｆｃ領域及びＩｇＥ　Ｆｃ領域。（例えば、Ｐａｄｌａｎ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，３１（３），１６９－２１７（１９９３）を参照）。一実施形態では、Ｆｃ単量体は、国際公開第２０１４／１５３０６３号パンフレットで開示されるようなアミノ酸配列を有する。免疫グロブリン間にいくつかのバリエーションがあるため、及び単に明確にするために、Ｆｃ単量体は、ＩｇＡ、ＩｇＤ及びＩｇＧの最後の２個の重鎖定常領域免疫グロブリンドメイン並びにＩｇＥ及びＩｇＭの最後の３個の重鎖定常領域免疫グロブリンドメインを指すと理解される。言及されるとおり、Ｆｃ単量体は、これらのドメインに対してＮ末端側にフレキシブルなヒンジも含み得る。ＩｇＡ及びＩｇＭの場合、Ｆｃ単量体は、Ｊ鎖を含み得る。ＩｇＧの場合、Ｆｃ部分は、免疫グロブリンドメインＣＨ２及びＣＨ３並びに最初の２つのドメインとＣＨ２との間のヒンジを含む。Ｆｃ部分の境界は変動し得るが、機能的ヒンジ、ＣＨ２及びＣＨ３ドメインを含むヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ部分に対する例は、例えば、Ｋａｂａｔに従うナンバリングで、ＣＨ３ドメインのカルボキシル末端の残基Ｄ２３１（ヒンジドメインの－以下の表１のＤ２３４に相当）～Ｐ４７６、それぞ

れＬ４７６（ＩｇＧ４の場合）を含むように定義され得る。ペプチドリンカーを介して互いに融合される２個のＦｃ部分又はＦｃ単量体は、本発明の抗体コンストラクトの第３のドメインを定め、これはｓｃＦｃドメインとも定められ得る。

【００７９】

ＩｇＧヒンジ領域は、表１で示されるようなＫａｂａｔナンバリングを使用して類似性により同定され得る。第３のドメインのヒンジドメイン／領域は、ＫａｂａｔナンバリングによるＤ２３４～Ｐ２４３の一続きのＩｇＧ配列に対応するアミノ酸残基を含むことが想定される。第３のドメインのヒンジドメイン／領域がＩｇＧ１ヒンジ配列ＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰ（配列番号１９１）を含むか又はそれからなることが同様に想定される（下記表１で示されるような一続きのＤ２３４～Ｐ２４３に対応－配列のバリエーションも想定されるが、ただしヒンジ領域は依然として二量体化を促進するものとする）。好ましい実施形態では、抗体コンストラクトの第３のドメイン中のＣＨ２ドメインのＫａｂａｔ位置３１４のグリコシル化部位は、Ｎ３１４Ｘ置換によって除去され、ここで、Ｘは、Ｑを除く何れかのアミノ酸である。この置換は、好ましくはＮ３１４Ｇ置換である。より好ましい実施形態では、このＣＨ２ドメインは、以下の置換（位置はＫａｂａｔに従う）Ｖ３２１Ｃ及びＲ３０９Ｃ（これらの置換は、Ｋａｂａｔ位置３０９及び３２１でドメイン内システインジスルフィド架橋を導入する）をさらに含む。

【００８０】

【表１】

表 1:ヒンジ領域のアミノ酸残基の Kabat ナンバリング

| ヒンジに対する IMGT ナンバリング | $IgG_1$ アミノ酸翻訳 | Kabat ナンバリング |
|---|---|---|
| 1 | (E) | 226 |
| 2 | P | 227 |
| 3 | K | 228 |
| 4 | S | 232 |
| 5 | C | 233 |
| 6 | D | 234 |
| 7 | K | 235 |
| 8 | T | 236 |
| 9 | H | 237 |
| 10 | T | 238 |
| 11 | C | 239 |
| 12 | P | 240 |
| 13 | P | 241 |
| 14 | C | 242 |
| 15 | P | 243 |

【００８１】

一部の実施形態では、ヒンジドメイン／領域は、ＩｇＧ２サブタイプヒンジ配列ＥＲＫＣＣＶＥＣＰＰＣＰ（配列番号１９２）、ＩｇＧ３サブタイプヒンジ配列ＥＬＫＴＰＬＤＴＴＨＴＣＰＲＣＰ（配列番号１９３）又はＥＬＫＴＰＬＧＤＴＴＨＴＣＰＲＣＰ（配列番号１９４）及び／又はＩｇＧ４サブタイプヒンジ配列ＥＳＫＹＧＰＰＣＰＳＣＰ（配列番号１９５）を含むか又はそれからなる。ＩｇＧ１サブタイプヒンジ配列は、次の配列ＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰであり得る（表１及び配列番号１９６で示されるとおり）。従って、これらのコアヒンジ領域も二特異性抗体に関連して想定される。

【００８２】
ＩｇＧ　ＣＨ２及びＩｇＧ　ＣＤ３ドメインの位置及び配列は、表２に記述されるようなＫａｂａｔナンバリングを用いて類似性によって同定され得る。
【００８３】
【表２】

表 2:IgG CH2 及び CH3 領域のアミノ酸残基の Kabat ナンバリング

| IgG サブタイプ | CH2 aa 翻訳 | CH2 Kabat ナンバリング | CH3 aa 翻訳 | CH3 Kabat ナンバリング |
|---|---|---|---|---|
| $IgG_1$ | APE... ...KAK | 244... ...360 | GQP.....PGK | 361... ...478 |
| $IgG_2$ | APP... ...KTK | 244... ...360 | GQP.....PGK | 361... ...478 |
| $IgG_3$ | APE... ...KTK | 244... ...360 | GQP.....PGK | 361... ...478 |
| $IgG_4$ | APE... ...KAK | 244... ...360 | GQP.....LGK | 361... ...478 |

【００８４】
一実施形態では、第１又は両方のＦｃ単量体のＣＨ３ドメイン中の太字で強調表示されたアミノ酸残基が欠失している。
【００８５】
第１のドメインを第２のドメインと融合させるために、又は第１のドメイン若しくは第２のドメインを第３のドメインと融合させるためにリンカーが使用される場合、このリンカーは、好ましくは、第１及び第２のドメインの各々が互いから独立してそれらの異なる結合特異性を保持することを確実にするために十分な長さ及び配列のリンカーである。二特異性抗体コンストラクト中の少なくとも２つの結合ドメイン（又は２つの可変ドメイン）を接続するペプチドリンカーの場合、それらのペプチドリンカーは、数個のアミノ酸残基のみを含むこと、例えば１２アミノ酸残基以下を含むことが好ましい。従って、１２、１１、１０、９、８、７、６又は５アミノ酸残基のペプチドリンカーが好ましい。５アミノ酸未満の想定されるペプチドリンカーは、４、３、２又は１アミノ酸を含み、ここでは、Ｇｌｙリッチリンカーが好ましい。
【００８６】
特に好ましい「単一」アミノ酸「ペプチドリンカー」はＧｌｙである。従って、ペプチドリンカーは、単一のアミノ酸Ｇｌｙからなり得る。好ましい実施形態では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ、即ちＧｌｙ４Ｓｅｒ（配列番号１９７）又はそのポリマー、即ち（Ｇｌｙ４Ｓｅｒ）ｘ（式中、ｘは１以上の整数（例えば２又は３）である）を特徴とする。別の好ましい実施形態では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ、即ちＧｌｙ４Ｓｅｒ（配列番号１９７）又はそのポリマー、即ち（Ｇｌｙ４Ｓｅｒ）ｘ（式中、ｘは、５以上の整数（例えば５、６、７、８など又はそれを超える）を有する。ある一定の実施形態では、ｘが６であること好ましい（（Ｇｌｙ４Ｓｅｒ）６）。二次構造の促進がないことを含むペプチドリンカーの特徴は、当技術分野で公知であり、例えばＤａｌｌ’Ａｃｑｕａ ｅｔ ａｌ．（Ｂｉｏｃｈｅｍ．（１９９８）３７，９２６６－９２７３），Ｃｈｅａｄｌｅ ｅｔ ａｌ．（Ｍｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｌ（１９９２）２９，２１－３０）及びＲａａｇ ａｎｄ Ｗｈｉｔｌｏｗ（ＦＡＳＥＢ（１９９５）９（１），７３－８０）に記載されている。いかなる二次構造も促進しないペプチドリンカーが好ましい。融合され、操作可能に連結される二特異性１本鎖コンストラクトを調製し、それらを哺乳動物細胞又は細菌において発現させるための方法は、当技術分野で周知である（例えば国際公開第９９／５４４４０号パンフレット又はＳａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ

ｅｗ　Ｙｏｒｋ，２００１）。

【００８７】

第１及び第２のドメインの融合のためのペプチドリンカーの好ましい実施形態は、Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ、即ちＧｌｙ４Ｓｅｒのアミノ酸配列（配列番号１９７）を有する。第２及び第３のドメインの融合のためのペプチドリンカーの好ましいリンカー実施形態は、（Ｇｌｙ）４－リンカーであり、それぞれＧ４－リンカーである。

【００８８】

第３のドメインのポリペプチド単量体（「Ｆｃ部分」又は「Ｆｃ単量体」）が互いに融合されるペプチドリンカーは、好ましくは、少なくとも２５アミノ酸残基（２５、２６、２７、２８、２９、３０など）を含む。より好ましくは、このペプチドリンカーは、少なくとも３０アミノ酸残基（３０、３１、３２、３３、３４、３５など）を含む。リンカーが最大４０アミノ酸残基を含むことも好ましく、より好ましくは最大３５アミノ酸残基、最も好ましくは正確に３０アミノ酸残基である。このようなペプチドリンカーの別の実施形態は、アミノ酸配列Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ、即ちＧｌｙ４Ｓｅｒ（配列番号１９７）又はそのポリマー、即ち（Ｇｌｙ４Ｓｅｒ）ｘ（式中、ｘは、５以上の整数（例えば６、７又は８）である）を特徴とする。好ましくは、整数は６又は７であり、より好ましくは、整数は６である。

【００８９】

一部の好ましい実施形態では、二特異性抗体の第３のドメインは、アミノからカルボキシルの順に：

ヒンジ－ＣＨ２－ＣＨ３－リンカー－ヒンジ－ＣＨ２－ＣＨ３があるＨＬＥドメインである。

【００９０】

ある一定の一実施形態では、第３のドメインの１つ又は好ましくは各々（両方）のポリペプチド単量体のＣＨ２ドメインは、ドメイン内システインジスルフィド架橋を含む。当技術分野で公知のように、「システインジスルフィド架橋」という用語は、一般構造Ｒ－Ｓ－Ｓ－Ｒを有する官能基を指す。この連結は、ＳＳ結合又はジスルフィド架橋とも呼ばれ、システイン残基の２つのチオール基のカップリングによって得られる。二特異性抗体に対して、成熟抗体コンストラクト中でシステインジスルフィド架橋を形成するシステインは、３０９及び３２１（Ｋａｂａｔナンバリング）に対応するＣＨ２ドメインのアミノ酸配列に導入されることが特に好ましい。

【００９１】

一実施形態では、ＣＨ２ドメインのＫａｂａｔ位置３１４のグリコシル化部位が除去される。このグリコシル化部位の除去は、Ｎ３１４Ｘ置換によって達成されることが好ましく、式中、Ｘは、Ｑを除く何れかのアミノ酸である。置換は、好ましくはＮ３１４Ｇ置換である。より好ましい実施形態では、このＣＨ２ドメインは、以下の置換（位置はＫａｂａｔに従う）Ｖ３２１Ｃ及びＲ３０９Ｃ（これらの置換は、Ｋａｂａｔ位置３０９及び３２１でドメイン内システインジスルフィド架橋を導入する）をさらに含む。

【００９２】

例えば当技術分野で公知の二特異性ヘテロＦｃ抗体コンストラクトと比較した二特異性抗体コンストラクトの好ましい特性は、とりわけ、ＣＨ２ドメインにおける上記の修飾の導入に関連し得ると考えられる。従って、二特異性抗体の第３のドメイン中のＣＨ２ドメインがＫａｂａｔ位置３０９及び３２１にドメイン内システインジスルフィド架橋を含み、及び／又はＫａｂａｔ位置３１４のグリコシル化部位が上記のようにＮ３１４Ｘ置換により、好ましくはＮ３１４Ｇ置換により除去されることが好ましい。

【００９３】

さらに好ましい実施形態では、二特異性抗体の第３のドメイン中のＣＨ２ドメインは、Ｋａｂａｔ位置３０９及び３２１にドメイン内システインジスルフィド架橋を含み、Ｋａｂａｔ位置３１４のグリコシル化部位がＮ３１４Ｇ置換によって除去される。

【００９４】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体の第３のドメインは、アミノからカルボキシルの順に、ＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰ（配列番号１９１）（即ちヒンジ）－ＣＨ２－ＣＨ３－リンカー－ＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰ（配列番号１９１）（即ちヒンジ）－ＣＨ２－ＣＨ３を含むか又はそれからなる。上述の二特異性抗体のペプチドリンカーは、好ましい実施形態では、アミノ酸配列Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ、即ちＧｌｙ４Ｓｅｒ（配列番号１９７又はそのポリマー、即ち（Ｇｌｙ４Ｓｅｒ）ｘ（式中、ｘは５以上の整数（例えば５、６、７、８など又はそれを超える））を特徴とし、６が好ましい（（Ｇｌｙ４Ｓｅｒ）６）。抗体は、上記の置換Ｎ３１４Ｘ、好ましくはＮ３１４Ｇ及び／又はさらなる置換Ｖ３２１Ｃ及びＲ３０９Ｃをさらに含み得る。

【００９５】

二特異性抗体は、例えば、その分子の単離に役立つか又はその分子の薬物動態プロファイルの適合に関連する、さらなるドメインも含み得る。抗体コンストラクトの単離に役立つドメインは、単離方法、例えば分離カラムで捕捉され得るペプチドモチーフ又は二次的に導入された部分から選択され得る。このようなさらなるドメインの非限定的な実施形態は、Ｍｙｃタグ、ＨＡＴタグ、ＨＡタグ、ＴＡＰタグ、ＧＳＴタグ、キチン結合ドメイン（ＣＢＤタグ）、マルトース結合タンパク質（ＭＢＰタグ）、Ｆｌａｇタグ、Ｓｔｒｅｐタグ及びその変異体（例えばＳｔｒｅｐＩＩタグ）及びＨｉｓタグとして知られるペプチドモチーフを含む。本明細書中で開示される二特異性抗体の全ては、分子のアミノ酸配列中の連続するＨｉｓ残基、好ましくは５個、より好ましくは６個のＨｉｓ残基（ヘキサヒスチジン）のリピートとして一般に知られる、Ｈｉｓタグドメインを含み得る。Ｈｉｓタグは、例えば、抗体コンストラクトのＮ末端にもＣ末端にも配置され得るが、Ｃ末端に配置されることが好ましい。最も好ましくは、ペプチド結合を介して、ヘキサヒスチジンタグ（ＨＨＨＨＨＨ）（配列番号１９８）が二特異性抗体のＣ末端に連結される。加えて、持続放出用途及び薬物動態プロファイルの向上のために、ＰＬＧＡ－ＰＥＧ－ＰＬＧＡのコンジュゲート系をポリヒスチジンタグと組み合わせ得る。

