

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-511187
(P2025-511187A)

(43)公表日 令和7年4月15日(2025.4.15)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	Z N A	4 B 0 6 4
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46		4 B 0 6 5
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13		4 C 0 8 5
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 H 0 4 5
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全123頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-558023(P2024-558023)			(71)出願人	510046457
(86)(22)出願日	令和5年3月31日(2023.3.31)				サイトムエックス セラピューティクス
(85)翻訳文提出日	令和6年10月18日(2024.10.18)				, インク.
(86)国際出願番号	PCT/US2023/017130				C y t o m X T h e r a p e u t i c
(87)国際公開番号	WO2023/192606				s , I n c .
(87)国際公開日	令和5年10月5日(2023.10.5)				アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 4
(31)優先権主張番号	63/326,668				0 8 0 , サウス サンフランシスコ, オ
(32)優先日	令和4年4月1日(2022.4.1)				イスター ポイント ブールバード 1 5
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				1 , スイート 4 0 0
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ				1 5 1 O y s t e r P o i n t B o
	,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),				u l e v a r d , S u i t e 4 0 0 ,
	EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(				S o u t h S a n F r a n c i s c o
	AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,				, C a l i f o r n i a , 9 4 0 8 0
	FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV				U . S . A .
	最終頁に続く			(74)代理人	100198915
					最終頁に続く

(54)【発明の名称】 C D 3 結合タンパク質及びその使用方法

(57)【要約】

本開示には、C D 3 イプシロンと結合する特異的配列を有する重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインを有し、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインが、1つ以上のポリペプチド内に配置される、標的結合タンパク質が含まれる。本開示にはまた、組成物、核酸、ベクター、細胞、ならびにタンパク質、組成物、及び核酸を作製及び使用する方法も含まれる。別の態様では、本開示は、本明細書の標的結合タンパク質と、担体と、を含む、組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物が、薬学的組成物であり、担体が、薬学的に許容される担体である。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

標的結合タンパク質であって、

TYAMN（配列番号 3）の配列を含む可変重鎖相補性決定領域 1（VH CDR 1））、

RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）の配列を含む可変重鎖相補性決定領域 2（VH CDR 2）、及び

HGNFGNSYVSWX₁AY（配列番号 6）の配列を含む可変重鎖相補性決定領域 3（VH CDR 3）であって、X₁が、WまたはFである、前記可変重鎖相補性決定領域 3（VH CDR 3）を含む、重鎖可変ドメインと、

X₂SSTGAVTTTSNYX₃N（配列番号 10）の配列を含む可変軽鎖相補性決定領域 1（VL CDR 1）であって、X₂が、RまたはGであり、X₃が、PまたはVである、前記可変軽鎖相補性決定領域 1（VL CDR 1）、

GTNKRAP（配列番号 14）の配列を含む可変軽鎖相補性決定領域 2（VL CDR 2）、及び

X₄LWYSNX₅WV（配列番号 15）の配列を含む可変軽鎖相補性決定領域 3（VL CDR 3）であって、X₄が、VまたはIであり、X₅が、RまたはLである、前記可変軽鎖相補性決定領域 3（VL CDR 3）を含む、軽鎖可変ドメインと、を含み、

前記重鎖可変ドメイン及び前記軽鎖可変ドメインが、1つ以上のポリペプチド内に配置され、

前記標的結合タンパク質が、CD3 イプシロンと特異的に結合する、前記標的結合タンパク質。

【請求項 2】

a. 前記 VH CDR 1 が、TYAMN（配列番号 3）の配列を含み、

b. 前記 VH CDR 2 が、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）の配列を含み、

c. 前記 VH CDR 3 が、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号 7）または HGNFGNSYVSWFAY（配列番号 8）の配列を含み、

d. 前記 VL CDR 1 が、RSSTGAVTTTSNYPN（配列番号 11）、RSSSTGAVTTTSNYPN（配列番号 12）、または GSSTGAVTTTSNYPN（配列番号 13）の配列を含み、

e. 前記 VL CDR 2 が、GTNKRAP（配列番号 14）の配列を含み、

f. 前記 VL CDR 3 が、VLWYSNRWV（配列番号 16）、VLWYSNLWV（配列番号 17）、または ILWYSNRWV（配列番号 18）の配列を含む、請求項 1 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 3】

前記 VH CDR 1 が、TYAMN（配列番号 3）を含み、前記 VH CDR 2 が、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含み、前記 VH CDR 3 が、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号 7）を含み、前記 VL CDR 1 が、RSSTGAVTTTSNYPN（配列番号 11）を含み、前記 VL CDR 2 が、GTNKRAP（配列番号 14）を含み、及び前記 VL CDR 3 が、VLWYSNRWV（配列番号 16）を含むか、

前記 VH CDR 1 が、TYAMN（配列番号 3）を含み、前記 VH CDR 2 が、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含み、前記 VH CDR 3 が、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号 7）を含み、前記 VL CDR 1 が、GSSTGAVTTTSNYPN（配列番号 13）を含み、前記 VL CDR 2 が、GTNKRAP（配列番号 14）を含み、及び前記 VL CDR 3 が、VLWYSNRWV（配列番号 16）を含むか、

前記 VH CDR 1 が、TYAMN（配列番号 3）を含み、前記 VH CDR 2 が、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含み、前記 VH CDR 3 が、

10

20

30

40

50

HGNFGNSYVSWFAY（配列番号 8）を含み、前記 VL CDR1 が、GSSTGAVTTSNYVN（配列番号 13）を含み、前記 VL CDR2 が、GTNKRAP（配列番号 14）を含み、及び前記 VL CDR3 が、VLWYSNRWV（配列番号 16）を含むか、

前記 VH CDR1 が、TYAMN（配列番号 3）を含み、前記 VH CDR2 が、IRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含み、前記 VH CDR3 が、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号 7）を含み、前記 VL CDR1 が、RSSTGAVTTSNYVN（配列番号 12）を含み、前記 VL CDR2 が、GTNKRAP（配列番号 14）を含み、及び前記 VL CDR3 が、ILWYSNRWV（配列番号 18）を含むか、

10

前記 VH CDR1 が、TYAMN（配列番号 3）を含み、前記 VH CDR2 が、IRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含み、前記 VH CDR3 が、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号 7）を含み、前記 VL CDR1 が、GSSTGAVTTSNYVN（配列番号 13）を含み、前記 VL CDR2 が、GTNKRAP（配列番号 14）を含み、及び前記 VL CDR3 が、VLWYSNLWV（配列番号 17）を含むか、または

前記 VH CDR1 が、TYAMN（配列番号 3）を含み、前記 VH CDR2 が、IRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含み、前記 VH CDR3 が、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号 7）を含み、前記 VL CDR1 が、RSSTGAVTTSNYVN（配列番号 12）を含み、前記 VL CDR2 が、GTNKRAP（配列番号 14）を含み、及び前記 VL CDR3 が、VLWYSNRWV（配列番号 16）を含む、請求項 1 に記載の標的結合タンパク質。

20

【請求項 4】

前記重鎖可変ドメインが、TYAMN（配列番号 3）を含む前記 VH CDR1、IRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含む前記 VH CDR2、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号 7）を含む前記 VH CDR3 を含み、前記軽鎖可変ドメインが、RSSTGAVTTSNYPN（配列番号 11）を含む前記 VL CDR1、GTNKRAP（配列番号 14）を含む前記 VL CDR2、及び VLWYSNRWV（配列番号 16）を含む前記 VL CDR3 を含む、請求項 3 に記載の標的結合タンパク質。

30

【請求項 5】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 46 と少なくとも 90%、または少なくとも 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは 99% 同一である配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 49 と少なくとも 90%、または少なくとも 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは 99% 同一である配列を含む、請求項 4 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 6】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 46 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 49 のアミノ酸配列を含む、請求項 4 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 7】

前記重鎖可変ドメインが、TYAMN（配列番号 3）を含む前記 VH CDR1、IRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含む前記 VH CDR2、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号 7）を含む前記 VH CDR3 を含み、前記軽鎖可変ドメインが、GSSTGAVTTSNYVN（配列番号 13）を含む前記 VL CDR1、GTNKRAP（配列番号 14）を含む前記 VL CDR2、及び VLWYSNRWV（配列番号 16）を含む前記 VL CDR3 を含む、請求項 3 に記載の標的結合タンパク質。

40

【請求項 8】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 46 と少なくとも 90%、または少なくとも 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは 99% 同一であ

50

る配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 64 と少なくとも 90 %、または少なくとも 91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、もしくは 99 % 同一である配列を含む、請求項 7 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 9】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 46 の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 64 の配列を含む、請求項 7 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 10】

前記重鎖可変ドメインが、TYAMN（配列番号 3）を含む前記 VH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含む前記 VH CDR2、HGNGFNSYVSWFAY（配列番号 8）を含む前記 VH CDR3 を含み、前記軽鎖可変ドメインが、GSSTGAVTTTSNYVN（配列番号 13）を含む前記 VL CDR1、GTNKRAP（配列番号 14）を含む前記 VL CDR2、及び VLWYSNRWV（配列番号 16）を含む前記 VL CDR3 を含む、請求項 3 に記載の標的結合タンパク質。

10

【請求項 11】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 128 と少なくとも 90 %、または少なくとも 91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、もしくは 99 % 同一である配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 122 と少なくとも 90 %、または少なくとも 91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、もしくは 99 % 同一である配列を含む、請求項 10 に記載の標的結合タンパク質。

20

【請求項 12】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 128 の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 122 の配列を含む、請求項 10 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 13】

前記重鎖可変ドメインが、TYAMN（配列番号 3）を含む前記 VH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含む前記 VH CDR2、HGNGFNSYVSWWAY（配列番号 7）を含む前記 VH CDR3 を含み、前記軽鎖可変ドメインが、RSSTGAVTTTSNYVN（配列番号 12）を含む前記 VL CDR1、GTNKRAP（配列番号 14）を含む前記 VL CDR2、及び ILWYSNRWV（配列番号 18）を含む前記 VL CDR3 を含む、請求項 3 に記載の標的結合タンパク質。

30

【請求項 14】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 46 と少なくとも 90 %、または少なくとも 91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、もしくは 99 % 同一である配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 113 と少なくとも 90 %、または少なくとも 91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、もしくは 99 % 同一である配列を含む、請求項 13 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 15】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 46 の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 113 の配列を含む、請求項 13 に記載の標的結合タンパク質。

40

【請求項 16】

前記重鎖可変ドメインが、TYAMN（配列番号 3）を含む前記 VH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含む前記 VH CDR2、HGNGFNSYVSWWAY（配列番号 7）を含む前記 VH CDR3 を含み、前記軽鎖可変ドメインが、GSSTGAVTTTSNYVN（配列番号 13）を含む前記 VL CDR1、GTNKRAP（配列番号 14）を含む前記 VL CDR2、及び VLWYSNLWV（配列番号 17）を含む前記 VL CDR3 を含む、請求項 3 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 17】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 46 と少なくとも 90 %、または少なくとも 91 %

50

、 92 %、 93 %、 94 %、 95 %、 96 %、 97 %、 98 %、 もしくは 99 % 同一である配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 98 と少なくとも 90 %、または少なくとも 91 %、 92 %、 93 %、 94 %、 95 %、 96 %、 97 %、 98 %、 もしくは 99 % 同一である配列を含む、請求項 16 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 18】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 46 の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 98 の配列を含む、請求項 16 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 19】

前記重鎖可変ドメインが、TYAMN（配列番号 3）を含む前記 VH CDR1、RISKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含む前記 VH CDR2、HGNGNSYVSWWAY（配列番号 7）を含む前記 VH CDR3 を含み、前記軽鎖可変ドメインが、RSSTGAVTTTSNYVN（配列番号 12）を含む前記 VL CDR1、GTNKRAP（配列番号 14）を含む前記 VL CDR2、及び VLWYSNRWV（配列番号 16）を含む前記 VL CDR3 を含む、請求項 3 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 20】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 46 と少なくとも 90 %、または少なくとも 91 %、 92 %、 93 %、 94 %、 95 %、 96 %、 97 %、 98 %、 もしくは 99 % 同一である配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 107 と少なくとも 90 %、または少なくとも 91 %、 92 %、 93 %、 94 %、 95 %、 96 %、 97 %、 98 %、 もしくは 99 % 同一である配列を含む、請求項 19 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 21】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 46 の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 107 の配列を含む、請求項 19 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 22】

標的結合タンパク質であって、

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMNHWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWX₁AYWGX₆GTLVTVSS（配列番号 20）の配列を含む重鎖可変ドメインと、

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCX₂SSTGAVTTTSNYX₃NWVQKPGX₇APRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLJGGKAALTLSGX₉QPEDEAEYYCX₄LWYSNX₅WVFGGGTKLTVL（配列番号 21）の配列を含む軽鎖可変ドメインと、を含み、

X₁ が、W または F であり、X₂ が、R または G であり、X₃ が、P または V であり、X₄ が、V または I であり、X₅ が、R または L であり、

X₆ が、Q であり、X₇ が、Q であるか、または X₆ が、C であり、X₇ が、C であり、

J が、X₉ が V である場合、L であるか、または J が、X₉ が A である場合、I であり、

前記標的結合タンパク質が、CD3 イプシロンと特異的に結合する、前記標的結合タンパク質。

【請求項 23】

X₆ が、Q であり、X₇ が、Q である、請求項 22 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 24】

X₆ が、C であり、X₇ が、C である、請求項 22 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 25】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 46 の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 49 の配列を含むか、

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 46 の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列

10

20

30

40

50

番号 6 4 の配列を含むか、

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 4 6 の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 1 1 3 の配列を含むか、

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 4 6 の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 9 8 の配列を含むか、

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 4 6 の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 1 0 7 の配列を含むか、または

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 1 2 8 の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 1 2 2 の配列を含む、請求項 2 2 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 2 6】

前記重鎖可変ドメイン及び前記軽鎖可変ドメインが、同じポリペプチド内に配置される、請求項 1 ～ 2 5 のいずれか 1 項に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 2 7】

前記重鎖可変ドメイン及び前記軽鎖可変ドメインが、リンカーを介して結合する、請求項 2 6 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 2 8】

前記リンカーが、5 ～ 3 0、6 ～ 2 9、7 ～ 2 8、8 ～ 2 7、9 ～ 2 6、1 0 ～ 2 5、1 1、1 2、1 3、1 4、1 5、1 6、1 7、1 8、1 9、2 0、2 1、2 2、2 3、または 2 4 個のアミノ酸の長さを有する、請求項 2 7 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 2 9】

配列番号 5 0、2 8、1 1 4、9 9、1 0 8、または 3 2 の配列を含む、請求項 2 6 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 3 0】

前記標的結合タンパク質が、一本鎖可変断片 (s c F v) を含む、請求項 2 6 ～ 2 9 のいずれか 1 項に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 3 1】

前記標的結合タンパク質が、B i T E、(s c F v)₂、N A N O B O D Y (登録商標)、ナノボディー H S A V H H - s c A b、V H H - F a b、二重 s c F a b、F (a b')₂、ダイアボディ、C R O S S M A B (登録商標)、D A F (2 - イン - 1)、D A E (4 - イン - 1)、D U T A M A B (登録商標)、D T - I g G、ノブインホール共通軽鎖、ノブインホールアセンブリ、電荷対、F a b - アーム交換、S E E D ボディ、L U Z - Y、F c A b、k l - ボディ、直交 F a b、D V D - I g G、I g G (H) - s c F v、s c F v - (H) I g G、I g G (L) - s c F v、s c F v - (L) I g G、I g G (L、H) - F v、I g G (H) - V、V (H) - I g G、I g G (L) - V、V (L) - I g G、K I H I g G - s c F a b、2 s c F v - I g G、I g G - 2 s c F v、s c F v 4 - I g、Z Y B O D Y (商標)、D V I - I g G、ダイアボディー - C H 3、トリプルボディ、ミニ抗体、ミニボディ、T r i B i ミニボディ、s c F v - C H 3 K I H、F a b - s c F v、F (a b')₂ - s c F v 2、