【００９６】

ある一定の実施形態では、二特異性抗体は、第１のドメイン及び第２のドメインを含み：

（ｉ）第１のドメインが、２つの抗体可変ドメインを含み、第２のドメインが、２つの抗体可変ドメインを含むか；

（ｉｉ）第１のドメインが、１つの抗体可変ドメインを含み、第２のドメインが、２つの抗体可変ドメインを含むか；

（ｉｉｉ）第１のドメインが、２つの抗体可変ドメインを含み、第２のドメインが、１つの抗体可変ドメインを含むか；又は

（ｉｖ）第１のドメインが、１つの抗体可変ドメインを含み、第２のドメインが、１つの抗体可変ドメインを含む。

【００９７】

従って、第１及び第２のドメインは、ＶＨ及びＶＬドメインなどのそれぞれ２つの抗体可変ドメインを含む結合ドメインであり得る。２つの抗体可変ドメインを含むこのような結合ドメインのための例は、上記で記載されており、例えば、本明細書中で上に記載のＦｖ断片、ｓｃＦｖ断片又はＦａｂ断片を含む。代わりに、それらの結合ドメインの何れか一方又は両方は、単一の可変ドメインのみを含み得る。このような単一ドメイン結合ドメインに対する例は本明細書中で上に記載され、例えば、他のＶ領域又はドメインに対して非依存的に抗原又はエピトープに特異的に結合するＶＨＨ、ＶＨ又はＶＬであり得る１つのみの可変ドメインを含むナノボディー又は単一可変ドメイン抗体を含む。

【００９８】

一部の好ましい実施形態では、二特異性抗体は、第１のドメイン、第２のドメイン及び第３のドメインを含み、第１のドメインはＣＤ７０に結合し、第２のドメインはヒトＣＤ３に結合し、第３のドメインは、アミノからカルボキシルの順に：ヒンジ－ＣＨ２－ＣＨ３－リンカー－ヒンジ－ＣＨ２－ＣＨ３を有するＨＬＥドメインである。他の好ましい実施形態では、二特異性抗体は、第１のドメイン、第２のドメイン及び第３のドメインを含

み、第１のドメインは、ＣＤ１９、ＣＤ３３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＭＳＬＮ、ＣＤＨ１９、ＦＬＴ３、ＤＬＬ３、ＣＤＨ３、ＢＣＭＡ又はＰＳＭＡから選択される腫瘍抗原に結合し、第２のドメインはヒトＣＤ３に結合し、第３のドメインは、アミノからカルボキシルの順に：ヒンジ－ＣＨ２－ＣＨ３－リンカー－ヒンジ－ＣＨ２－ＣＨ３を有するＨＬＥドメインである。好ましい実施形態では、第１及び第２のドメインは、ペプチドリンカーを介して第３のドメインに融合される。好ましいペプチドリンカーは、本明細書中で上に記載され、アミノ酸配列Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ、即ちＧｌｙ４Ｓｅｒ又はそのポリマー、即ち（Ｇｌｙ４Ｓｅｒ）ｘ（式中、ｘは、１以上の整数（例えば２、３、４、５、６又は７）である）を特徴とする。

【００９９】

一部の実施形態では、二特異性抗体は、次から選択されるアミノ酸配列を有することを特徴とする。

【０１００】

【表３】

| | | |
|---|---|---|
| (a) | 配列番号37～41; | CD33 |
| (b) | 配列番号51及び52; | EGFRvIII |
| (c) | 配列番号62、63及び64; | MSLN |
| (d) | 配列番号74～82 | CDH19 |
| (e) | 配列番号103及び104 | DLL3 |
| (f) | 配列番号17、113及び114 | CD19 |
| (g) | 配列番号92及び93 | FLT3 |
| (h) | 配列番号124及び125 | CDH3 |
| (i) | 配列番号135及び136 | BCMA |
| (j) | 配列番号146～151、161～168及び176～181 | PSMA又は |
| (k) | 配列番号188～190 | CD70 |

【０１０１】

前述の二特異性抗体の何れも、第３のドメインとともに提供されてもよいし、又は提供されなくてもよく、これは、半減期延長（ＨＬＥ）ドメインであり、好ましくはｓｃＦｃドメイン又はヘテロＦｃドメイン又はアルブミン結合ドメインである。ヒトＣＤ３に結合する二特異性抗体の第２のドメインは、（例えば上記のようなリンカーを介して）ＨＬＥドメインのＮ－末端又はＣ－末端と接続され得る。

【０１０２】

一部の実施形態では、二特異性抗体はＣＤ７０ｘＣＤ３二特異性抗体であり、これは、ＣＤ７０に結合する第１のドメイン及びＣＤ３に結合する第２のドメインを含む。一実施形態では、第１のドメインは、ＣＤ７０に結合し、配列番号１８２～１８７で示されるようなＣＤＲを有し、第２のドメインは、ＣＤ３に結合し、配列番号９～１４で示されるようなＣＤＲを有する。一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＨＬＥドメイン（第３のドメイン）をさらに含む。一実施形態では、二特異性抗体は、ＶＨ及びＶＬを含み、ＶＨは、配列番号１８８のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなり、ＶＬは、配列番号１８９のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。一実施形態では、ＣＤ７０ｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号１９０のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。

【０１０３】

一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＣＤ１９ｘＣＤ３二特異性抗体であり、これは

、ＣＤ１９に結合する第１のドメイン及びＣＤ３に結合する第２のドメインを含む。一実施形態では、第１のドメインは、ＣＤ１９に結合し、配列番号１～６で示されるようなＣＤＲを有し、第２のドメインは、ＣＤ３に結合し、配列番号９～１４で示されるようなＣＤＲを有する。別の実施形態では、第１のドメインは、ＣＤ１９に結合し、配列番号１０５～１０７及び１０９～１１１で示されるようなＣＤＲを有し、第２のドメインは、ＣＤ３に結合し、配列番号９～１４で示されるようなＣＤＲを有し、ＨＬＥドメイン（第３のドメイン）をさらに含む。一実施形態では、ＣＤ１９ｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号１７のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。別の実施形態では、ＣＤ１９ｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号１１４のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。

【０１０４】

一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＢＣＭＡｘＣＤ３二特異性抗体であり、これはＢＣＭＡに結合する第１のドメイン及びＣＤ３に結合する第２のドメインを含む。一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＨＬＥドメイン（第３のドメイン）をさらに含む。一実施形態では、第１のドメインは、ＢＣＭＡに結合し、配列番号１２６～１３１で示されるようなＣＤＲを有し、第２のドメインは、ＣＤ３に結合し、配列番号９～１４で示されるようなＣＤＲを有する。一実施形態では、ＢＣＭＡｘＣＤ３二特異性抗体は、ＶＨ及びＶＬを含み、ＶＨは、配列番号１３２のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなり、ＶＬは、配列番号１３３のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。一実施形態では、ＢＣＭＡｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号１３５のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。別の実施形態では、ＢＣＭＡｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号１３６のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。

【０１０５】

一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＣＤ３３ｘＣＤ３二特異性抗体であり、これは、ＣＤ３３に結合する第１のドメイン及びＣＤ３に結合する第２のドメインを含む。一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＨＬＥドメイン（第３のドメイン）をさらに含む。一実施形態では、第１のドメインは、ＣＤ３３に結合し、配列番号２９～３１及び３４～３６で示されるようなＣＤＲを有し、第２のドメインは、ＣＤ３に結合し、配列番号９～１４で示されるようなＣＤＲを有する。一実施形態では、ＣＤ３３ｘＣＤ３二特異性抗体は、ＶＨ及びＶＬを含み、ＶＨは、配列番号２７又は２８のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなり、ＶＬは、配列番号３２若しくは３３のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。一実施形態では、ＣＤ３３ｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号４０のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。別の実施形態では、ＢＣＭＡｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号４１のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。

【０１０６】

一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＥＧＦＲｖＩＩＩｘＣＤ３二特異性抗体であり、これは、ＥＧＦＲｖＩＩＩに結合する第１のドメイン及びＣＤ３に結合する第２のドメインを含む。一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＨＬＥドメイン（第３のドメイン）をさらに含む。一実施形態では、第１のドメインは、ＥＧＦＲｖＩＩＩに結合し、配列番号４２～４７で示されるようなＣＤＲを有し、第２のドメインは、ＣＤ３に結合し、配列番号９～１４で示されるようなＣＤＲを有する。一実施形態では、ＥＧＦＲｖＩＩＩｘＣＤ３二特異性抗体は、ＶＨ及びＶＬを含み、ＶＨは、配列番号４８のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなり、ＶＬは、配列番号４９のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。一実施形態では、ＥＧＦＲｖＩＩＩｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号５２のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。

【０１０７】

一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＭＳＬＮｘＣＤ３二特異性抗体であり、これは

、ＭＳＬＮに結合する第１のドメイン及びＣＤ３に結合する第２のドメインを含む。一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＨＬＥドメイン（第３のドメイン）をさらに含む。一実施形態では、第１のドメインは、ＭＳＬＮに結合し、配列番号５３～５８で示されるようなＣＤＲを有し、第２のドメインは、ＣＤ３に結合し、配列番号９～１４で示されるようなＣＤＲを有する。一実施形態では、ＭＳＬＮｘＣＤ３二特異性抗体は、ＶＨ及びＶＬを含み、ＶＨは、配列番号５９のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなり、ＶＬは、配列番号６０のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。一実施形態では、ＭＳＬＮｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号６３のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。一実施形態では、ＭＳＬＮｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号６４のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。

【０１０８】

一部の実施形態では、二特異性抗体はＣＤＨ１９ｘＣＤ３二特異性抗体であり、ＣＤＨ１９に結合する第１のドメイン及びＣＤ３に結合する第２のドメインを含む。一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＨＬＥドメイン（第３のドメイン）をさらに含む。一実施形態では、第１のドメインは、ＣＤＨ１９に結合し、配列番号６５～７０で示されるようなＣＤＲを有し、第２のドメインは、ＣＤ３に結合し、配列番号９～１４で示されるようなＣＤＲを有する。一実施形態では、ＣＤＨ１９ｘＣＤ３二特異性抗体は、ＶＨ及びＶＬを含み、ＶＨは、配列番号７１のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなり、ＶＬは、配列番号７２のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。一実施形態では、ＣＤＨ１９ｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号７４～８２の何れかのアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。一実施形態では、ＣＤＨ１９ｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号８２のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。

【０１０９】

一部の実施形態では、二特異性抗体はＤＬＬ３ｘＣＤ３二特異性抗体であり、これは、ＤＬＬ３に結合する第１のドメイン及びＣＤ３に結合する第２のドメインを含む。一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＨＬＥドメイン（第３のドメイン）をさらに含む。一実施形態では、第１のドメインは、ＤＬＬ３に結合し、配列番号９４～９９で示されるようなＣＤＲを有し、第２のドメインは、ＣＤ３に結合し、配列番号９～１４で示されるようなＣＤＲを有する。一実施形態では、ＤＬＬ３ｘＣＤ３二特異性抗体は、ＶＨ及びＶＬを含み、ＶＨは、配列番号１００のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなり、ＶＬは、配列番号１０１のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。一実施形態では、ＤＬＬ３ｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号１０４のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。

【０１１０】

一部の実施形態では、二特異性抗体はＦＬＴ３ｘＣＤ３二特異性抗体であり、これは、ＦＬＴ３に結合する第１のドメイン及びＣＤ３に結合する第２のドメインを含む。一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＨＬＥドメイン（第３のドメイン）をさらに含む。一実施形態では、第１のドメインは、ＦＬＴ３に結合し、配列番号８３～８８で示されるようなＣＤＲを有し、第２のドメインは、ＣＤ３に結合し、配列番号９～１４で示されるようなＣＤＲを有する。一実施形態では、ＦＬＴ３ｘＣＤ３二特異性抗体は、ＶＨ及びＶＬを含み、ＶＨは、配列番号８９のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなり、ＶＬは、配列番号９０のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。一実施形態では、ＦＴＬ３ｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号９３のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。

【０１１１】

一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＣＤＨ３ｘＣＤ３二特異性抗体であり、これは、ＣＤＨ３に結合する第１のドメイン及びＣＤ３に結合する第２のドメインを含む。一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＨＬＥドメイン（第３のドメイン）をさらに含む。一

実施形態では、第１のドメインは、ＣＤＨ３に結合し、配列番号１１５～１２０で示されるようなＣＤＲを有し、第２のドメインは、ＣＤ３に結合し、配列番号９～１４で示されるようなＣＤＲを有する。一実施形態では、ＣＤＨ３ｘＣＤ３二特異性抗体は、ＶＨ及びＶＬを含み、ＶＨは、配列番号１２１のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなり、ＶＬは、配列番号１２２のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。一実施形態では、ＣＤＨ３ｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号１２５のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。

【０１１２】

一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＰＳＭＡｘＣＤ３二特異性抗体であり、これは、ＰＳＭＡに結合する第１のドメイン及びＣＤ３に結合する第２のドメインを含む。一部の実施形態では、二特異性抗体は、ＨＬＥドメイン（第３のドメイン）をさらに含む。一実施形態では、第１のドメインは、ＰＳＭＡに結合し、配列番号１３７～１４２で示されるようなＣＤＲを有し、第２のドメインは、ＣＤ３に結合し、配列番号９～１４で示されるようなＣＤＲを有する。一実施形態では、ＰＳＭＡｘＣＤ３二特異性抗体は、ＶＨ及びＶＬを含み、ＶＨは、配列番号１４３のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなり、ＶＬは、配列番号１４４のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。一実施形態では、ＰＳＭＡｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号１４６～１５１、１６１～１６８及び１７６～１８１の何れか１つのアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。一実施形態では、ＰＳＭＡｘＣＤ３二特異性抗体は、配列番号１７７のアミノ酸配列を含むか、基本的にそれからなるか、又はそれからなる。

【０１１３】

本明細書中で開示される二特異性抗体は、当技術分野で公知の方法により調製され得る。例えば、二特異性抗体は、国際公開第２００８／１１９６５７号パンフレット及び国際公開第２０１７／１３４１４０号パンフレットで開示される方法により調製され得る。