【数 7】

scFv-KIH、

F a b - s c F v - F c、四価 H C A b、s c ダイアボディー - F c、ダイアボディー - F c、タンデム s c F v - F c、V H H - F c、タンデム V H H - F c、

【数 8】

L^{HH}-Fc KiH、

F a b－V H H－F c、イントラボディ、ドックアンドロック、I m m T A C（登録商標）（がんに対する免疫動員モノクローナルT C R（T細胞受容体））、I g G－I g G コンジュゲート、C o v－X－ボディ、s c F v L－P E G－s c F v 2、アドネクチン、D A R P i n（登録商標）、フィブロネクチン、I g G、I g M、I g A、I g E、I g D、またはD E P コンジュゲート、T M E A ボディ（商標）、S A F E ボディ（登録商標）、T R I T A C（登録商標）、またはS H I E L D 抗体を含む、請求項1～30のいずれか1項に記載の標的結合タンパク質。

【請求項32】

前記標的結合タンパク質が、I g G、I g M、I g A、I g E、もしくはI g D 抗体、またはその断片を含む、請求項1～30のいずれか1項に記載の標的結合タンパク質。

10

【請求項33】

前記標的結合タンパク質が、I g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4 抗体を含む、請求項32に記載の標的結合タンパク質。

【請求項34】

前記標的結合タンパク質が、ヒト化される、請求項1～33のいずれか1項に記載の標的結合タンパク質。

【請求項35】

前記標的結合タンパク質の、不活性状態でのC D 3 との結合を阻害するマスキング部分をさらに含む、請求項1～34のいずれか1項に記載の標的結合タンパク質。

【請求項36】

前記マスキング部分が、切断可能な部分を介して前記標的結合タンパク質と結合し、前記切断可能な部分が、プロテアーゼの基質である、請求項35に記載の標的結合タンパク質。

20

【請求項37】

前記プロテアーゼが、A D A M S、A D A M T S、A D A M 8、A D A M 9、A D A M 10、A D A M 12、A D A M 15、A D A M 17／T A C E、A D A M D E C 1、A D A M T S 1、A D A M T S 4、A D A M T S 5、アスパラギン酸プロテアーゼ、B A C E、レニン、アスパラギン酸カテプシン、カテプシンD、カテプシンE、カスパーゼ、カスパーゼ1、カスパーゼ2、カスパーゼ3、カスパーゼ4、カスパーゼ5、カスパーゼ6、カスパーゼ7、カスパーゼ8、カスパーゼ9、カスパーゼ10、カスパーゼ14、システインカテプシン、カテプシンB、カテプシンC、カテプシンK、カテプシンL、カテプシンS、カテプシンV／L 2、カテプシンX／Z／P、システインプロテイナーゼ、クルジパイン、レグマイン、オツバイン-2、K L K、K L K 4、K L K 5、K L K 6、K L K 7、K L K 8、K L K 10、K L K 11、K L K 13、K L K 14、メタロプロテイナーゼ、メブリン、ネプリライシン、P S M A、B M P-1、M M P、M M P 1、M M P 2、M M P 3、M M P 7、M M P 8、M M P 9、M M P 10、M M P 11、M M P 12、M M P 13、M M P 14、M M P 15、M M P 16、M M P 17、M M P 19、M M P 20、M M P 23、M M P 24、M M P 26、M M P 27、セリンプロテアーゼ、活性化プロテインC、カテプシンA、カテプシンG、キマーゼ、凝固因子プロテアーゼ、F V I I a、F I X a、F X a、F X I a、F X I I a、エラスターゼ、グランザイムB、グアニジノベンゾアターゼ、H t r A 1、ヒト好中球エラスターゼ、ラクトフェリン、マラプシン、N S 3／4 A、P A C E 4、プラスミン、P S A、t P A、トロンビン、トリプターゼ、u P A、I I 型膜貫通タンパク質、セリンプロテアーゼ、T T S P、D E S C 1、D P P-4、F A P、ヘプシン、マトリプターゼ-2、M T-SP 1／マトリプターゼ、T M P R S S 2、T M P R S S 3、またはT M P R S S 4である、請求項36に記載の標的結合タンパク質。

30

40

【請求項38】

前記重鎖可変ドメイン及び／または前記軽鎖可変ドメインが、コンジュゲート部分を介して、毒素、放射性同位体、低分子、診断剤、治療用巨大分子、標的化部分、または検出可能な部分とコンジュゲートされる、請求項1～37のいずれか1項に記載の標的結合タ

50

ンパク質。

【請求項 39】

前記コンジュゲート部分が、プロテアーゼによって切断可能である、請求項 38 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 40】

前記コンジュゲート部分が、プロテアーゼによって切断することができない、請求項 38 に記載の標的結合タンパク質。

【請求項 41】

請求項 1 ～ 40 のいずれか 1 項に記載の標的結合タンパク質と、担体と、を含む、組成物。

10

【請求項 42】

前記組成物が、薬学的組成物であり、前記担体が、薬学的に許容される担体である、請求項 41 に記載の組成物。

【請求項 43】

請求項 41 または 42 に記載の組成物の少なくとも 1 用量を含む容器、バイアル、シリンジ、インジェクタペン、またはキット。

【請求項 44】

請求項 1 ～ 40 のいずれか 1 項に記載の標的結合タンパク質をコードする配列を含む、核酸。

【請求項 45】

20

請求項 44 に記載の核酸を含む、ベクター。

【請求項 46】

請求項 44 に記載の核酸、または請求項 45 に記載のベクターを含む、細胞。

【請求項 47】

治療することを必要とする対象においてそれを実施する方法であって、治療有効量の請求項 1 ～ 40 のいずれか 1 項に記載の標的結合タンパク質、または請求項 41 もしくは 42 に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 48】

前記対象が、がん、炎症性状態、障害、もしくは疾患、または自己免疫性状態、障害、もしくは疾患を有すると特定されているか、あるいは診断されている、請求項 47 に記載の方法。

30

【請求項 49】

標的結合タンパク質を産生する方法であって、

前記標的結合タンパク質を産生するのに十分な条件下で、請求項 46 に記載の細胞を培養培地中で培養することと、

前記細胞または前記培養培地から前記標的結合タンパク質を回収することと、を含む、前記方法。

【請求項 50】

前記細胞または前記培養培地から回収された前記標的結合タンパク質を単離することをさらに含む、請求項 49 に記載の方法。

40

【請求項 51】

前記標的結合タンパク質を薬学的組成物に製剤化することをさらに含む、請求項 50 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2022 年 4 月 1 日に出願された米国仮出願第 63 / 326, 668 号の優先権の利益を主張し、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

50

配列表

「4862-124PCT.xml」と題されたEFSによって本出願とともに提出された配列表は、2023年3月31日に作成され、サイズは643,441バイトであり、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0003】

本開示は、バイオテクノロジーの分野、より具体的には、CD3と結合する分子を含む、標的結合分子に関する。

【背景技術】

【0004】

抗CD3イプシロン(CD3ε)抗体は、数年間使用されており、様々な役割で機能し、多くの疾患と戦うように設計されている。これらの抗CD3ε抗体の多くは、SP-34を含む、ごく少数のバリエーションに由来する。抗CD3ε分子の有効性、安全性、及び製造性をさらに開発するために、さらなる抗CD3ε結合タンパク質が望まれている。特定の疾患を治療するために、SP-34抗体と比較して異なる結合親和性、改善された製造性、改善された安定性を有する抗CD3ε結合タンパク質、及び目的に合ったCD3ε結合親和性を有する関連療法が必要とされている。また、多価及び一価結合タンパク質の両方の状況を含む、完全長抗体以外の分子構造の状況において改善された結合親和性、安定性、及び製造性を示す抗CD3ε結合タンパク質も必要とされている。