【０１１４】

一部の実施形態では、二特異性抗体はマスクされた二特異性抗原結合タンパク質である。マスクされた二特異性抗原結合タンパク質は以前に記述されている。例えば国際公開第２０１７／０４０３４４号パンフレット；米国特許出願公開第２０１５／００７９０８８号を参照。「マスクされた二特異性抗原結合タンパク質」又は「マスクされた二特異性結合タンパク質」は、２つの異なる抗原又はエピトープに結合するマスクされた抗原結合タンパク質を指すものと理解される。「マスクされた抗原結合タンパク質」とは、マスキングドメイン（ＭＤ）のカップリングが、その抗原に対するＡＢの結合を阻害又は低減するように、抗原結合ドメイン（ＡＢ）にカップリングされたマスキングドメイン（ＭＤ）（例えば共有結合又はリンカーを通じて）を含むタンパク質である。ＭＤはさらに、タンパク質又はプロテアーゼがタンパク質認識部位に結合し、及び／又はタンパク質認識部位を切断する場合に、ＡＢドメインが抗原に結合するか、又はＡＢドメインによる抗原への結合が増加するか又は誘発されるような、タンパク質若しくはプロテアーゼに対する基質又は結合部位を含むタンパク質認識部位（ＰＲ）を含む。マスクされた抗原結合タンパク質は、以前に例えば、国際公開第２０１７／０４０３４４号パンフレット、米国特許第９５４０４４０号明細書、米国特許出願公開第２０１５０１１８２５４号明細書、米国特許第９１２７０５３号明細書、米国特許第９５１７２７６号明細書及び米国特許第８５６３２６９号明細書に記載されている。一部の実施形態において、プロテアーゼによりＰＲが切断され、その結果、少なくともＭＤが放出されるためにマスクされた抗原結合タンパク質がＭＤを欠き得ることは、当業者にとって明らかである（例えば、ＭＤが共有結合（例えばシステイン残基間のジスルフィド結合）によってマスクされた抗原結合タンパク質に連結されない場合）。

【０１１５】

一部の実施形態では、マスクされた抗原結合タンパク質はプロボディー（例えばＰｏｌｕ ＫＲ ａｎｄ Ｌｏｗｍａｎ ＨＢ．Ｅｘｐｅｒｔ Ｏｐｉｎ Ｂｉｏｌ Ｔｈｅｒ．２

０１４　Ａｕｇ；１４（８）：１０４９－５３；又はＤｅｓｎｏｙｅｒｓ　ＬＲ　ｅｔ．ａｌ．，Ｓｃｉ　Ｔｒａｎｓｌ　Ｍｅｄ．２０１３　Ｏｃｔ　１６；５（２０７）に記載のとおり）又はＰｒｏＴＩＡプロドラッグ（例えばＳｃｈｅｌｌｅｎｂｅｒｇｅｒ　Ｖ．Ａｍｕｎｉｘ　ｕｎｖｅｉｌｓ　ｎｅｘｔ－ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ　ｉｍｍｕｎｏ－ｏｎｃｏｌｏｇｉｃ　ｃａｎｃｅｒ　ｔｈｅｒａｐｙ　ｐｌａｔｆｏｒｍ．ｈｔｔｐｓ：／／ｂｉｏｐｈａｒｍａｄｅａｌｍａｋｅｒｓ．ｎａｔｕｒｅ．ｃｏｍ．Ｓｅｐｔｅｍｂｅｒ　２０１６　ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｂ２０に記載のとおり；ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ａｍｕｎｉｘ．ｃｏｍ／ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ／ｐｒｏ－ｔｉａ／も参照）である。一部の実施形態では、マスクされた抗原結合タンパク質は、次のようなＮ末端からＣ末端への構造配置を有する：ＭＤ－ＡＢ又はＡＢ－ＭＤ。一部の実施形態では、マスクされた抗原結合タンパク質は、連結ペプチド（ＬＰ）を含み、マスクされた抗原結合タンパク質は、次のようなＮ末端からＣ末端への構造配置を有する：ＭＤ－ＬＰ－ＡＢ又はＡＢ－ＬＰ－ＭＤ。

【０１１６】

マスクされた抗原結合タンパク質がナイーブ状態で抗原の存在下にあるとき、抗原へのＡＢの結合は、マスクされた抗原結合タンパク質が活性状態にある場合（即ち、タンパク質若しくはプロテアーゼがＰＲに結合し、及び／又はＭＤを除去若しくは移行させる場合）の抗原へのＡＢの結合と比較した場合、低減又は抑制される。ＭＤと会合していないＡＢの結合（即ちマスクされた抗原結合タンパク質が活性状態にある場合）と比較した場合、ナイーブ状態でのマスクされた抗原結合タンパク質の抗原結合能は、インビトロ及び／又はインビボ結合アッセイで測定したとき、例えば、少なくとも約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約６０％、約７０％、約８０％、約９０％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、約９９％、又はさらには約１００％低下する。

【０１１７】

一部の実施形態では、タンパク質認識部位（ＰＲ）は、プロテアーゼ、好ましくは細胞外プロテアーゼに対する基質として機能する。ＰＲは、抗原を発現する細胞付近の細胞（例えば腫瘍細胞を含む）によって産生され、及び／又はマスクされた抗原結合タンパク質のＡＢの所望の抗原と組織において共存する細胞（例えば腫瘍細胞を含む）によって産生される、タンパク質又はプロテアーゼに基づいて選択され得る。一部の実施形態では、プロテアーゼはｕ型プラスミノゲン活性化因子（ｕＰＡ、ウロキナーゼとも呼ばれる）、レグマイン及び／又はマトリプターゼ（ＭＴ－ＳＰ１又はＭＴＳＰ１とも呼ばれる）である。一部の実施形態では、プロテアーゼはマトリクスメタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）である。一部の実施形態では、プロテアーゼは、Ｒａｗｌｉｎｇｓ，Ｎ．ａｎｄ　Ｓａｌｖｅｓｅｎ，Ｇ．Ｈａｎｄｂｏｏｋ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｏｌｙｔｉｃ　Ｅｎｚｙｍｅｓ（Ｔｈｉｒｄ　Ｅｄｉｔｉｏｎ）．Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，２０１３．ＩＳＢＮ：９７８－０－１２－３８２２１９－２）に記載のプロテアーゼの１つである。

【０１１８】

一部の実施形態では、二特異性抗原結合タンパク質の１つの抗体又はその抗原結合断片（ＡＢ１）ドメインは、ある標的抗原に対する特異性を有し、別の抗体又はその抗原結合性断片（ＡＢ２）ドメインは別の標的抗原に対する特異性を有する。一部の実施形態では、二特異性抗原結合タンパク質の１つの抗体又はその抗原結合性断片（ＡＢ１）ドメインは、標的抗原のあるエピトープに対する特異性を有し、別の抗体又はその抗原結合性断片（ＡＢ２）ドメインは、同じ標的抗原の別のエピトープに対する特異性を有する。

【０１１９】

「抗体断片」、「その抗体断片」又は「抗原結合抗体断片」という用語は、インタクトな抗体の一部を指すと理解される。「抗原結合性断片」又は「その抗原結合性断片」は、抗原に結合するインタクトな抗体の一部を指す。抗原結合性断片は、インタクトな抗体の抗原性決定可変領域を含有し得る。抗体断片の抗原結合性断片の例としては、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２及びＦｖ断片、線形抗体、ｓｃＦｖ及び１本鎖抗体が挙げられるが限定されない。

【０１２０】
マスクされた二特異性抗原結合タンパク質は、タンパク質認識部位（ＰＲ）を含む少なくとも１つのマスキングドメイン（ＭＤ）を含み、ＭＤは抗原に対するＡＢの結合を阻害するか又は減少させる。この少なくとも１つのＭＤは、タンパク質又はプロテアーゼに対する基質又は結合部位を含むタンパク質認識部位（ＰＲ）を含み、そのためタンパク質又はプロテアーゼがプロテアーゼ認識部位に結合し、及び／又はプロテアーゼ認識部位を切断する場合、ＡＢドメインが抗原に結合するか、又は結合が増加する。二特異性マスクされた抗原結合タンパク質に関して、マスクされた抗原結合タンパク質は好ましくは、その個々の抗原若しくはエピトープに各抗原結合性ドメイン（ＡＢ１及びＡＢ２）が結合する能力を低下させる、２つのＭＤ（例えば、ＭＤ１及びＭＤ２）を含む。
【０１２１】
本明細書中で提供されるマスクされた二特異性のマスクされた抗原結合タンパク質は、循環中で安定であり、治療及び／又は診断の意図する部位で活性化されるが、正常（即ち健常）組織では当てはまらない。活性状態にある場合、マスクされた抗原結合タンパク質及び／又はマスクされた二特異性若しくは多特異性抗原結合タンパク質は、対応する未修飾の抗体又は二特異性若しくは多特異性抗原結合タンパク質（即ちマスキングドメインを含まない抗体の相当物）と少なくとも同等である抗原への結合を示す。
【０１２２】
本明細書中に記載のマスクされた二特異性抗原結合タンパク質は、様々な実施形態において、ヒトＣＤ３に結合する。例えば、様々な態様で、マスクされた二特異性抗原結合タンパク質は、Ｔ細胞上でのＣＤ３εの会合を介してＴ細胞を活性化する。即ち、抗体は、ＣＤ３介在Ｔ細胞活性化をアゴナイズし、刺激し、活性化し、及び／又は増強する。ＣＤ３の生物活性としては、例えば、Ｔ細胞活性化及びＣＤ３とＴ細胞受容体（ＴＣＲ）の抗原結合性サブユニットとの相互作用を通じた他のシグナル伝達が挙げられる。
【０１２３】
本明細書中で開示されるマスクされた二特異性抗原結合タンパク質は任意選択により、結合定数（Ｋｄ）≦１μＭ、例えば、一部の実施形態では、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ又は≦１ｎＭでＣＤ３εに結合する。
【０１２４】
様々な態様では、マスクされた二特異性抗原結合タンパク質は、上皮増殖因子受容体（ＥＧＦＲ）に結合する。本明細書中で開示されるマスクされた二特異性抗原結合タンパク質は任意選択により、結合定数（Ｋｄ）≦１μＭ、例えば、一部の実施形態では、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ又は≦１ｎＭでヒトＥＧＦＲに結合する。
【０１２５】
好ましい実施形態では、マスクされた二特異性又は多特異性抗原結合タンパク質は、ＣＤ３及びＥＧＦＲの両方に結合する。
【０１２６】
一部の実施形態では、マスクされた抗原結合タンパク質は、Ｆａｂ（例えばＩｇＧ　Ｆａｂ）である抗原結合性ドメイン及びｓｃＦｖである抗原結合性ドメインを含むようなヘテロ二量体である。例えば、典型的な実施形態では、マスクされた抗原結合タンパク質は、１つの標的（例えばＥＧＦＲ）に結合する重鎖及び軽鎖（例えばＩｇＧ重鎖及び軽鎖）と、第２の標的（例えばＣＤ３などのＴ細胞表面抗原）に結合するｓｃＦｖドメインと、を含む。１本鎖抗体（ｓｃＦｖ）は、ＶＬ及びＶＨ領域がリンカー（例えば、通常約１５～約２０アミノ酸長のアミノ酸残基の合成配列）を介して連結されて、連続的なタンパク質鎖を形成する抗原結合タンパク質であり、リンカーは、タンパク質鎖がそれ自体で再び折り畳まれ、一価抗原結合部位を形成することを可能にするのに十分な長さである（例えば、Ｂｉｒｄ　ｅｔ　ａｌ．，１９８８，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４２：４２３－２６及びＨｕｓｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９８８，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８５：５８７９－８３を参照）。ｓｃＦｖにおいて使用するのに適したリンカーの一例はＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号１９９）である。他の典型的なリンカーは少な

くとも４個～５個のアミノ酸を含有し、約４個の残基～約２０個の残基の範囲である。
【０１２７】
マスクされた抗原結合タンパク質の典型的な形式は、（ｉ）一方若しくは両方の重鎖のＮ末端付近で操作可能に連結されたｓｃＦｖを含む２本の重鎖と、（ｉｉ）重鎖と会合して抗原結合性ドメインを形成する２本の軽鎖と、を含み、ｓｃＦｖがＣＤ３に結合し、Ｆａｂ部分がＥＧＦＲに結合する。この例において、抗原結合タンパク質は３つ（又は４つの）抗原結合性ドメインを含み、これらは通常、２つ以上の異なる抗原（又はエピトープ）に結合する。重鎖可変領域へのｓｃＦｖの連鎖に適したリンカーの一例はＧＧＧＧＳ（配列番号１９７）である。典型的なリンカーは、４個～５個のアミノ酸を有する少なくとも１つの適切なリンカーを含有する。
【０１２８】
マスクされた抗原結合タンパク質は、（例えば共有結合又は他の形態の結合によって）抗体（ＡＢ）にカップリングされたマスキングドメイン（ＭＤ）を含む。マスキングドメイン（ＭＤ）は、マスキングペプチド（又はマスキングポリペプチド）（ＭＰ）及びタンパク質認識部位（ＰＲ）を含む。マスキングペプチド（又はマスキングポリペプチド）は、その抗原への抗原結合ドメインの結合を妨害する一続きのアミノ酸であり得る。一般に、マスキングペプチド、５～１５アミノ酸長の短い配列が用いられるが、より短い及びより長い配列（即ちマスキングポリペプチド）も企図される。マスキングドメインはさらに、例えば国際公開第２０１７／０４０３４４号パンフレット；米国特許出願公開第２０１５／００７９０８８号明細書（その全体が、特に、ＥＧＦＲに結合する抗体との使用のためのマスキングドメインの開示に関して、参照により組み込まれる）及び米国特許出願公開第２０１６／０１９４３９９号明細書（その全体が、特に、ＣＤ３に結合する抗体との使用のためのマスキングドメインの開示に関して、参照により組み込まれる）に記載されている。
【０１２９】
一部の実施形態では、マスキングペプチド（又はマスキングポリペプチド）（ＭＰ）は、任意選択により、より大きなリンカー配列の一部（即ち抗原結合タンパク質にＭＰを連結する一続きのアミノ酸）である、タンパク質認識部位（ＰＲ）を介して抗原結合性ドメイン（ＡＢ）に結合される。ＰＲは、タンパク質又はプロテアーゼ、好ましくは細胞外プロテアーゼに対する基質（又は結合部位）として機能する。ＰＲは、標的を発現する細胞付近の細胞（例えば腫瘍細胞を含む）によって産生され、及び／又はマスクされた抗原結合タンパク質の少なくとも１つのＡＢの所望の標的と組織において共存する細胞（例えば腫瘍細胞を含む）によって産生される、タンパク質又はプロテアーゼに基づいて選択され得る。一部の実施形態では、プロテアーゼはｕ型プラスミノゲン活性化因子（ｕＰＡ、ウロキナーゼとも呼ばれる）、レグマイン、及び／又はマトリプターゼ（ＭＴ－ＳＰ１又はＭＴＳＰ１とも呼ばれる）である。一部の実施形態では、プロテアーゼはマトリクスメタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）である。一部の実施形態では、プロテアーゼは、Ｒａｗｌｉｎｇｓ，Ｎ．ａｎｄ Ｓａｌｖｅｓｅｎ，Ｇ．Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｏｌｙｔｉｃ Ｅｎｚｙｍｅｓ（Ｔｈｉｒｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ）．Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，２０１３．ＩＳＢＮ：９７８－０－１２－３８２２１９－２に記載のプロテアーゼの１つである。或いは、ＭＰは、非切断型タンパク質結合ドメインを介して抗原結合タンパク質にカップリングされる。これに関して、ＰＲは任意選択により、例えばタンパク質又はプロテアーゼと相互作用すると、ＭＰの位置が調節され、ＡＢが標的に自由に結合するようにコンフォメーション変化するアミノ酸配列である。
【０１３０】
本開示の様々な態様では、マスクされた二特異性抗原結合タンパク質は、コンストラクトの各抗原結合部分（例えばＡＢ１、ＡＢ２、ＡＢ３など）に対するＭＤを含む。例えば、２つのＦａｂ部分及び２つのｓｃＦｖを含む、マスクされた二特異性抗原結合タンパク質は、独立して同じであり得るか又は異なり得る、２セットのＭＤを含み得る。例えば、マスクされた二特異性抗原結合タンパク質は、（ｉ）各ｓｃＦｖに連結されるＣＤ３及び