【発明の概要】

【0005】

本開示は、CD3ε結合ドメインを有する標的結合タンパク質、ならびに関連する組成物及び方法を提供する。

【0006】

一態様では、本開示は、標的結合タンパク質であって、TYAMN(配列番号3)の配列を含む可変重鎖相補性決定領域1(VH CDR1)、RIRSKYNNYATYYADSVKD(配列番号5)の配列を含む可変重鎖相補性決定領域2(VH CDR2)、及びHGNFGNSYVSWX₁AY(配列番号6)の配列を含む可変重鎖相補性決定領域3(VH CDR3)であって、X₁が、WまたはFである、可変重鎖相補性決定領域3(VH CDR3)を含む、重鎖可変ドメインと、X₂SSSTGAVTTTSNYX₃N(配列番号10)の配列を含む可変軽鎖相補性決定領域1(VL CDR1)であって、X₂が、RまたはGであり、X₃が、PまたはVである、可変軽鎖相補性決定領域1(VL CDR1)、GTNKRAP(配列番号14)の配列を含む可変軽鎖相補性決定領域2(VL CDR2)、及びX₄LWYSNX₅WV(配列番号15)の配列を含む可変軽鎖相補性決定領域3(VL CDR3)であって、X₄が、VまたはIであり、X₅が、RまたはLである、可変軽鎖相補性決定領域3(VL CDR3)を含む、軽鎖可変ドメインと、を含み、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインが、1つ以上のポリペプチド内に配置され、標的結合タンパク質が、CD3イプシロンと特異的に結合する、標的結合タンパク質を提供する。

【0007】

いくつかの実施形態では、VH CDR1は、TYAMN(配列番号3)の配列を含み、VH CDR2は、RIRSKYNNYATYYADSVKD(配列番号5)の配列を含み、VH CDR3は、HGNFGNSYVSWWAY(配列番号7)またはHGNFGNSYVSWFAY(配列番号8)の配列を含み、VL CDR1は、RSSTGAVTTTSNYPN(配列番号11)、RSSTGAVTTTSNYVN(配列番号12)、またはGSSTGAVTTTSNYVN(配列番号13)の配列を含み、VL CDR2は、GTNKRAP(配列番号14)の配列を含み、VL CDR3は、VLWYSNRWV(配列番号16)、VLWYSNLWV(配列番号17)、またはILWYSNRWV(配列番号18)の配列を含む。

【0008】

いくつかの実施形態では、VH CDR1が、TYAMN(配列番号3)を含み、VH

10

20

30

40

50

CDR2が、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）を含み、VH CDR3が、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号7）を含み、VL CDR1が、RSSTGAVTTTSNYPN（配列番号11）を含み、VL CDR2が、GTNKRAP（配列番号14）を含み、及びVL CDR3が、VLWYSNRWV（配列番号16）を含むか、VH CDR1が、TYAMN（配列番号3）を含み、VH CDR2が、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）を含み、VH CDR3が、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号7）を含み、VL CDR1が、GSSTGAVTTTSNYVN（配列番号13）を含み、VL CDR2が、GTNKRAP（配列番号14）を含み、及びVL CDR3が、VLWYSNRWV（配列番号16）を含むか、VH CDR1が、TYAMN（配列番号3）を含み、VH CDR2が、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）を含み、VH CDR3が、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号7）を含み、VL CDR1が、GSSTGAVTTTSNYVN（配列番号13）を含み、VL CDR2が、GTNKRAP（配列番号14）を含み、及びVL CDR3が、VLWYSNRWV（配列番号16）を含むか、VH CDR1が、TYAMN（配列番号3）を含み、VH CDR2が、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）を含み、VH CDR3が、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号7）を含み、VL CDR1が、RSSTGAVTTTSNYVN（配列番号12）を含み、VL CDR2が、GTNKRAP（配列番号14）を含み、VL CDR3が、ILWYSNRWV（配列番号NO:18）を含むか、VH CDR1が、TYAMN（配列番号3）を含み、VH CDR2が、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）を含み、VH CDR3が、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号7）を含み、VL CDR1が、GSSTGAVTTTSNYVN（配列番号13）を含み、VL CDR2が、GTNKRAP（配列番号14）を含み、及びVL CDR3が、VLWYSNLWV（配列番号17）を含むか、またはVH CDR1が、TYAMN（配列番号3）を含み、VH CDR2が、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）を含み、VH CDR3が、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号7）を含み、VL CDR1が、RSSTGAVTTTSNYVN（配列番号12）を含み、VL CDR2が、GTNKRAP（配列番号14）を含み、及びVL CDR3が、VLWYSNRWV（配列番号16）を含む。

10

20

30

40

50

【0009】

いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、TYAMN（配列番号3）を含むVH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）を含むVH CDR2、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号7）を含むVH CDR3を含み、軽鎖可変ドメインが、RSSTGAVTTTSNYPN（配列番号11）を含むVL CDR1、GTNKRAP（配列番号14）を含むVL CDR2、及びVLWYSNRWV（配列番号16）を含むVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、前述のVH CDRを含み、配列番号46と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含み、軽鎖可変ドメインが、前述のVL CDRを含み、配列番号49と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、配列番号46のアミノ酸配列を含み、軽鎖可変ドメインが、配列番号49のアミノ酸配列を含む。

【0010】

いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、TYAMN（配列番号3）を含むVH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）を含むVH CDR2、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号7）を含むVH CDR3を含み、軽鎖可変ドメインが、GSSTGAVTTTSNYVN（配列番号13）を含むVL CDR1、GTNKRAP（配列番号14）を含むVL CDR2、及びVLWYSNRWV（配列番号16）を含むVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが

、前述のVH CDRを含み、配列番号46と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含み、軽鎖可変ドメインが、前述のVL CDRを含み、配列番号64と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、配列番号46の配列を含み、軽鎖可変ドメインが、配列番号64の配列を含む。

【0011】

いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、TYAMN（配列番号3）を含むVH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）を含むVH CDR2、HGNGFGNSYVSWFAY（配列番号8）を含むVH CDR3を含み、軽鎖可変ドメインが、GSSTGAVTTSNYVN（配列番号13）を含むVL CDR1、GTNKRAP（配列番号14）を含むVL CDR2、及びVLWYSNRWV（配列番号16）を含むVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、前述のVH CDRを含み、配列番号128と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含み、軽鎖可変ドメインが、前述のVL CDRを含み、配列番号122と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、配列番号128の配列を含み、軽鎖可変ドメインが、配列番号122の配列を含む。

【0012】

いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、TYAMN（配列番号3）を含むVH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）を含むVH CDR2、HGNGFGNSYVSWWAY（配列番号7）を含むVH CDR3を含み、軽鎖可変ドメインが、RSSTGAVTTSNYVN（配列番号12）を含むVL CDR1、GTNKRAP（配列番号14）を含むVL CDR2、及びILWYSNRWV（配列番号18）を含むVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、前述のVH CDRを含み、配列番号46と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含み、軽鎖可変ドメインが、前述のVL CDRを含み、配列番号113と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、配列番号46の配列を含み、軽鎖可変ドメインが、配列番号113の配列を含む。

【0013】

いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、TYAMN（配列番号3）を含むVH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）を含むVH CDR2、HGNGFGNSYVSWWAY（配列番号7）を含むVH CDR3を含み、軽鎖可変ドメインが、GSSTGAVTTSNYVN（配列番号13）を含むVL CDR1、GTNKRAP（配列番号14）を含むVL CDR2、及びVLWYSNLWV（配列番号17）を含むVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、前述のVH CDRを含み、配列番号46と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含み、軽鎖可変ドメインが、前述のVL CDRを含み、配列番号98と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、配列番号46の配列を含み、軽鎖可変ドメインが、配列番号98の配列を含む。

【0014】

いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、TYAMN（配列番号3）を含むVH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）を含むVH CDR2、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号7）を含むVH CDR3を含み、軽鎖可変ドメインが、RSSTGAVTTTSNYVN（配列番号12）を含むVL CDR1、GTNKRAP（配列番号14）を含むVL CDR2、及びVLWYSNRWV（配列番号16）を含むVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、前述のVH CDRを含み、配列番号46と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含み、軽鎖可変ドメインが、前述のVL CDRを含み、配列番号107と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、配列番号46の配列を含み、軽鎖可変ドメインが、配列番号107の配列を含む。

10

20

30

40

50

【0015】

別の態様では、本開示は、標的結合タンパク質であって、EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWX₁AYWGX₆GTLLVTVSS（配列番号20）の配列を含む重鎖可変ドメインと、QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCX₂SSTGAVTTTSNYX₃NWVQKPGX₇APRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLJGGKAAALTL SGX₉QPEDEAEYCYCX₄LWYSNX₅WVFGGGTKLTVL（配列番号21）の配列を含む軽鎖可変ドメインと、を含み、X₁が、a) WまたはFであり、X₂が、RまたはGであり、X₃が、PまたはVであり、X₄が、VまたはIであり、X₅が、RまたはLであり、b) X₆が、Qであり、X₇が、Qであるか、またはX₆が、Cであり、X₇が、Cであり、c) Jが、X₉がVである場合、Lであるか、またはJが、X₉がAである場合、Iであり、d) 標的結合タンパク質が、CD3イプシロンと特異的に結合する、標的結合タンパク質を提供する。

【0016】

いくつかの実施形態では、X₆は、Qであり、X₇は、Qである。いくつかの実施形態では、X₆は、Cであり、X₇は、Cである。

【0017】

いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインが、配列番号46の配列を含み、軽鎖可変ドメインが、配列番号49の配列を含むか、重鎖可変ドメインが、配列番号46の配列を含み、軽鎖可変ドメインが、配列番号64の配列を含むか、重鎖可変ドメインが、配列番号46の配列を含み、軽鎖可変ドメインが、配列番号113の配列を含むか、重鎖可変ドメインが、配列番号46の配列を含み、軽鎖可変ドメインが、配列番号98の配列を含むか、重鎖可変ドメインが、配列番号46の配列を含み、軽鎖可変ドメインが、配列番号107の配列を含むか、または重鎖可変ドメインが、配列番号128の配列を含み、軽鎖可変ドメインが、配列番号122の配列を含む。

【0018】

いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインが、同じポリペプチド内に配置される。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインが、リンカーを介して結合する。いくつかの実施形態では、リンカーが、5~30、6~29、7~28、8~27、9~26、10~25、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、または24個のアミノ酸の長さを有する。

【0019】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質が、配列番号50、28、114、99、108、または32の配列を含む。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質が、一本鎖可変断片（scFv）を含む。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質が、

B i T E、(s c F v)₂、N A N O B O D Y (登録商標)、ナノボディー-H S A V H H-s c A b、V H H-F a b、二重s c F a b、F (a b')₂、ダイアボディ、C R O S S M A B (登録商標)、D A F (2-イン-1)、D A E (4-イン-1)、D U T A M A B (登録商標)、D T-I g G、ノブインホール共通軽鎖、ノブインホールアセンブリ、電荷対、F a b-アーム交換、S E E D ボディ、L U Z-Y、F c A b、k l-ボディ、直交F a b、D V D-I g G、I g G (H)-s c F v、s c F v-(H) I g G、I g G (L)-s c F v、s c F v-(L) I g G、I g G (L, H)-F v、I g G (H)-V、V (H)-I g G、I g G (L)-V、V (L)-I g G、K I H I g G-s c F a b、2 s c F v-I g G、I g G-2 s c F v、s c F v 4-I g、Z Y B O D Y (商標)、D V I-I g G、ダイアボディー-CH₃、トリプルボディ、ミニ抗体、ミニボディ、T r i B i ミニボディ、s c F v-CH₃ K I H、F a b-s c F v、F (a b')₂-s c F v₂、

【数 1】

scFv-KIH、

F a b-s c F v-F c、四価H C A b、s c ダイアボディー-F c、ダイアボディー-F c、タンデムs c F v-F c、V H H-F c、タンデムV H H-F c、

【数 2】

L'HH-Fc KiH、

F a b-V H H-F c、イントラボディ、ドックアンドロック、I m m T A C (登録商標) (がんに対する免疫動員モノクローナルT C R (T細胞受容体))、I g G-I g G コンジュゲート、C o v-X-ボディ、s c F v L-P E G-s c F v₂、アドネクチン、D A R P i n、またはフィブロネクチン、I g G、I g M、I g A、I g E、I g D、またはD E P コンジュゲート、T M E A ボディ (商標)、S A F E ボディ (登録商標)、T R I T A C (登録商標)、またはS H I E L D 抗体を含む。

【0020】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質が、I g G、I g M、I g A、I g E、もしくはI g D 抗体、もしくはその断片であるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質が、I g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4 抗体である。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質が、ヒト化されている。

【0021】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質が、標的結合タンパク質の、不活性状態でのC D 3との結合を阻害するマスキング部分をさらに含む。いくつかの実施形態では、マスキング部分が、切断可能な部分を介して (直接的または間接的に、例えば、1つ以上のリンカーを介して) 標的結合タンパク質と結合し、切断可能な部分が、プロテアーゼの基質である。いくつかの実施形態では、プロテアーゼが、A D A M S、A D A M T S、A D A M 8、A D A M 9、A D A M 10、A D A M 12、A D A M 15、A D A M 17 / T A C E、A D A M D E C 1、A D A M T S 1、A D A M T S 4、A D A M T S 5、アスパラギン酸プロテアーゼ、B A C E、レニン、アスパラギン酸カテプシン、カテプシンD、カテプシンE、カスパーゼ、カスパーゼ1、カスパーゼ2、カスパーゼ3、カスパーゼ4、カスパーゼ5、カスパーゼ6、カスパーゼ7、カスパーゼ8、カスパーゼ9、カスパーゼ10、カスパーゼ14、システインカテプシン、カテプシンB、カテプシンC、カテプシンK、カテプシンL、カテプシンS、カテプシンV / L 2、カテプシンX / Z / P、システインプロテイナーゼ、クルジパイン、レグマイン、オツバイン-2、K L K、K L K 4、K L K 5、K L K 6、K L K 7、K L K 8、K L K 10、K L K 11、K L K 13、K L K 14、メタロプロテイナーゼ、メプリン、ネプリライシン、P S M A、B M P-1、M M P、M M P 1、M M P 2、M M P 3、M M P 7、M M P 8、M M P 9、M M P 10

、MMP 1 1、MMP 1 2、MMP 1 3、MMP 1 4、MMP 1 5、MMP 1 6、MMP 1 7、MMP 1 9、MMP 2 0、MMP 2 3、MMP 2 4、MMP 2 6、MMP 2 7、セリンプロテアーゼ、活性化プロテインC、カテプシンA、カテプシンG、キマーゼ、凝固因子プロテアーゼ、F V I I a、F I X a、F X a、F X I a、F X I I a、エラスターゼ、グランザイムB、グアニジノベンゾアターゼ、H t r A 1、ヒト好中球エラスターゼ、ラクトフェリン、マラプシン、N S 3 / 4 A、P A C E 4、プラスミン、P S A、t P A、トロンビン、トリプターゼ、u P A、I I 型膜貫通タンパク質、セリンプロテアーゼ、T T S P、D E S C 1、D P P - 4、F A P、ヘプシン、マトリプターゼ- 2、M T - S P 1 / マトリプターゼ、T M P R S S 2、T M P R S S 3、またはT M P R S S 4である。