ＭＤ１に結合する２つのｓｃＦｖ（任意選択により各ｓｃＦｖに対して同じＭＤ）及び（ｉｉ）各Ｆａｂに連結されるＥＧＦＲ及びＭＤ２に結合する２つのＦａｂ部分（任意選択により各Ｆａｂに対して同じＭＤ）を含む。様々な態様において、ＭＤ１及びＭＤ２のＰＲは、同じタンパク質認識配列を含み、プロテアーゼと会合した後に同じ環境においてそれぞれの結合領域に対してＭＤが放出されることが可能となる。ＭＤが標的への抗原結合ドメインの結合を妨害することが可能であり、ＭＤが放出された後にリンカーが結合を妨げない限り、ＭＤは、抗原結合性ドメインのＮ末端又はＣ末端にて結合され得る。抗原結合ドメインがＦａｂである場合、ＭＤは、重鎖可変領域又は軽鎖可変領域に操作可能に連結され得る。マスクされた二特異性抗原結合タンパク質が、Ｆａｂ抗原結合ドメイン及び重鎖に融合されたｓｃＦｖの両方（即ち「スタック」コンフォメーション）を有するインタクトな抗体を含む例では、Ｆａｂ抗原結合ドメインと会合させられるＭＤは、好ましくは軽鎖可変領域に融合される。

【０１３１】

一部の実施形態では、マスクされた二特異性抗原結合タンパク質における１つのＡＢドメイン（例えばＡＢ１）は、ＣＤ３などのＴ細胞表面リガンドに会合し、任意選択によりｓｃＦｖの形態をとる。ＣＤ３に結合する典型的なマスクされた抗原結合タンパク質としては、国際公開第２０１７／０４０３４４号パンフレット、米国特許出願公開第２０１６０１９４３９９号明細書が挙げられるが限定されない。

【０１３２】

一部の実施形態では、抗原結合タンパク質における１つのＡＢドメイン（例えばＡＢ２）は、ＥＧＦＲなどの腫瘍抗原に会合する。ＥＧＦＲと会合する典型的なマスクされた抗原結合タンパク質としては、米国特許出願公開第２０１５００７９０８８号明細書で開示される抗体が挙げられるが限定されない。

【０１３３】

一部の実施形態では、マスクされた抗原結合タンパク質（例えばマスクされた二特異性抗原結合タンパク質を含む）は、抗体の等電点を変化させるために修飾される。例えば、一部の実施形態では、１つ又は両方のマスキングドメインにおける、１つ以上の負に荷電した、ｐＨ感受性アミノ酸（例えばアスパラギン酸又はグルタミン酸）が、正に荷電したアミノ酸（例えばリジン又はアルギニン）で置換される。一部の実施形態では、抗体の１つ以上のマスキング部分におけるアスパラギン酸の置換によってｐＩが上昇し得る。一部の実施形態では、１つ又は両方のマスキングドメインにおける、その１つ以上の負に荷電した、ｐＨ感受性アミノ酸（例えばアスパラギン酸又はグルタミン酸）は、除去されるか、又は天然アミノ酸で置換される。

【０１３４】

本開示のマスクされた抗原結合タンパク質（例えば二特異性又は多特異性マスクされた抗原結合タンパク質を含む）は、インタクトな抗体構造を含むと本明細書に記載される場合が多いが、一方で、本開示は、従来の２本の重鎖／２本の軽鎖の構造の少なくとも一部を欠く抗原結合抗体断片の使用も企図する。マスクされた抗原結合タンパク質として用いられる断片は、上述のような、マスキングドメイン（ＭＤ）に操作可能に連結される抗原結合性ドメイン（ＡＢ）を含む。例えば、一部の実施形態では、抗原結合タンパク質は、適切なリンカー（例えば、その標的にそれぞれのｓｃＦｖが結合することを可能にするのに十分な長さの一続きのアミノ酸）によって連結された２つのｓｃＦｖを含む。１つ又は両方のｓｃＦｖがＭＤに結合され；両方のｓｃＦｖがＭＤに結合される場合は、ＭＤは同じであるか又は異なり得る（即ち様々な態様で、ＭＰ及び／又はＰＲは異なるが、ＰＲは同じであることが好ましい）。

【０１３５】

本明細書中で開示されるマスクされた二特異性抗体は、当技術分野で公知の方法、例えば国際公開第２０１７／０４０３４４号パンフレット；米国特許出願公開第２０１５／００７９０８８号明細書；及び米国特許出願公開第２０１６／０１９４３９９号明細書に記載のようなものにより作製され得る。

【０１３６】
表３は、本明細書中で開示される配列を列挙する。
【０１３７】
【表４】
表3

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 1. | CD19 VL CDR1 | 人工 | aa | KASQSVDYDGDSYLN |
| 2. | CD19 VL CDR2 | 人工 | aa | DASNLVS |
| 3. | CD19 VL CDR3 | 人工 | aa | QQSTEDPWT |
| 4. | CD19 VH CDR1 | 人工 | aa | SYWMN |
| 5. | CD19 VH CDR2 | 人工 | aa | QIWPGDGDTNYNGKFKG |
| 6. | CD19 VH CDR3 | 人工 | aa | RETTTVGRYYYAMDY |
| 7. | CD19 VL | 人工 | aa | DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQ QIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEK VDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIK |

【０１３８】

【表５】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 8. | CD19 VH | 人工 | aa | QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQ RPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTA YMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTT VTVSS |
| 9. | CD3 VH CDR1 | 人工 | aa | RYTMH |
| 10. | CD3 VH CDR2 | 人工 | aa | YINPSRGYTNYNQKFKD |
| 11. | CD3 VH CDR3 | 人工 | aa | YYDDHYCLDY |
| 12. | CD3 VL CDR1 | 人工 | aa | RASSSVSYMN |
| 13. | CD3 VL CDR2 | 人工 | aa | DTSKVAS |
| 14. | CD3 VL CDR3 | 人工 | aa | QQWSSNPLT |
| 15. | CD3 VH | 人工 | aa | DIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQR PGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYM QLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS |
| 16. | CD3 VL | 人工 | aa | VDDIQLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQ KSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEA EDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELK |
| 17. | CD19xCD3 scFv BLINCYTO リンカー及び hisタグを含む | 人工 | aa | DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQ QIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEK VDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIKGGGGSGGGGSGG GGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNW VKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADES SSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWG QGTTVTVSSGGGGSDIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSG YTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFK DKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLD YWGQGTTLTVSSVEGGSGGSGGSGGSGGVDDIQLTQSPAI MSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYD TSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQW SSNPLTFGAGTKLELKHHHHHH |
| 18. | CDR-L1 I2C | 人工 | aa | GSSTGAVTSGNYPN |
| 19. | CDR-L2 I2C | 人工 | aa | GTKFLAP |
| 20. | CDR-L3 I2C | 人工 | aa | VLWYSNRWV |
| 21. | CDR-H1 I2C | 人工 | aa | KYAMN |
| 22. | CDR-H2 I2C | 人工 | aa | RIRSKYNNYATYYADSVKD |
| 23. | CDR-H3 I2C | 人工 | aa | HGNFGNSYISYWAY |
| 24. | VH I2C | 人工 | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQ APGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSS |
| 25. | VL I2C | 人工 | aa | QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQ KPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQP EDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |

【０１３９】

【表６】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 26. | VH-VL I2C | 人工 | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQ APGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVT LTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVF GGGTKLTVL |
| 27. | CD33 ccVH E11 | 人工 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQ APGQCLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTST AYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYVYFDYWGQGTS VTVSS |
| 28. | CD33 VH E11 | 人工 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTST AYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYVYFDYWGQGTS VTVSS |
| 29. | CD33 HCDR1 E11 | 人工 | aa | NYGMN |
| 30. | CD33 HCDR2 E11 | 人工 | aa | WINTYTGEPTYADKFQG |
| 31. | CD33 HCDR3 E11 | 人工 | aa | WSWSDGYYVYFDY |
| 32. | CD33 CC VL E11 | 人工 | aa | DIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWY QQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSP QPEDSATYYCQQSAHFPITFGCGTRLEIK |
| 33. | CD33 VL E11 | 人工 | aa | DIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWY QQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSP QPEDSATYYCQQSAHFPITFGQGTRLEIK |
| 34. | CD33 LCDR1 E11 | 人工 | aa | KSSQSVLDSSTNKNSLA |
| 35. | CD33 LCDR2 E11 | 人工 | aa | WASTRES |
| 36. | CD33 LCDR3 E11 | 人工 | aa | QQSAHFPIT |
| 37. | CD33 HL CC E11 | 人工 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQ APGQCLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTST AYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYVYFDYWGQGTS VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTI NCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRES GIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSAHFPITFG CGTRLEIK |

【０１４０】

【表７】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 38. | CD33 HL E11 | 人工 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYVYFDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSAHFPITFGQGTRLEIK |
| 39. | CD33 CC E11 HL x I2C HL二特異性分子 | 人工 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQCLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYVYFDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSAHFPITFGCGTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 40. | CD33 E11 HL x I2C HL | 人工 | aa | MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYVYFDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSAHFPITFGQGTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLHHHHHH |

【０１４１】

【表８】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 41. | CD33 CC x I2C-scFc二特異性HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQCLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYVYFDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSAHFPITFGCGTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 42. | EGFRvIIIxCD3-scFc VH CDR1 | 人工 | aa | NYGMH |
| 43. | EGFRvIIIxCD3-scFc VH CDR2 | 人工 | aa | VIWYDGSDKYYADSVRG |
| 44. | EGFRvIIIxCD3-scFc VH CDR3 | 人工 | aa | DGYDILTGNPRDFDY |
| 45. | EGFRvIIIxCD3-scFc VL CDR1 | 人工 | aa | RSSQSLVHSDGNTYLS |
| 46. | EGFRvIIIxCD3-scFc VL CDR2 | 人工 | aa | RISRRFS |
| 47. | EGFRvIIIxCD3-scFc VL CDR3 | 人工 | aa | MQSTHVPRT |
| 48. | EGFRvIII_CCxCD3-scFc VH | 人工 | aa | QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLVTVSS |
| 49. | EGFRvIII_CCxCD3-scFc VL | 人工 | aa | DTVMTQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQSTHVPRTFGCGTKVEIK |
| 50. | EGFRvIII_CCxCD3-scFc scFv | 人工 | aa | QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDTVMTQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQSTHVPRTFGCGTKVEIK |

【０１４２】

【表９】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 51. | EGFRvIII_CCxCD3-scFc二特異性分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQ<br>APGKCLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDNSKNTLY<br>LQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTL<br>VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDTVMTQTPLSSHVTLGQPA<br>SISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSG<br>VPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQSTHVPRTF<br>GCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASG<br>FTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADS<br>VKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFG<br>NSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTV<br>VTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPG<br>QAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDE<br>AEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 52. | EGFRvIII_CCxCD3-scFc<br>二特異性HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQ<br>APGKCLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDNSKNTLY<br>LQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTL<br>VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDTVMTQTPLSSHVTLGQPA<br>SISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSG<br>VPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQSTHVPRTF<br>GCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASG<br>FTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADS<br>VKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFG<br>NSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTV<br>VTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPG<br>QAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDE<br>AEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPA<br>PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV<br>KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQD<br>WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS<br>REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT<br>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN<br>HYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS<br>GGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP<br>EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQY<br>GSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK<br>AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV<br>EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ<br>GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |

【０１４３】

【表１０】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 53. | MSLN_5 VH CDR1 | 人工 | aa | DYYMT |
| 54. | MSLN_5 VH CDR2 | 人工 | aa | YISSSGSTIYYADSVKG |
| 55. | MSLN_5 VH CDR3 | 人工 | aa | DRNSHFDY |
| 56. | MSLN_5 VL CDR1 | 人工 | aa | RASQGINTWLA |
| 57. | MSLN_5 VL CDR2 | 人工 | aa | GASGLQS |
| 58. | MSLN_5 VL CDR3 | 人工 | aa | QQAKSFPRT |
| 59. | MSLN _5 VH | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMTWIRQA PGKGLEWLSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQM NSLRAEDTAVYYCARDRNSHFDYWGQGTLVTVSS |
| 60. | MSLN_5 VL | 人工 | aa | DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGINTWLAWYQQKP GKAPKLLIYGASGLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQAKSFPRTFGQGTKVEIK |
| 61. | MSLN_5 scFv | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMTWIRQA PGKGLEWLSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQM NSLRAEDTAVYYCARDRNSHFDYWGQGTLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIN TWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASGLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQAKSFPRTFGQGTKVEIK |
| 62. | MSLN_5xI2C0 二特異性分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMTWIRQA PGKGLEWLSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQM NSLRAEDTAVYYCARDRNSHFDYWGQGTLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIN TWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASGLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQAKSFPRTFGQGTKVEIKSGGGG SEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQ APGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVT LTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVF GGGTKLTVL |

【０１４４】

【表１１】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 63. | MSLN_5xCD3-scFc二特異性HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMTWIRQA<br>PGKGLEWLSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQM<br>NSLRAEDTAVYYCARDRNSHFDYWGQGTLVTVSSGGGGS<br>GGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIN<br>TWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASGLQSGVPSRFSGSGSGTD<br>FTLTISSLQPEDFATYYCQQAKSFPRTFGQGTKVEIKSGGGG<br>SEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQ<br>APGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT<br>AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT<br>LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVT<br>LTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPG<br>TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVF<br>GGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK<br>DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK<br>TKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP<br>APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG<br>FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD<br>KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGS<br>GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPEL<br>LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN<br>WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLN<br>GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE<br>MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL<br>DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ<br>KSLSLSPGK |
| 64. | MSLN_5_CCxCD3-scFc二特異性HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDHYMSWIRQA<br>PGKCLEWFSYISSSGGIIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM<br>NSLRAEDTAVYYCARDVGSHFDYWGQGTLVTVSSGGGGS<br>GGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQDISR<br>WLAWYQQKPGKAPKLLISAASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFT<br>LTISSLQPEDFAIYYCQQAKSFPRTFGCGTKVEIKSGGGGSEV<br>QLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAP<br>GKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL<br>QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVT<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC<br>GSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPA<br>RFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG<br>GTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL<br>MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP<br>CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI<br>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP<br>SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR<br>WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG<br>GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLG<br>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW<br>YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGK<br>EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK<br>NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD<br>GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL<br>SLSPGK |