10

【0022】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質が、第2の標的と特異的に結合する第2の標的結合ドメインをさらに含む。

【0023】

いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメイン及び／または軽鎖可変ドメインが、コンジュゲート部分を介して、毒素、放射性同位体、低分子、診断剤、治療用巨大分子、標的化部分、または検出可能な部分とコンジュゲートされる。いくつかの実施形態では、コンジュゲート部分が、プロテアーゼによって切断可能である。いくつかの実施形態では、コンジュゲート部分が、プロテアーゼによって切断することができない。

【0024】

別の態様では、本開示は、本明細書の標的結合タンパク質と、担体と、を含む、組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物が、薬学的組成物であり、担体が、薬学的に許容される担体である。

20

【0025】

別の態様では、本開示は、本明細書の組成物の少なくとも1用量を含む容器、バイアル、シリンジ、インジェクタペン、またはキットを提供する。

【0026】

別の態様では、本開示は、本明細書の標的結合タンパク質をコードする配列を含む、核酸を提供する。

【0027】

別の態様では、本開示は、本明細書の核酸を含む、ベクターを提供する。

30

【0028】

別の態様では、本開示は、本明細書の核酸または本明細書のベクターを含む、細胞を提供する。

【0029】

別の態様では、本開示は、治療することを必要とする対象においてそれを実施する方法であって、治療有効量の本明細書の標的結合タンパク質、または本明細書の組成物を対象に投与することを含む、方法を提供する。いくつかの実施形態では、対象は、がんを有すると特定されているか、あるいは診断されている。

【0030】

別の態様では、本開示は、標的結合タンパク質を産生する方法であって、標的結合タンパク質を産生するのに十分な条件下で、本明細書の細胞を培養培地中で培養することと、細胞または培養培地から標的結合タンパク質を回収することと、を含む、方法を提供する。いくつかの実施形態では、方法は、細胞または培養培地から回収された標的結合タンパク質を単離することをさらに含む。いくつかの実施形態では、方法は、標的結合タンパク質を薬学的組成物に製剤化することをさらに含む。

40

【0031】

本発明の特徴及び利点は、本発明の原理が利用され得る例示的な実施形態を示す以下の詳細な説明及び添付の図面を参照することによって理解されるであろう。

【発明を実施するための形態】

50

【0032】

本明細書で提供されるのは、分化クラスター3（CD3）（例えば、CD3イプシロン）と特異的に結合する標的結合タンパク質である。一態様では、標的結合タンパク質は、CD3（例えば、CD3イプシロン）と特異的に結合する標的結合ドメインを形成する重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインを含み得る。いくつかの実施形態では、非ヒト種から産生される既知の抗CD3タンパク質（例えば、sp34マウス抗ヒトCD3抗体）と比較して、本明細書におけるCD3結合分子は、それらをよりヒト化させ、例えば、ヒトにおいて天然に産生されるCD3結合分子とのそれらの類似性を増加させる1つ以上の変異をそれらのアミノ酸配列に含む。

【0033】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、一本鎖抗体などの一本鎖タンパク質であり得る。例えば、一本鎖抗体は、一本鎖断片可変（scFv）抗体であり得る。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、複数のポリペプチドによって形成されるタンパク質複合体を含む多鎖タンパク質（例えば、多鎖抗体）であり得る。

【0034】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、活性化可能な分子、例えば、切断可能な部分を介して（直接的または間接的に、例えば、1つ以上のリンカーを介して）CD3結合ドメインと結合するマスキング部分を含む活性化可能なCD3結合分子であり得る。切断可能な部分は、ある特定の条件下（例えば、腫瘍微小環境中でプロテアーゼに曝露された場合）で切断され、それによってマスキング部分がCD3結合ドメインから放出され得る。

【0035】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、CD3以外の1つ以上の追加の標的と結合する多重特異性（例えば、二重特異性）結合タンパク質であり得る。例えば、多重特異性タンパク質は、CD3及び腫瘍関連抗原、例えば、HER2、Jagged、EGFRなどと特異的に結合し得る。

【0036】

また、本明細書では、関連する組成物、キット、核酸、ベクター、及び組換え細胞、ならびに本明細書に記載の標的結合タンパク質のいずれかの使用方法及び産生方法を含む関連する方法も提供される。

【0037】

定義

別途定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術及び科学用語は、本発明が属する当業者により一般に理解されるものと同じ意味を有する。本開示で使用するのための方法及び材料が本明細書に記載されており、当該技術分野で即知の他の好適な方法及び材料も使用され得る。材料、方法、及び例は、例示に過ぎず、限定的であることは意図されない。本明細書で言及される全ての刊行物、特許出願、特許、配列、データベースエントリ、及び他の参考文献は、参照によってその全体が組み込まれる。矛盾する場合には、定義を含めて本明細書が優先する。

【0038】

「a」及び「an」という用語は、冠詞の文法上の目的語のうちの1つ以上（すなわち、少なくとも1つ）を指す。一例として、「細胞（a cell）」は、1つ以上の細胞を包含する。

【0039】

本明細書で使用される場合、「約（about）」及び「およそ（approximately）」という用語は、数値または範囲で指定された量を変更するために使用される場合、その数値ならびに当業者に既知の値からの合理的な逸脱を示す。例えば、±20%、±10%、または±5%は、適切な場合、列挙された値の意図された意味の範囲内である。

【0040】

濃度、量及びその他の数値データは、本明細書において、範囲形式で表されてよい、または示されてよい。かかる範囲形式は便宜上及び簡略性のためだけに使用され、したがって範囲の制限として明示的に列挙された数値だけでなく、あたかも各数値及び部分的な範囲が明示的に列挙されるかのように、その範囲内に包含された全ての個々の数値または部分的な範囲もまた含むと柔軟に解釈されるべきであることを理解されたい。実例として、「約 0.01～2.0」の数値範囲は、約 0.01～約 2.0 という明示的に列挙された値だけでなく、示された範囲内の個々の値及び部分的な範囲もまた含むと解釈されるべきである。したがって、この数値範囲には、0.5、0.7、及び 1.5 などの個別の値、ならびに 0.5～1.7、0.7～1.5、及び 1.0～1.5 などの部分的な範囲が含まれる。さらに、そのような解釈は、範囲の幅または記載されている特性に関係なく適用されるべきである。さらに、特に指定がない限り、全てのパーセンテージは重量であることに留意されたい。

10

【0041】

本開示の範囲を理解する上で、「含む (including)」、または「含む (comprising)」という用語及びそれらの派生形は、本明細書で使用される場合、記載された特徴、要素、構成成分、群、整数及び／または工程の存在を規定するが、その他の記載されていない特徴、要素、構成成分、群、整数及び／または工程の存在を排除しない、オープンエンドの用語であることを意図する。上記は、類似の意味を有する単語、例えば、「含む (including)」、「有する (having)」という用語及びそれらの派生形にも適用される。本明細書で使用される場合、「からなる (consisting)」という用語及びその派生形は、記載される特徴、要素、構成成分、群、整数、及び／または工程の存在を指定するが、他の記載されていない特徴、要素、構成成分、群、整数、及び／または工程の存在を除外する限定的な用語であることを意図する。本明細書で使用される場合、「から本質的になる (consisting essentially of)」という用語は、記載される特徴、要素、構成成分、群、整数、及び／または工程の存在、ならびに特徴、要素、構成成分、群、整数、及び／または工程の基本的かつ新規の特徴（複数可）に実質的に影響を及ぼさないものを指定することを意図する。これらの遷移用語のうちのいずれか 1 つ（すなわち、「含む」、「からなる」、または「から本質的になる」）への言及は、具体的に使用されない他の遷移用語のいずれかに置き換えるための直接的な支持を提供することが理解される。例えば、「含む」から「から本質的になる」または「からなる」という用語への修正は、本開示を通して開示される任意の要素がこのように定義されるために、直接的な支持が見出される。この定義に基づいて、本明細書に開示される、または参照によって組み込まれる任意の要素は、特許請求される発明に含まれてもよく、または除外されてもよい。