【０１４５】

【表１２】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 65. | CDR-H1 CDH19 65254.007 | 人工 | aa | SYGMH |
| 66. | CDR-H2 CDH19 65254.007 | 人工 | aa | FIWYEGSNKYYAESVKD |
| 67. | CDR-H3 CDH19 65254.007 | 人工 | aa | RAGIIGTIGYYYGMDV |
| 68. | CDR-L1 CDH19 65254.007 | 人工 | aa | SGDRLGEKYTS |
| 69. | CDR-L2 CDH19 65254.007 | 人工 | aa | QDTKRPS |
| 70. | CDR-L3 CDH19 65254.007 | 人工 | aa | QAWESSTVV |
| 71. | VH CDH19 65254.007 | 人工 | aa | QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQGTTVTVSS |
| 72. | VL CDH19 65254.007 | 人工 | aa | SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVFGGGTKLTVLS |
| 73. | VH-VL CDH19 65254.007 | 人工 | aa | QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVFGGGTKLTVLS |
| 74. | CDH19 65254.007 x I2C | 人工 | aa | QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVFGGGTKLTVLSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLHHHHHH |

【０１４６】

【表１３】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 75. | CDH19<br>65254.007 x I2C -<br>scFc二特異性<br>HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQ<br>APGKGLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNTLY<br>LQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQGTT<br>VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASIT<br>CSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGIPERFS<br>GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVFGGGTK<br>LTVLSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNK<br>YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF<br>TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY<br>WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPS<br>LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRG<br>LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC<br>VLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLG<br>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW<br>YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGK<br>EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT<br>KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS<br>DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS<br>LSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSD<br>KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV<br>VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRC<br>VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP<br>REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN<br>GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS<br>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 76. | CDH19<br>65254.007 x I2C -<br>scFc_delGK<br>二特異性HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQ<br>APGKGLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNTLY<br>LQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQGTT<br>VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASIT<br>CSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGIPERFS<br>GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVFGGGTK<br>LTVLSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNK<br>YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF<br>TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY<br>WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPS<br>LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRG<br>LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC<br>VLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLG<br>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW<br>YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGK<br>EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT<br>KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS<br>DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS<br>LSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKT<br>HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD<br>VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSV<br>LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP<br>ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV<br>MHEALHNHYTQKSLSLSPGK |

【０１４７】

【表１４】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 77. | CDH19 65254.007_CC x I2C -scFc VH | 人工 | aa | QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQ APGKCLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQGTT VTVSS |
| 78. | CDH19 65254.007_CC x I2C -scFc VL | 人工 | aa | SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPGQ SPLLVIYQDTKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEA DYYCQAWESSTVVFGCGTKLTVL |
| 79. | CDH19 65254.007_CC x I2C -scFc scFv | 人工 | aa | QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQ APGKCLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQGTT VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASIT CSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVFGCGTK LTVL |
| 80. | CDH19 65254.007_CC x I2C -scFc 二特異性分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQ APGKCLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQGTT VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASIT CSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVFGCGTK LTVLSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 81. | CDH19 65254.007_CC x I2C -scFc 二特異性HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQ APGKCLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQGTT VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASIT CSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVFGCGTK LTVLSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRC VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |

【０１４８】

【表１５】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 82. | CDH19 65254.007_CC x I2C -scFc_delGK 二特異性HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQ APGKCLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQGTT VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASIT CSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVFGCGTK LTVLSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 83. | FLT3_7 A8xCD3-scFc VH CDR1 | 人工 | aa | NARMGVS |
| 84. | FLT3_7 A8xCD3-scFc VH CDR2 | 人工 | aa | HIFSNDEKSYSTSLKN |
| 85. | FLT3_7 A8xCD3-scFc VH CDR3 | 人工 | aa | IVGYGSGWYGFFDY |
| 86. | FLT3_7 A8xCD3-scFc VL CDR1 | 人工 | aa | RASQGIRNDLG |
| 87. | FLT3_7 A8xCD3-scFc VL CDR2 | 人工 | aa | AASTLQS |
| 88. | FLT3_7 A8xCD3-scFc VL CDR3 | 人工 | aa | LQHNSYPLT |
| 89. | FLT3_7 A8xCD3-scFc VH | 人工 | aa | QVTLKESGPTLVKPTETLTLTCTLSGFSLNNARMGVSWIRQ PPGKCLEWLAHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISKDSSKTQVVLT MTNVDPVDTATYYCARIVGYGSGWYGFFDYWGQGTLVTV SS |
| 90. | FLT3_ A8-scFc VL | 人工 | aa | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKP GKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDF ATYYCLQHNSYPLTFGCGTKVEIK |
| 91. | FLT3_7 A8xCD3-scFv | 人工 | aa | QVTLKESGPTLVKPTETLTLTCTLSGFSLNNARMGVSWIRQ PPGKCLEWLAHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISKDSSKTQVVLT MTNVDPVDTATYYCARIVGYGSGWYGFFDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPLTFGCGTKVEIK |

【０１４９】

【表１６】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 92. | FLT3_7 A8xCD3 二特異性分子 | 人工 | aa | QVTLKESGPTLVKPTETLTLTCTLSGFSLNNARMGVSWIRQ PPGKCLEWLAHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISKDSSKTQVVLT MTNVDPVDTATYYCARIVGYGSGWYGFFDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPLTFGCGTKVEIK SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAM NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVL | 10 |
| 93. | FLT3_7 A8xCD3-scFc 二特異性HLE分子 | 人工 | aa | QVTLKESGPTLVKPTETLTLTCTLSGFSLNNARMGVSWIRQ PPGKCLEWLAHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISKDSSKTQVVLT MTNVDPVDTATYYCARIVGYGSGWYGFFDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPLTFGCGTKVEIK SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAM NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK | 20 30 |
| 94. | VH CDR1 DLL3_1_CC_delGK | 人工 | aa | SYYWS |
| 95. | VH CDR2 DLL3_1_CC_delGK | 人工 | aa | YVYYSGTTNYNPSLKS |

40

【０１５０】

50

【表１７】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 96. | VH CDR3 DLL3_1_CC_delGK | 人工 | aa | IAVTGFYFDY |
| 97. | VL CDR1 DLL3_1_CC_delGK | 人工 | aa | RASQRVNNNYLA |
| 98. | VL CDR2 DLL3_1_CC_delGK | 人工 | aa | GASSRAT |
| 99. | VL CDR3 DLL3_1_CC_delGK | 人工 | aa | QQYDRSPLT |
| 100. | VH DLL3_1_CC_delGK | 人工 | aa | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPP GKCLEWIGYVYYSGTTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGQGTLVTVSS |
| 101. | VL DLL3_1_CC_delGK | 人工 | aa | EIVLTQSPGTLSLSPGERVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQRP GQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLEIK |
| 102. | DLL3_1_CC_delGK | 人工 | aa | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPP GKCLEWIGYVYYSGTTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERVTLSCRASQRVNNN YLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLEIK |
| 103. | DLL3_1_CCxCD3_ delGK二特異性分子 | 人工 | aa | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPP GKCLEWIGYVYYSGTTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERVTLSCRASQRVNNN YLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAP GKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFG GGTKLTVL |

【０１５１】

【表１８】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 104. | DLL3_1_CCxCD3-scFc_delGK<br>二特異性HLE分子 | 人工 | aa | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPP<br>GKCLEWIGYVYYSGTTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSS<br>VTAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSG<br>GGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERVTLSCRASQRVNNN<br>YLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFT<br>LTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLEIKSGGGGSEV<br>QLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAP<br>GKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY<br>LQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLV<br>TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT<br>CGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP<br>ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFG<br>GGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD<br>TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT<br>KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA<br>PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF<br>YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD<br>KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGG<br>GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLG<br>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW<br>YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGK<br>EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT<br>KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS<br>DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS<br>LSLSPGK |
| 105. | VH CDR1 CD19 97-G1RE-C2 | 人工 | aa | SYGMH |
| 106. | VH CDR2 CD19 97-G1RE-C2 | 人工 | aa | VISYEGSNKYYAESVKG |
| 107. | VH CDR3 CD19 97-G1RE-C2 | 人工 | aa | DRGTIFGNYGLEV |
| 108. | VH CD19 97-G1RE-C2 CC | 人工 | aa | QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQ<br>APGKCLEWVAVISYEGSNKYYAESVKGRFTISRDNSKNTLYL<br>QMNSLRDEDTAVYYCARDRGTIFGNYGLEVWGQGTTVTV<br>SS |
| 109. | VL CDR1 CD19 97-G1RE-C2 | 人工 | aa | RSSQSLLHKNAFNYLD |
| 110. | VL CDR2 CD19 97-G1RE-C2 | 人工 | aa | LGSNRAS |
| 111. | VL CDR3 CD19 97-G1RE-C2 | 人工 | aa | MQALQTPFT |
| 112. | VL CD19 97-G1RE-C2 CC | 人工 | aa | DIVMTQSPLSLPVISGEPASISCRSSQSLLHKNAFNYLDWYL<br>QKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE<br>AEDVGVYYCMQALQTPFTFGCGTKVDIK |

【０１５２】

【表１９】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 113. | CD19 97-G1RE-C2 CC x I2C0 | 人工 | aa | MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCDIVMTQSPLSLPVISGEP<br>ASISCRSSQSLLHKNAFNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA<br>SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPF<br>TFGCGTKVDIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGVVQ<br>PGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISY<br>EGSNKYYAESVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRDEDTAVY<br>YCARDRGTIFGNYGLEVWGQGTTVTVSSGGGGSEVQLVES<br>GGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLE<br>WVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN<br>NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSG<br>GGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSST<br>GAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFS<br>GSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK<br>LTVL |
| 114. | CD19 97-G1RE-C2 CC x I2C0-scFc | 人工 | aa | MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCDIVMTQSPLSLPVISGEP<br>ASISCRSSQSLLHKNAFNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA<br>SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPF<br>TFGCGTKVDIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGVVQ<br>PGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISY<br>EGSNKYYAESVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRDEDTAVY<br>YCARDRGTIFGNYGLEVWGQGTTVTVSSGGGGSEVQLVES<br>GGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLE<br>WVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN<br>NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSG<br>GGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSST<br>GAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFS<br>GSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK<br>LTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS<br>RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE<br>QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI<br>SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI<br>AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW<br>QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGG<br>SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGP<br>SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV<br>DGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEY<br>KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN<br>QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG<br>SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS<br>LSPGK |
| 115. | VH CDR1 CDH3 G8A 6-B12 | 人工 | aa | SYPIN |
| 116. | VH CDR2 CDH3 G8A 6-B12 | 人工 | aa | VIWTGGGTNYASSVKG |
| 117. | VH CDR3 CDH3 G8A 6-B12 | 人工 | aa | SRGVYDFDGRGAMDY |
| 118. | VL CDR1 CDH3 G8A 6-B12 | 人工 | aa | KSSQSLLYSSNQKNYFA |
| 119. | VL CDR2 CDH3 G8A 6-B12 | 人工 | aa | WASTRES |
| 120. | VL CDR3 CDH3 G8A 6-B12 | 人工 | aa | QQYYSYPYT |

【０１５３】

【表２０】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 121. | VH CDH3 G8A 6-B12 | 人工 | aa | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYPINWVRQAP<br>GKGLEWVGVIWTGGGTNYASSVKGRFTISRDNSKNTVYLQ<br>MNSLRAEDTAVYYCAKSRGVYDFDGRGAMDYWGQGTLV<br>TVSS |
| 122. | VL CDH3 G8A 6-B12 | 人工 | aa | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLYSSNQKNYFAW<br>YQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISS<br>LQAEDVAVYYCQQYYSYPYTFGQGTKLEIK |
| 123. | CDH3 G8A 6-B12 scFv | 人工 | aa | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYPINWVRQAP<br>GKGLEWVGVIWTGGGTNYASSVKGRFTISRDNSKNTVYLQ<br>MNSLRAEDTAVYYCAKSRGVYDFDGRGAMDYWGQGTLV<br>TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATI<br>NCKSSQSLLYSSNQKNYFAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRES<br>GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSYPYTF<br>GQGTKLEIK |
| 124. | CDH3 G8A 6-B12 x I2C0 二特異性分子 | 人工 | aa | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYPINWVRQAP<br>GKGLEWVGVIWTGGGTNYASSVKGRFTISRDNSKNTVYLQ<br>MNSLRAEDTAVYYCAKSRGVYDFDGRGAMDYWGQGTLV<br>TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATI<br>NCKSSQSLLYSSNQKNYFAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRES<br>GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSYPYTF<br>GQGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASG<br>FTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADS<br>VKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFG<br>NSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTV<br>VTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPG<br>QAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDE<br>AEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 125. | CDH3 G8A 6-B12 x I2C0 二特異性分子HLE | 人工 | aa | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYPINWVRQAP<br>GKGLEWVGVIWTGGGTNYASSVKGRFTISRDNSKNTVYLQ<br>MNSLRAEDTAVYYCAKSRGVYDFDGRGAMDYWGQGTLV<br>TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATI<br>NCKSSQSLLYSSNQKNYFAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRES<br>GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSYPYTF<br>GQGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASG<br>FTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADS<br>VKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFG<br>NSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTV<br>VTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPG<br>QAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDE<br>AEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPA<br>PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV<br>KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQD<br>WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS<br>REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT<br>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN<br>HYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS<br>GGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP<br>EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQY<br>GSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK<br>AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV<br>EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ<br>GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |

【０１５４】

【表２１】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 126. | BCMA A7 27-C4-G7 CDR1 VH | 人工 | aa | NHIIH |
| 127. | BCMA A7 27-C4-G7 CDR2 VH | 人工 | aa | YINPYPGYHAYNEKFQG |
| 128. | BCMA A7 27-C4-G7 CDR3 VH | 人工 | aa | DGYYRDTDVLDY |
| 129. | BCMA A7 27-C4-G7 CDR1 VL | 人工 | aa | QASQDISNYLN |
| 130. | BCMA A7 27-C4-G7 CDR2 VL | 人工 | aa | YTSRLHT |
| 131. | BCMA A7 27-C4-G7 CDR3 VL | 人工 | aa | QQGNTLPWT |
| 132. | BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) VH | 人工 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHIIHWVRQA PGQCLEWMGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQGTLVTV SS |
| 133. | BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) VL | 人工 | aa | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKP GKAPKLLIYYTSRLHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEPEDIA TYYCQQGNTLPWTFGCGTKLEIK |
| 134. | BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) scFv | 人工 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHIIHWVRQA PGQCLEWMGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHTGVPSRFSG SGSGTDFTFTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFGCGTKLEIK |
| 135. | BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) x I2C0二特異性分子 | 人工 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHIIHWVRQA PGQCLEWMGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHTGVPSRFSG SGSGTDFTFTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFGCGTKLEIK SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAM NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVL |

【０１５５】

【表２２】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 136. | BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) x I2C0-scFc<br>二特異性分子HLE | 人工 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHIIHWVRQA<br>PGQCLEWMGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTV<br>YMELSSLRSEDTAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQGTLVTV<br>SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC<br>QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHTGVPSRFSG<br>SGSGTDFTFTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFGCGTKVEI<br>KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA<br>MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS<br>RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYW<br>AYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLT<br>VSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG<br>GTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVL<br>WYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGP<br>SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV<br>DGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEY<br>KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN<br>QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG<br>SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS<br>LSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKT<br>HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD<br>VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSV<br>LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP<br>ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV<br>MHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 137. | PM 76-B10.17 CC VH CDR1 | 人工 | aa | DYYMY |
| 138. | PM 76-B10.17 CC VH CDR2 | 人工 | aa | IISDAGYYTYYSDIIKG |
| 139. | PM 76-B10.17 CC VH CDR3 | 人工 | aa | GFPLLRHGAMDY |
| 140. | PM 76-B10.17 CC VL CDR1 | 人工 | aa | KASQNVDANVA |
| 141. | PM 76-B10.17 CC VL CDR2 | 人工 | aa | SASYVYW |
| 142. | PM 76-B10.17 CC VL CDR3 | 人工 | aa | QQYDQQLIT |
| 143. | PM 76-B10.17 CC VH | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA<br>PGKCLEWVAIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQM<br>NSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS |

【０１５６】

【表２３】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 144. | PM 76-B10.17 CC VL | 人工 | aa | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDANVAWYQQK PGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSE DFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIK |
| 145. | PM 76-B10.17 CC scFv | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKCLEWVAIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKAS QNVDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIK |
| 146. | PM 76-B10.17 CC x I2C0 二特異性分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKCLEWVAIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKAS QNVDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVL |
| 147. | PM 76-B10.17 CC x I2C0-scFc 二特異性 HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKCLEWVAIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKAS QNVDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK |

【０１５７】

【表２４】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 148. | PM 76-B10.17 CC x I2C0-scFc_delGK 二特異性 HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKCLEWVAIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKAS QNVDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 149. | PM 76-B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 二特異性分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKCLEWVAIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKAS QNVDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYC GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSP GGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGT KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVL |

【０１５８】

【表２５】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 150. | PM 76-B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 二特異性HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA<br>PGKCLEWVAIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQM<br>NSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSSG<br>GGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKAS<br>QNVDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS<br>ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIKS<br>GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN<br>WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD<br>DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYC<br>GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSP<br>GGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGT<br>KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>SNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF<br>LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG<br>VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC<br>KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV<br>SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF<br>FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS<br>PGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTH<br>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV<br>SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVL<br>TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ<br>VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE<br>NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM<br>HEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 151. | PM 76-B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc delGK 二特異性HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA<br>PGKCLEWVAIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQM<br>NSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSSG<br>GGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKAS<br>QNVDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS<br>ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIKS<br>GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN<br>WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD<br>DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYC<br>GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSP<br>GGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGT<br>KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>SNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF<br>LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG<br>VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC<br>KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV<br>SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF<br>FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS<br>PGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCP<br>PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE<br>DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL<br>HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT<br>LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN<br>YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE<br>ALHNHYTQKSLSLSPGK |

【０１５９】

【表２６】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 152. | PM 76-B10.11 CC VH CDR1 | 人工 | aa | DYYMY |
| 153. | PM 76-B10.11 CC VH CDR2 | 人工 | aa | IISDGGYYTYYSDIIKG |
| 154. | PM 76-B10.11 CC VH CDR3 | 人工 | aa | GFPLLRHGAMDY |
| 155. | PM 76-B10.11 CC VL CDR1 | 人工 | aa | KASQNVDTNVA |
| 156. | PM 76-B10.11 CC VL CDR2 | 人工 | aa | SASYVYW |
| 157. | PM 76-B10.11 CC VL CDR3 | 人工 | aa | QQYDQQLIT |
| 158. | PM 76-B10.11 CC VH | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS |
| 159. | PM 76-B10.11 CC VL | 人工 | aa | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKP GQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSED FATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIK |
| 160. | PM 76-B10.11 CC scFv | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKA SQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIK |
| 161. | PM 76-B10.11 CC x I2C0二特異性分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKA SQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVL |

【０１６０】

【表２７】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 162. | PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc 二特異性 HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKA SQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 163. | PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc_delGK 二特異性HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKA SQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK |

【０１６１】

【表２８】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 164. | PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 二特異性分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKA SQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYC GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSP GGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGT KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVL | 10 |
| 165. | PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 二特異性 HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKA SQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYC GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSP GGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGT KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK | 20 30 |

【０１６２】

40

50

【表２９】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 166. | PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc_delGK 二特異性 HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKA SQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYC GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSP GGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGT KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 167. | PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VH CDR1 | 人工 | aa | DYYMY |
| 168. | PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VH CDR2 | 人工 | aa | IISDGGYYTYYSDIIKG |
| 169. | PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VH CDR3 | 人工 | aa | GFPLLRHGAMDY |
| 170. | PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VL CDR1 | 人工 | aa | KASQNVDTNVA |
| 171. | PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VL CDR2 | 人工 | aa | SASYVYW |
| 172. | PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VL CDR3 | 人工 | aa | QQYDQQLIT |
| 173. | PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VH | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS |
| 174. | PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VL | 人工 | aa | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKP GQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSED FATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIK |

【０１６３】

【表３０】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 175. | PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc scFv | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKA SQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIK |
| 176. | PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc 二特異性分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKA SQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVL |
| 177. | PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc 二特異性 HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKA SQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK |

【０１６４】

【表３１】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 178. | PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc_delGK 二特異性HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKA SQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 179. | PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 二特異性分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKA SQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYC GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSP GGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGT KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVL |

【０１６５】

【表３２】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 180. | PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 二特異性HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA<br>PGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ<br>MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS<br>GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKA<br>SQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS<br>ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIKS<br>GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN<br>WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD<br>DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYC<br>GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSP<br>GGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGT<br>KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>SNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF<br>LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG<br>VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC<br>KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV<br>SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF<br>FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS<br>PGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTH<br>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV<br>SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVL<br>TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ<br>VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE<br>NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM<br>HEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 181. | PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc_delGK 二特異性HLE分子 | 人工 | aa | QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQA<br>PGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ<br>MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS<br>GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKA<br>SQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGS<br>ASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIKS<br>GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN<br>WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD<br>DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYC<br>GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSP<br>GGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGT<br>KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>SNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF<br>LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG<br>VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC<br>KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV<br>SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF<br>FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS<br>PGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCP<br>PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE<br>DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL<br>HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT<br>LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN<br>YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE<br>ALHNHYTQKSLSLSPGK |

【０１６６】

【表３３】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 182. | CD70_21D_CC VH CDR1 | 人工 | aa | TYAMS |
| 183. | CD70_21D_CC VH CDR2 | 人工 | aa | AISGSGGRTFYAESVEG |
| 184. | CD70_21D_CC VH CDR3 | 人工 | aa | HDYSNYPYFDY |
| 185. | CD70_21D_CC VL CDR1 | 人工 | aa | RASQSVRSTYLA |
| 186. | CD70_21D_CC VL CDR2 | 人工 | aa | GASSRAT |
| 187. | CD70_21D_CC VL CDR3 | 人工 | aa | QQYGDLPFT |
| 188. | CD70_21D_CC VH | 人工 | aa | EVQLLESGGGMVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQ APGKCLEWVSAISGSGGRTFYAESVEGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKHDYSNYPYFDYWGQGTLVTVSS |
| 189. | CD70_21D_CC VL | 人工 | aa | EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVRSTYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE PEDFAVYSCQQYGDLPFTFGCGTKLEIK |
| 190. | CD70_21D_CCx12C scFc | 人工 | aa | EVQLLESGGGMVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQ APGKCLEWVSAISGSGGRTFYAESVEGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKHDYSNYPYFDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRAS QSVRSTYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSG SGTDFTLTISRLEPEDFAVYSCQQYGDLPFTFGCGTKLEIKSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK |

【０１６７】

【表３４】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 191 | ヒンジ配列 | 人工 | aa | DKTHTCPPCP |
| 192 | ヒンジ配列 | 人工 | aa | ERKCCVECPPCP |
| 193 | ヒンジ配列 | 人工 | aa | ELKTPLDTTHTCPRCP |
| 194 | ヒンジ配列 | 人工 | aa | ELKTPLGDTTHTCPRCP |
| 195 | ヒンジ配列 | 人工 | aa | ESKYGPPCPSCP |
| 196 | ヒンジ配列 | 人工 | aa | EPKSCDKTHTCPPCP |
| 197 | リンカー | 人工 | aa | GGGGS |
| 198 | His-タグ | 人工 | aa | HHHHHH |
| 199 | リンカー | 人工 | aa | GGGGSGGGGSGGGGS |

【０１６８】
本発明は、以下の実施例を参照することにより、より詳細に理解されるであろう。しかし、実施例は、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。
【実施例】
【０１６９】
実施例１：凍結状態（－２０℃）下で保管した場合のＢｉＴＥ分子の凝集増加
ＨＬＥ　ＢｉＴＥ（ＭＳＬＮｘＣＤ３、ＣＤ１９ｘＣＤ３、ＣＤ３３ｘＣＤ３、ＢＣＭＡｘＣＤ３及びＤＬＬ３ｘＣＤ３）各１ｍｇ／ｍＬを含み、ｐＨが４．２である組成物を５ｍＬバイアルに満たし、－２０℃で１カ月保管した。１カ月後、本組成物を室温で解凍し、本組成物中のＨＭＷ凝集体（例えば二特異性抗体二量体）のレベルを決定するためにＳＥ－ＵＨＰＬＣによってすぐに分析した。ＳＥ－ＵＨＰＬＣは、サイズ排除超高速分析カラムを使用して、タンパク質の水力学的体積に基づいて、溶液中のタンパク質を分離する。高分子量（凝集体ピーク）は、単量体及びより低い分子量ピークよりも早く溶出する。構成成分は、均一濃度で溶出され、ＵＶ検出により検出され、積分され、この結果は、高分子量、主要ピーク及び低分子量ピークの相対ピーク面積％として報告する。図１で示されるように、ＨＭＷ凝集体レベルが保管後に各組成物中で上昇した。
【０１７０】
実施例２：ＢｉＴＥ分子凝集のｐＨ及び温度依存性
１ｍｇ／ｍＬの濃度でＤＬＬ３ｘＣＤ３　ＨＬＥ　ＢｉＴＥを含み、ｐＨが４．２、４．８又は６．３である組成物を５ｍＬバイアルに満たし、－２０℃で１カ月間保管した。１カ月後、本組成物を室温で解凍し、ＨＭＷ凝集体のレベルを決定するためにＳＥ－ＵＨＰＬＣによりすぐに分析し、結果を図２Ａで示す。保管中に形成されるＨＭＷ凝集体はｐＨ依存性であると思われる（図２Ａ）。
【０１７１】
また、１ｍｇ／ｍＬの濃度でＤＬＬ３ｘＣＤ３　ＨＬＥ　ＢｉＴＥを含む組成物を５ｍＬバイアルに満たし、－１０℃、－２０℃、－３０℃、－４０℃及び－７０℃で１カ月間保管した。１カ月後、本組成物を室温で解凍し、ＨＭＷ凝集体のレベルを決定するためにＳＥ－ＵＨＰＬＣによりすぐに分析し、結果を２Ｂ図で示す。ＢｉＴＥを－１０℃、－２０℃、－３０℃で保管したとき、ＨＭＷ凝集体レベルが上昇し、ＢｉＴＥを含む組成物のＴｇ’（－３２℃）よりも低い温度でＢｉＴＥを保管したとき、ＨＭＷ凝集体レベルの僅かな上昇が観察された（図２Ｂ）。
【０１７２】
実施例３：１５℃～３０℃の温度で解凍ＢｉＴＥを保持することにより凝集レベルが低下した
１ｍｇ／ｍＬ、５ｍｇ／ｍＬ及び１３ｍｇ／ｍＬの濃度でＤＬＬ３ｘＣＤ３　ＨＬＥ　ＢｉＴＥを含む組成物を５ｍＬバイアルに満たし、－２０℃で１２カ月間保管した。１２カ月後、本組成物を室温で解凍し、ＨＭＷ凝集体のレベルを決定するためにＳＥ－ＵＨＰＬＣによりすぐに分析した。解凍した組成物を室温でさらに２４時間保持し、ＳＥ－ＵＨＰＬＣを用いてＨＭＷ凝集体レベルを再び分析した。保持期間後、ＨＭＷ凝集体レベルが５％未満に低下した（図３Ａ）。
【０１７３】
第２の一連の実験において、０．５ｍｇ／ｍＬ及び２ｍｇ／ｍＬの濃度でＥＧＦＲｖＩＩＩｘＣＤ３　ＢｉＴＥを含む組成物を５ｍＬバイアルに満たし、－２０℃で１カ月間保管した。１カ月後、本組成物を室温で解凍し、ＨＭＷ凝集体のレベルを決定するためにＳＥ－ＵＨＰＬＣによりすぐに分析した。解凍した組成物を室温でさらに２４時間保持し、ＳＥ－ＵＨＰＬＣを使用してＨＭＷ凝集体レベルを再び分析した。ＨＭＷ凝集体レベルは保持期間後、５％未満に低下した（図３Ｂ）。
【０１７４】
第３の一連の実験において、１ｍｇ／ｍＬの濃度でＨＬＥ　ＢｉＴＥ（ＭＳＬＮｘＣＤ３、ＣＤ１９ｘＣＤ３、ＣＤ３３ｘＣＤ３、ＣＤＨ１９ｘＣＤ３、ＢＣＭＡｘＣＤ３、Ｄ

ＬＬ３ｘＣＤ３、ＦＬＴ３ｘＣＤ３、ＰＳＭＡｘＣＤ３及びＣＤ７０ｘＣＤ３）のそれぞれを含む組成物を５ｍＬバイアルに満たし、－２０℃で１カ月間保管した。１カ月後、本組成物を室温で解凍し、ＨＭＷ凝集体のレベルを決定するためにＳＥ－ＵＨＰＬＣによりすぐに分析した。解凍した組成物を室温でさらに２４時間保持し、ＳＥ－ＵＨＰＬＣを使用して、ＨＭＷ凝集体レベルを再び分析した。各組成物中のＨＭＷ凝集体レベルは、保持期間後に１％未満に低下した（図３Ｃ）。

【０１７５】

第４の一連の実験において、１ｍｇ／ｍＬの濃度でＨＬＥ　ＢｉＴＥ（ＣＤ３３ｘＣＤ３及びＤＬＬ３ｘＣＤ３）のそれぞれを含む組成物を５ｍＬ中に満たし、－３０℃で１８カ月間保管した。１８カ月後、本組成物を室温で解凍し、ＨＭＷ凝集体のレベルを決定するためにＳＥ－ＵＨＰＬＣによりすぐに分析した。解凍した組成物を室温でさらに２４時間保持し、ＳＥ－ＵＨＰＬＣを使用してＨＭＷ凝集体レベルを再び分析した。各組成物中のＨＭＷ凝集体レベルは、保持期間後に０．４％未満に低下した（図３Ｄ）。

【０１７６】

実施例４：解凍したＢｉＴＥの１５℃～３０℃の温度での保持はＢｉＴＥの安定性に影響しない

１３ｍｇ／ｍＬの濃度でＤＬＬ３ｘＣＤ３　ＨＬＥ　ＢｉＴＥを含む組成物を５ｍＬバイアルに満たし、－２０℃で１２カ月間保管した。１２カ月後、本組成物を室温で解凍し、解凍した組成物を室温でさらに２４時間保持した。いくつかの安定性を２４時間保持期間後に分析し、結果を表４で示す。

【０１７７】

癌腫細胞株での発光喪失によって細胞死を測定する細胞に基づくバイオアッセイにより、ＨＬＥ　ＢｉＴＥ分子の効力を測定した。試験試料の応答を参照標準物質の応答と比較することにより、試験試料の生物学的活性を決定する（相対効力）。

【０１７８】

還元キャピラリー電気泳動－ドデシル硫酸ナトリウム（ｒＣＥ－ＳＤＳ）を使用して、ＢｉＴＥ分子のクリッピングを測定した。ｒＣＥ－ＳＤＳは、還元及び変性条件下でタンパク質の水力学的サイズに基づいてタンパク質を分離する。タンパク質を変性、還元し、ポリマーゲルマトリクスを満たした裸の（ｂａｒｅ）フューズドシリカキャピラリーに注入した。キャピラリーを横断して電圧を印加し、ＳＤＳに被覆されたタンパク質がその水力学的サイズに基づき分離され；サイズがより小さいタンパク質は、サイズがより大きいタンパク質よりも早く移動する。光ダイオードアレイ（ＰＤＡ）検出器を使用してタンパク質を検出し、積分し、結果を低分子量、主要ピーク及び高分子量ピークの相対ピーク面積％として報告する。

【０１７９】

陽イオン交換高速液体クロマトグラフィー（ＣＥＸ－ＨＰＬＣ）を使用して、ＢｉＴＥ分子のチャージバリアントを測定した。適切なｐＨ下でイオン強度上昇の移動相勾配を使用して、タンパク質のチャージバリアントを溶出させた。陽性表面電荷が小さいタンパク質ほど、陽性表面電荷が大きいタンパク質よりも早く溶出する。溶出されたチャージバリアントをＵＶ検出により検出し、積分し、主要、酸性及び塩基性ピークに対する結果を総ピーク面積の％として報告した。

【０１８０】

表４で示されるように、解凍したＢｉＴＥの保持は、保持期間後のＨＭＷレベル低下の一方で、安定性に負の影響を及ぼさなかった。

【０１８１】

【表３５】

表4

| DLL3xCD3 HLE BiTE (13 mg/mL) | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 特性 / 時間 | 凝集 (SE-HPLC) | 効力 (バイオアッセイ) | クリッピング (rCE-SDS) | チャージバリアント (CEX-HPLC) |
| $T_0$ | 1.0% HMW | 102% RP | 1.4% LMW | 80.8% MP |
| -20℃、12カ月 | 36.0% HMW | n/a | n/a | n/a |
| 24時間 解凍後RT保持 | 4.0% HMW | 95% RP | 1.2% LMW | 80.5% MP |

HMW-高分子量種、RP-相対効力、MP-主要ピーク、LMW-低分子量種

【０１８２】

実施例５：凍結状態下での保管後のＢｉＴＥ分子のＨＭＷレベルの低下の、保持時間及び保持温度依存性

ＨＬＥ ＢｉＴＥ（ＣＤ３３ｘＣＤ３及びＤＬＬ３ｘＣＤ３）各１ｍｇ／ｍＬ及びＢｉＴＥ（ＥＧＦＲｖＩＩＩｘＣＤ３）２ｍｇ／ｍＬを含む組成物を５ｍＬバイアルに満たし、－２０℃で１カ月間保管した。１カ月後、本組成物を室温で解凍し、本組成物中のＨＭＷ凝集体（例えば二特異性抗体二量体）のレベルを決定するために、サイズ排除超高速液体クロマトグラフィー（ＳＥ－ＵＨＰＬＣ）によりすぐに分析した。

【０１８３】

９６時間の最長保持時間にわたり、解凍した組成物を様々な温度で保持し、ＨＭＷ凝集体レベルをＳＥ－ＵＨＰＬＣにより異なる時間点で分析した。様々な温度での、ＣＤ３３ｘＣＤ３及びＤＬＬ３ｘＣＤ３ ＨＬＥ ＢｉＴＥ及びＥＧＦＲｖＩＩＩｘＣＤ３ ＢｉＴＥに対する最初の凍結前レベルにＨＭＷ凝集体レベルを低下させるために要する保持時間は、同一であり、図４で示す。

【０１８４】

実施例６：ベンジルアルコール（ＢＡ）の安定化効果

ＨＬＥ ＢｉＴＥ（ＣＤ１９ｘＣＤ３、ＣＤ３３ｘＣＤ３、ＢＣＭＡｘＣＤ３、ＤＬＬ３ｘＣＤ３及びＥＧＦＲｖＩＩＩｘＣＤ３）各１ｍｇ／ｍＬを含む組成物を５ｍＬ中に満たし、ＢＡの存在下及び非存在下で－２０℃で４週間保管した。４週間後、本組成物を室温で解凍し、ＨＭＷ凝集体のレベルを決定するために、ＳＥ－ＵＨＰＬＣによりすぐに分析した。保管中のＢＡの存在によりＢｉＴＥが安定化される（図５）。

【０１８５】

非限定的に、本発明は以下の態様を含む。

［態様１］

二特異性抗体の凝集体を減少させるための方法であって、

解凍した二特異性抗体を少なくとも４時間、５℃～４５℃の温度で保持することを含み、前記二特異性抗体が解凍前に－２０℃～－４０℃の温度で保管されていた、方法。

［態様２］

前記二特異性抗体が製剤原料である、態様１に記載の方法。

［態様３］

前記二特異性抗体が、４時間～９６時間、前記温度で保持される、態様１又は２に記載の方法。

［態様４］

前記二特異性抗体が、８時間～４８時間、１０℃～３０℃の温度で保持される、態様１～３の何れか１項に記載の方法。

［態様５］

前記二特異性抗体が、５℃～４５℃の温度で解凍される、態様１～４の何れか１項に記

載の方法。
［態様６］
前記二特異性抗体が、－２０℃～－３５℃の温度で保管されていた、態様１～５の何れか１項に記載の方法。
［態様７］
前記二特異性抗体が、約－３０℃で保管されていた、態様１～６の何れか１項に記載の方法。
［態様８］
前記凝集体が、高分子量（ＨＭＷ）凝集体を含む、態様１～７の何れか１項に記載の方法。
［態様９］
前記二特異性抗体が、前記保持期間後に前記ＨＭＷ凝集体約１％未満を含む、態様１～８の何れか１項に記載の方法。
［態様１０］
前記二特異性抗体が、前記ＨＭＷ凝集体約０．５％未満を含む、態様９に記載の方法。
［態様１１］
前記ＨＭＷ凝集体が、前記二特異性抗体の二量体を含む、態様１～１０の何れか１項に記載の方法。
［態様１２］
二特異性抗体を含む組成物を調製するための方法であって、
－２０℃～－４０℃の温度で保管されていた二特異性抗体を含む製剤原料を解凍し、
前記二特異性抗体を含む前記解凍した製剤原料を、少なくとも４時間、５℃～４５℃の温度で保持すること
を含む、方法。
［態様１３］
前記組成物が、前記二特異性抗体を含む医薬組成物である、態様１２に記載の方法。
［態様１４］
前記製剤原料をろ過することをさらに含む、態様１２又は１３に記載の方法。
［態様１５］
前記組成物を製剤形態に分割することをさらに含む、態様１２～１４の何れか１項に記載の方法。
［態様１６］
前記製剤原料が、４時間～９６時間、前記温度で保持される、態様１２～１５の何れか１項に記載の方法。
［態様１７］
前記製剤原料が、８時間～４８時間、１０℃～３０℃の温度で保持される、態様１２～１６の何れか１項に記載の方法。
［態様１８］
前記製剤原料が、５℃～４５℃の温度で解凍される、態様１２～１７の何れか１項に記載の方法。
［態様１９］
前記製剤原料が、－２０℃～－３５℃の温度で保管されていた、態様１２～１８の何れか１項に記載の方法。
［態様２０］
前記製剤原料が約－３０℃で保管されていた、態様１２～１９の何れか１項に記載の方法。
［態様２１］
二特異性抗体を含む組成物を調製するための方法であって、二特異性抗体を含む解凍した製剤原料を５℃～４５℃の温度で少なくとも４時間保持することを含み、前記製剤原料が解凍前に前記製剤原料のガラス転移温度（Ｔｇ’）以上で凍結されていた、方法。

［態様２２］
前記製剤原料が、解凍前に－１０℃～前記製剤原料のＴｇ’以上の温度で凍結されていた、態様２１に記載の方法。
［態様２３］
前記製剤原料が、約－３２℃で凍結されていた、態様２１又は２２に記載の方法。
［態様２４］
前記製剤原料が、４時間～９６時間、前記温度で保持される、態様２１～２３の何れか１項に記載の方法。
［態様２５］
前記製剤原料が５℃～４５℃の温度で解凍される、態様２１～２４の何れか１項に記載の方法。
［態様２６］
前記製剤原料が解凍される温度と同じ温度で前記製剤原料が保持される、態様２１～２５の何れか１項に記載の方法。
［態様２７］
前記製剤原料が、１５℃～３０℃の温度で３０時間～５０時間、解凍され、保持される、態様２６に記載の方法。
［態様２８］
前記組成物を製剤形態に分割することをさらに含む、態様２１～２７の何れか１項に記載の方法。
［態様２９］
前記製剤原料が、保持期間後にＨＭＷ凝集体約１％未満を含む、態様１２～２８の何れか１項に記載の方法。
［態様３０］
前記製剤原料が、前記ＨＭＷ凝集体約０．５％未満を含む、態様２９に記載の方法。
［態様３１］
前記ＨＭＷ凝集体が、前記二特異性抗体の二量体を含む、態様２９又は３０に記載の方法。
［態様３２］
前記製剤原料が、約０．０５ｍｇ／ｍＬ～約２０ｍｇ／ｍＬの濃度で前記二特異性抗体を含む、態様１～３１の何れか１項に記載の方法。
［態様３３］
前記組成物を凍結乾燥させることをさらに含む、態様１２～３２の何れか１項に記載の方法。
［態様３４］
前記組成物を噴霧乾燥させることをさらに含む、態様１２～３２の何れか１項に記載の方法。
［態様３５］
態様１～３４の何れか１項に記載の方法であって、前記二特異性抗体が、
標的細胞表面抗原に結合する第１の結合ドメインと、
ヒトＣＤ３に結合する第２の結合ドメインと、を含み、前記二特異性抗体が（ｓｃＦｖ）$_2$形式である、方法。
［態様３６］
前記標的細胞表面抗原が、ＣＤ１９、ＣＤ３３又はＢＣＭＡである、態様３５に記載の方法。
［態様３７］
態様３６に記載の方法であって、前記第１の結合ドメインがＶＨ領域及びＶＬ領域を含み、
前記ＶＨが配列番号７７のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号７８のアミノ酸配列を含むか；

前記ＶＨが配列番号２８のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号３２若しくは３３のアミノ酸配列を含むか；又は
前記ＶＨが配列番号１３２のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号１３３のアミノ酸配列を含む、方法。
［態様３８］
前記二特異性抗体が、配列番号１７、４０又は１３５のアミノ酸配列を含む、態様３７に記載の方法。
［態様３９］
前記二特異性抗体が、２つのポリペプチド単量体を含む第３のドメインをさらに含み、それぞれがヒンジ、ＣＨ２及びＣＨ３ドメインを含み、前記２つのポリペプチド単量体がペプチドリンカーを介して互いに連結される、態様１～３８の何れか１項に記載の方法。
［態様４０］
前記第３のドメインが、アミノからカルボキシルの順にヒンジ－ＣＨ２－ＣＨ３－リンカー－ヒンジ－ＣＨ２－ＣＨ３を含む、態様３９に記載の方法。
［態様４１］
前記第３のドメインがＨＬＥドメインである、態様４０に記載の方法。
［態様４２］
前記第１の結合ドメインが、ＣＤ１９、ＣＤ３３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＭＳＬＮ、ＣＤＨ１９、ＦＬＴ３、ＤＬＬ３、ＣＤＨ３、ＣＤ７０、ＢＣＭＡ又はＰＳＭＡから選択される少なくとも１つの標的細胞表面抗原に結合する、態様３９～４１の何れか１項に記載の方法。
［態様４３］
態様４２に記載の方法であって、前記第１の結合ドメインがＶＨ領域及びＶＬ領域を含み、
前記ＶＨが配列番号１０８のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号１０９のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが、配列番号２７のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号３２のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号４８のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号４９のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号５９のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号６０のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号７７のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号７８のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号１０８のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号１１２のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号８９のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号９０のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号１００のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号１０１のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号１２１のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号１２２のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号１８８のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号１８９のアミノ酸配列を含むか；
前記ＶＨが配列番号１３２のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号１３３のアミノ酸配列を含むか；又は
前記ＶＨが配列番号１７３のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬが配列番号１７４のアミノ酸配列を含む、方法。
［態様４４］
前記二特異性抗体が、配列番号６３、１１４、４１、８２、１３６、１０４、９３、１