20

30

【0042】

本明細書で使用される場合、便宜上、複数の化合物、要素または工程が一般的な一覧において提示されてよい。ただし、これらの一覧は、一覧の各メンバーが別個の一意のメンバーとして個別に識別されるかのように解釈されるべきである。したがって、そのような一覧の個々のメンバーは、反対の表示なしに、共通の群での提示のみに基づいて、同じ一覧の他のメンバーと事実上同等であると解釈されるべきではない。

40

【0043】

「例示的 (exemplary)」という用語は、本明細書では、例、事例、または例示として機能することを意味するように使用される。「例示的」として本明細書に記載される任意の態様または設計は、必ずしも他の態様もしくは設計よりも好ましいまたは有利であると解釈されるべきではない。むしろ、単語の例示的な使用は、より具体的な方法で概念を提示することを意図している。

【0044】

さらに、ある特定の分子、構成体、組成物、要素、部分、賦形剤、疾患、状態、特性、工程などは、本開示の特定の実施形態もしくは態様、または別個の段落もしくはセクションの文脈で考察されてよい。これは、単に便宜性及び簡潔性のためであり、任意のそのよ

50

うな開示は、出願日に本出願及び特許請求の範囲にある発明を形成する、本開示及び特許請求の範囲に見出される任意の他の実施形態または態様に等しく適用可能であり、それらと組み合わせられることを意図していることを理解されたい。例えば、構成体、組成物または方法に関して記載された構成体、分子、方法工程、キット、または組成物の一覧は、本開示の任意のその他の部分に記載される構成体、組成物、配合物及び方法に関連した実施形態の直接的な支持を、それらの方法工程、有効な薬剤、キットまたは組成物が、その実施形態または態様の文脈またはセクションにおいて再列挙されていない場合であっても、見出すことが意図され、直接的な支持を見出す。

【0045】

標的結合タンパク質

本明細書における標的結合タンパク質は、CD3（例えば、CD3イプシロン）と特異的に結合する標的結合ドメインを形成する重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインを含み得る。本明細書のタンパク質によって結合され得る例示的なCD3イプシロン分子は、野生型ヒトCD3イプシロン（配列番号1）である。

【0046】

いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインが、同じポリペプチド内に配置される。ある特定の実施形態では、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインは、1つ以上のリンカーによって一緒に結合される。リンカーは、以下のリンカーのセクションに記載されているペプチドリンカーであり得る。いくつかの例では、一本鎖ポリペプチド中の標的結合ドメインは、scFvであり得る。代替的に、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインは、2つの異なるポリペプチド内に配置される。

【0047】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、複数のポリペプチド（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上のポリペプチド）を含むタンパク質複合体であり得る。いくつかの例では、複数のポリペプチドのうちのいくつかまたは全て（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上のポリペプチド）は、同一であり得る。いくつかの例では、標的結合複合体中の複数のポリペプチドの各々は、他のポリペプチドとは異なる。

【0048】

標的結合ドメインは、抗体もしくはその断片、VHドメイン、VHHドメイン、VNARドメイン、及び一本鎖断片可変（scFv）、BiTEもしくはその構成要素、（scFv）₂、NANOBODY（登録商標）、ナノボディーHSA、VHH-scAb、VHH-Fab、二重scFab、F（ab'）₂、ダイアボディ、CROSSMAB（登録商標）、DAF（2-イン-1）、DAE（4-イン-1）、DUTAMAB（登録商標）、DT-IgG、ノブリンホール共通軽鎖、ノブリンホールアセンブリ、電荷対、Fab-アーム交換、SEEDボディ、LUZ-Y、FcAb、kL-ボディ、直交Fab、DVD-IgG、IgG（H）-scFv、scFv-（H）IgG、IgG（L）-scFv、scFv-（L）IgG、IgG（L、H）-Fv、IgG（H）-V、V（H）-IgG、IgG（L）-V、V（L）-IgG、KIH IgG-scFab、2scFv-IgG、IgG-2scFv、scFv4-Ig、ZYBODY（商標）、DVV-IgG、ダイアボディーCH3、トリプルボディ、ミニ抗体、ミニボディ、TriBiミニボディ、scFv-CH3 KIH、Fab-scFv、F（ab'）₂-scFv₂、

【数3】

scFv-KIH、

Fab-scFv-Fc、四価HCAb、scダイアボディーFc、ダイアボディーFc、タンデムscFv-Fc、VHH-Fc、タンデムVHH-Fc、

【数4】

L^{HH}-Fc KiH、

Fab-VHH-Fc、イントラボディ、ドックアンドロック、ImmTAC（登録商標）（がんに対する免疫動員モノクローナルTCR（T細胞受容体））、IgG-IgGコンジュゲート、Cov-X-ボディ、scFvL-PEG-scFv2、アドネクチン、DARPin（登録商標）、フィブロネクチン、IgG、IgM、IgA、IgE、IgD、DEPコンジュゲート、TMEAボディ（商標）、SAFEボディ（登録商標）、TRITAC（登録商標）、またはSHIELD抗体を含む、様々な異なる構築物のうちのいずれかの中に存在し得る。VHHドメインは、ラクダ科に見出すことができる単一のモノマー可変抗体ドメインである。VNARDドメインは、軟骨魚類に見出すことができる単一のモノマー可変抗体ドメインである。VHHドメイン及びVNARDドメインの非限定的な態様は、例えば、Cromie et al., Curr. Top. Med. Chem. 15:2543-2557, 2016、De Genst et al. Dev. Comp. Immunol. 30:187-198, 2006、De Meyer et al., Trends Biotechnol. 32:263-270, 2014、Kijanka et al., Nanomedicine 10:161-174, 2015、Kovaleva et al., Expert. Opin. Biol. Ther. 14:1527-1539, 2014、Krah et al., Immunopharmacol. Immunotoxicol. 38:21-28, 2016、Mujic-Delic et al., Trends Pharmacol. Sci. 35:247-255, 2014、Muyldermans, J. Biotechnol. 74:277-302, 2001、Muyldermans et al., Trends Biochem. Sci. 26:230-235, 2001、Muyldermans, Ann. Rev. Biochem. 82:775-797, 2013、Rahbarizadeh et al., Immunol. invest. 40:299-338, 2011、Van Audenhove et al., EBioMedicine 8:40-48, 2016、Van Bockstaele et al., Curr. Opin. Invest. Drugs 10:1212-1224, 2009、Vincke et al. Methods Mol. Biol., 911:15-26, 2012、及びWesolowski et al. Med. Microbiol. Immunol. 198:157-174, 2009に記載されており、これらの各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

10

20

30

【0049】

「抗体」という用語は、その最も広い意味で本明細書で使用され、抗原またはエピトープと特異的に結合する1つ以上の標的結合ドメインを含むある特定の種類の免疫グロブリン分子を含む。抗体の例としては、インタクト抗体（例えば、インタクト免疫グロブリン）、抗体断片、二重特異性、及び多重特異性抗体が挙げられる。標的結合ドメインの一例は、V_H-V_L二量体によって形成される。抗体の追加の例は、本明細書に記載される。抗体の追加の例は、当該技術分野において既知である。