７７、１２５、１９０又は５２のアミノ酸配列を含む、態様４３に記載の方法。
［態様４５］
前記二特異性抗体が、配列番号６３、１１４、４１、８２、１３６、１０４、９３、１７７、１２５、１９０又は５２のアミノ酸配列からなる、態様４４に記載の方法。
［態様４６］
前記二特異性抗体が、マスクされた二特異性抗原結合タンパク質である、態様１～３４の何れか１項に記載の方法。
［態様４７］
態様４６に記載の方法であって、前記マスクされた二特異性抗原結合タンパク質が、
（ａ）第１の抗原に結合する第１の抗体又はその抗原結合断片（ＡＢ１）及びＡＢ１にカップリングされるマスキングドメイン（ＭＤ１）であって、前記ＭＤ１が、
（１）その抗原へのＡＢ１の結合を阻害するか又は減少させる第１のマスキングペプチド（ＭＰ１）及び
（２）タンパク質認識部位（ＰＲ１）を含み、
タンパク質又はプロテアーゼによるＰＲ１への結合又はその切断が、その抗原に結合するＡＢ１を増加させる、
第１の抗体又はその抗原結合断片（ＡＢ１）及びマスキングドメイン（ＭＤ１）と；
（ｂ）第２の抗原に結合する第２の抗体又はその抗原結合断片（ＡＢ２）及びＡＢ２にカップリングされる第２のマスキングドメイン（ＭＤ２）であって、前記ＭＤ２が、
（１）その抗原へのＡＢ２の結合を阻害するか又は減少させる第２のマスキングペプチド（ＭＰ）及び
（２）第２のタンパク質認識部位（ＰＲ２）を含み、
タンパク質又はプロテアーゼによるＰＲ２への結合又はその切断が、その抗原へ結合するＡＢ２を増加させる、
第２の抗体又はその抗原結合断片（ＡＢ２）及び第２のマスキングドメイン（ＭＤ２）と、
を含む、方法。
［態様４８］
前記ＰＲ１及びＰＲ２が、同じタンパク質認識配列を含む、態様４６又は４７に記載の方法。
［態様４９］
前記ＡＢ１がヒトＣＤ３に結合し、前記ＡＢ２がヒトＥＧＦＲに結合する、態様４６～４８の何れか１項に記載の方法。
本願で引用される全ての参考文献は、参照により本明細書に組み込まれる。

【図面】

【図１】

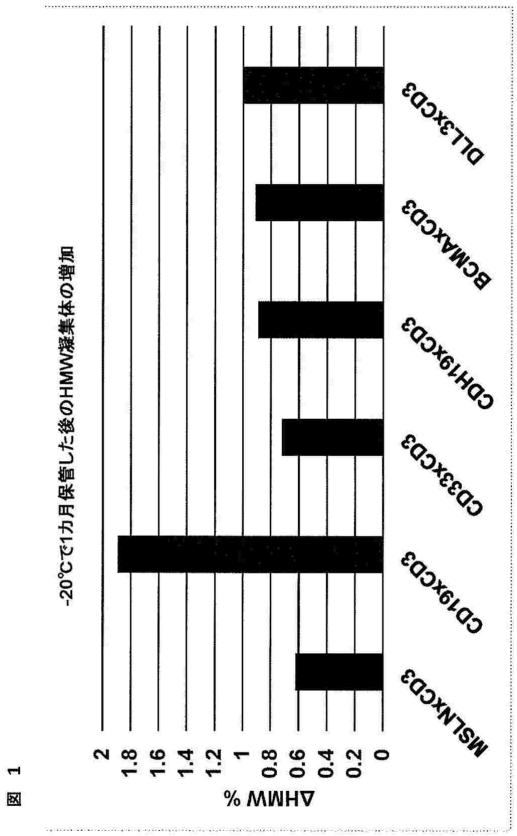



図 1

【図２Ａ】

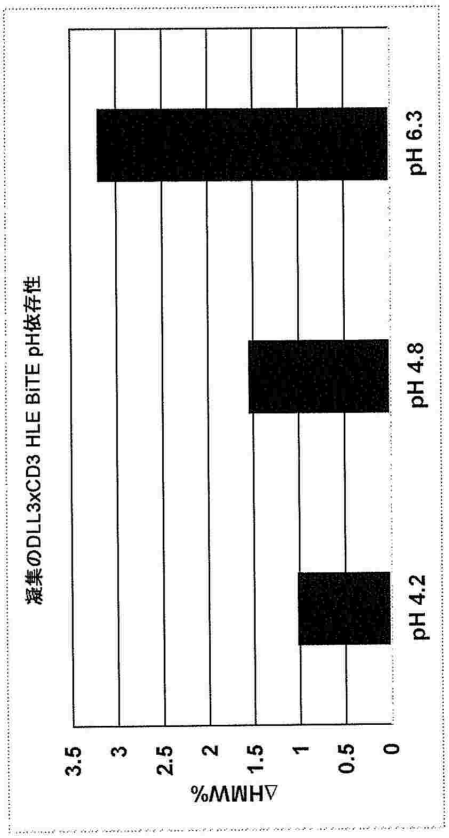



図 2A

【図２Ｂ】

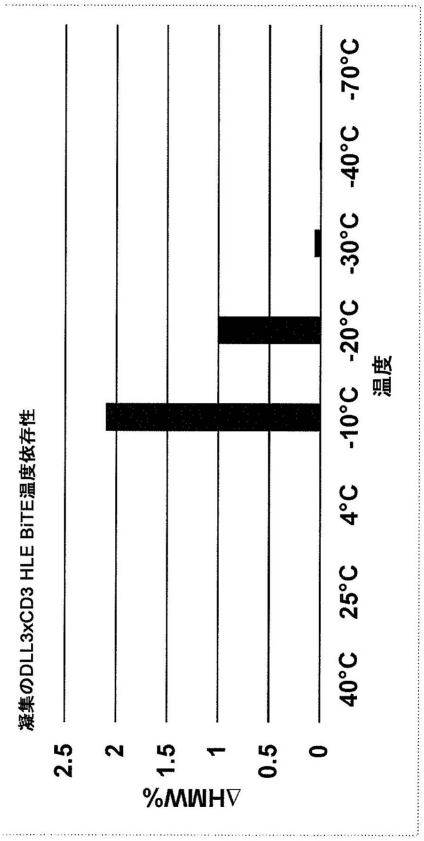



図 2B

【図３Ａ】

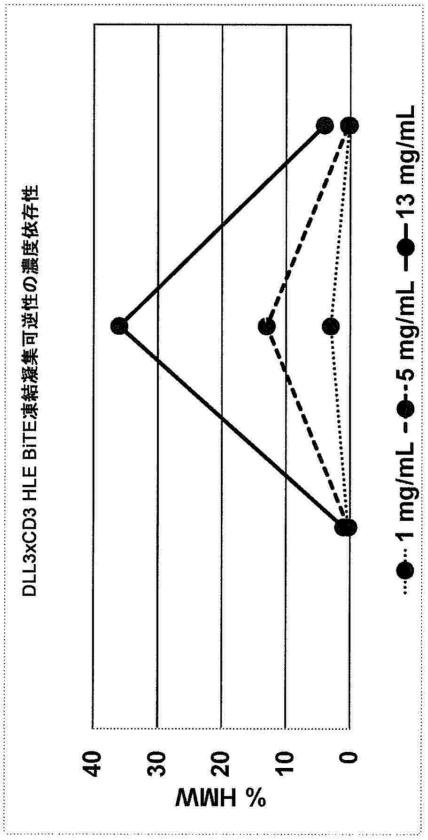
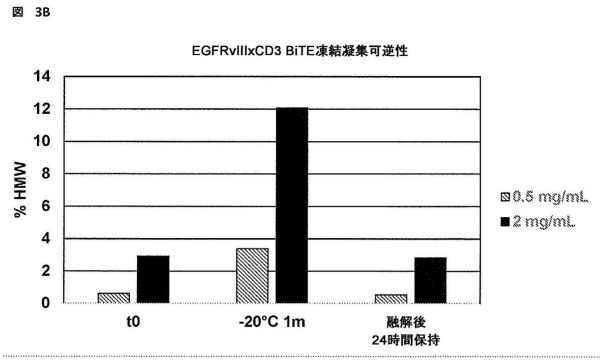



図 3A

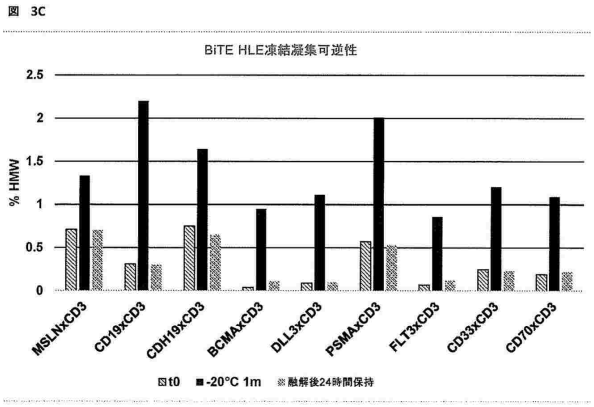
【図３Ｂ】

図 3B



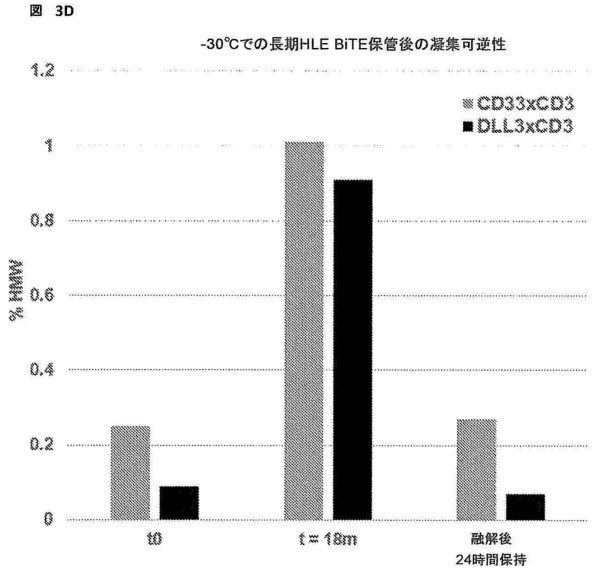

【図３Ｃ】

図 3C



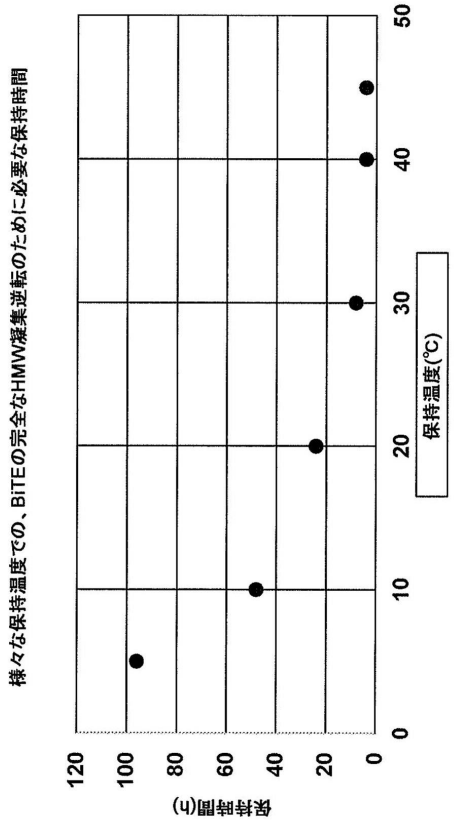

【図３Ｄ】

図 3D




【図４】

図 4



【図５】

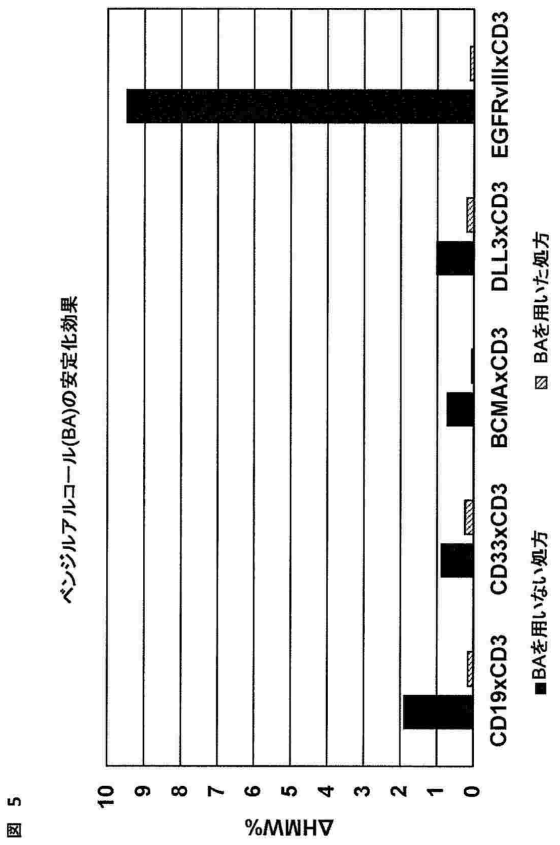



図５

【配列表】

0007676304000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類　　FI

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| *C12N 15/13 (2006.01)* | | C12N | 15/13 | |
| *C12N 15/62 (2006.01)* | | C12N | 15/62 | Z |

２０－１７９９，サウザンド オークス，ワン アムジェン センター ドライブ，メールストップ ２８－５－エイ，ケア・オブ・アムジェン インコーポレイテッド
(72)発明者　ホ，ジュン
アメリカ合衆国カリフォルニア州９１３２０－１７９９，サウザンド オークス，ワン アムジェン センター ドライブ，メールストップ ２８－５－エイ，ケア・オブ・アムジェン インコーポレイテッド
(72)発明者　トロイハイト，マイケル
アメリカ合衆国カリフォルニア州９１３２０－１７９９，サウザンド オークス，ワン アムジェン センター ドライブ，メールストップ ２８－５－エイ，ケア・オブ・アムジェン インコーポレイテッド
(72)発明者　シャン，ターシエン
アメリカ合衆国カリフォルニア州９１３２０－１７９９，サウザンド オークス，ワン アムジェン センター ドライブ，メールストップ ２８－５－エイ，ケア・オブ・アムジェン インコーポレイテッド
審査官　辰己 雅夫

(56)参考文献
国際公開第２０１６／０３６６７８（WO，A１）
特表２０１５－５３６９３８（ＪＰ，Ａ）
特表２０１６－５１９１２４（ＪＰ，Ａ）
特表２０１１－５０４９３３（ＪＰ，Ａ）
特開２０１７－１６３９７３（ＪＰ，Ａ）
特表２０１６－５２５５５１（ＪＰ，Ａ）
特表２０１４－５３４１９８（ＪＰ，Ａ）
特表２０１１－５０９９７２（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野　(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ３９／００－３９／４４
Ａ６１Ｋ９／００－９／７２
Ｃ０７Ｋ　１６／４６
Ｃ０７Ｋ　１６／２８
Ｃ１２Ｎ　１５／１３
Ｃ１２Ｎ　１５／６２
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）