40

【0050】

「軽鎖」は、1つの可変ドメイン（V_L）及び1つの定常ドメイン（C_L）を含む。カップまたはラムダと呼ばれる2つの異なる軽鎖が存在する。「重鎖」は、1つの可変ドメイン（V_H）及び3つの定常領域ドメイン（CH1、CH2、CH3）からなる。重鎖には主に5つのクラスまたはアイソタイプがあり、そのうちのいくつかは複数のサブタイプを有し、これらは抗体分子の機能的活性を決定する。免疫グロブリンの5つの主要なクラスは、免疫グロブリンM（IgM）、免疫グロブリンD（IgD）、免疫グロブリンG（IgG）、免疫グロブリンA（IgA）、及び免疫グロブリンE（IgE）である。IgGは群を抜いて最も豊富な免疫グロブリンであり、いくつかのサブクラス（ヒトではIgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4）を有する。

50

【0051】

「断片抗原結合」(Fab)は、重鎖のVHドメイン及びCH1ドメインと対合した完全な軽鎖を含む。F(ab')₂断片は、抗体がヒンジ領域の下でペプシンによって切断される(または他の方法で切断される)場合に形成され、この場合、抗体分子の2つの断片標的結合ドメイン(Fab)は、連結されたままである。F(ab')₂断片は、ヒンジ領域によって一緒に結合された重鎖の2つのVH及びCH1ドメインと対合した2つの完全な軽鎖を含む。「結晶化可能な断片」(Fc)断片(本明細書ではFcドメインとも呼ばれる)は、対合CH2及びCH3ドメインに対応し、エフェクター分子及び細胞と相互作用する抗体分子の一部である。重鎖アイソタイプ間の機能的差異は、主にFc断片にある。「一本鎖断片可変」(scFv)は、ペプチドのストレッチによって重鎖(VH)の可変ドメインと連結された軽鎖(VL)の可変ドメインのみを含む。一本鎖Fvという名前は、断片可変に由来する。「ヒンジ領域」または「ドメイン間」は、Fab断片をFcドメインと結合または連結する可撓性アミノ酸ストレッチである。「合成ヒンジ領域」は、Fab断片をFcドメインと結合または連結するアミノ酸配列である。

10

【0052】

「Fv」断片は、1つの重鎖可変ドメイン及び1つの軽鎖可変ドメインの非共有結合型二量体を含む。「二重可変ドメイン免疫グロブリンG」または「DVD-IgG」は、例えば、DiGiammarino et al., Methods Mol. Biol. 899:145-156, 2012、Jakob et al., MABs 5:358-363, 2013、及び米国特許第7,612,181号、同第8,258,268号、同第8,586,714号、同第8,716,450号、同第8,722,855号、同第8,735,546号、及び同第8,822,645号(これらの各々は、その全体が参照により援用される)に記載されている多価及び多重特異性標的結合タンパク質を指す。DARTの例は、例えば、Garber, Nature Reviews Drug Discovery 13:799-801, 2014に記載されている。

20

【0053】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、マウス、ラット、ウサギ、ヤギ、ラクダ、ロバ、霊長類、キメラ、ヒト、またはヒト化タンパク質であり得る。一例では、標的結合タンパク質は、ヒトタンパク質であり得る。一例では、標的結合タンパク質は、ヒト化(例えば、完全ヒト化)タンパク質であり得る。

30

【0054】

「ヒト化」という用語は、非ヒト種(例えば、マウス)で産生される参照タンパク質由来のVH及びVL領域配列を含むが、参照タンパク質と比較して、それらをより「ヒト様」、すなわち、ヒト生殖細胞系可変配列により類似させることを意図した、それらの配列における修飾も含むアミノ酸配列を有する標的結合タンパク質を指す。いくつかの実施形態では、「ヒト化」標的結合タンパク質は、目的の抗原と免疫特異的に結合し、ヒトタンパク質のアミノ酸配列として実質的にアミノ酸配列を有するフレームワーク(FR)領域、及び非ヒトタンパク質のアミノ酸配列として実質的にアミノ酸配列を有する相補的決定領域(CDR)を有し、ヒト化VH及びVL領域を含むタンパク質である。

【0055】

「ヒトタンパク質」という用語は、ヒト免疫グロブリン配列から生成、組み立て、または誘導される可変領域及び定常領域を有する標的結合タンパク質を含むことを意図している。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、そのアミノ酸配列が、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列によってコードされない残基または要素を、例えば、1つ以上のCDRにおいて含む場合でも(例えば、インビトロでのランダムもしくは部位特異的変異誘発によって、またはインビボでの体細胞変異によって(元々)導入され得る配列バリエーションを含む)、「ヒト」であるとみなされ得る。

40

【0056】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質において、重鎖可変ドメインは、3つの相補性決定領域(CDR)(VH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3)を

50

10

20

30

40

50

R 3 は、H G N F G N S Y V S W W A Y（配列番号 7）を含み得、V L C D R 1 は、R S S T G A V T T S N Y V N（配列番号 1 2）を含み得、V L C D R 2 は、G T N K R A P（配列番号 1 4）を含み得、及び V L C D R 3 は、V L W Y S N R W V（配列番号 1 6）を含み得る。

【0059】

V H C D R 1 の追加の例には、表 9 B の重鎖可変ドメインの 3 1 ～ 3 5 位のアミノ酸の配列が含まれる。V H C D R 2 の追加の例には、表 9 B の重鎖可変ドメインの 5 0 ～ 6 8 位のアミノ酸の配列が含まれる。V H C D R 3 の追加の例には、表 9 B の重鎖可変ドメインの 1 0 1 ～ 1 1 4 位のアミノ酸の配列が含まれる。V L C D R 1 の追加の例には、表 9 B の軽鎖可変ドメインの 2 3 ～ 3 6 位のアミノ酸の配列が含まれる。V H C D R 2 の追加の例には、表 9 B の軽鎖可変ドメインの 5 2 ～ 5 8 位のアミノ酸の配列が含まれる。V H C D R 3 の追加の例には、表 9 B の軽鎖可変ドメインの 9 1 ～ 9 9 位のアミノ酸の配列が含まれる。

10

【0060】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質において、重鎖可変ドメインは、配列番号 2 0 の配列を含み得、軽鎖可変ドメインは、配列番号 2 1 の配列を含み得る。

【0061】

いくつかの例では、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインは、ジスルフィド結合を形成する 1 つ以上のシステインを含み得る。いくつかの例では、ジスルフィド結合は、分子の標的結合を干渉しないが、安定性を改善し得る。例えば、重鎖ドメインは、配列番号 2 4 の配列を含み得、軽鎖ドメインは、配列番号 2 5 の配列を含み得る。いくつかの例では、重鎖及び軽鎖可変ドメインは、かかるシステイン変異を有さない。例えば、重鎖ドメインは、配列番号 2 2 の配列を含み得、軽鎖ドメインは、配列番号 2 3 の配列を含み得る。

20

【0062】

例えば、重鎖可変ドメインは、配列番号 4 6、または 1 2 8 の配列を含み得、軽鎖可変ドメイン内の軽鎖可変ドメインは、配列番号 4 9、6 4、1 1 3、9 8、1 0 7、または 1 2 2 の配列を含み得る。いくつかの例では、重鎖可変ドメインは、配列番号 3 の配列を含む V H C D R 1、配列番号 5 の配列を含む V H C D R 2、及び配列番号 6、7、または 8 の配列を含む V H C D R 3 を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 4 6 または 1 2 8 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % 同一（例えば、少なくとも 8 2 %、少なくとも 8 4 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % 同一）である配列を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 1 0、1 1、1 2、または 1 3 の配列を含む L H C D R 1、配列番号 1 4 の配列を含む L H C D R 2、及び配列番号 1 5、1 6、1 7、または 1 8 の配列を含む L H C D R 3 を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 4 9、6 4、1 1 3、9 8、1 0 7、または 1 2 2 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % 同一（例えば、少なくとも 8 2 %、少なくとも 8 4 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % 同一）である配列を含む。一例では、重鎖可変ドメインは、配列番号 3 の配列を含む V H C D R 1、配列番号 5 の配列を含む V H C D R 2、及び配列番号 6、7、または 8 の配列を含む V H C D R 3 を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 4 6 または 1 2 8 のいずれか 1 つと少なくとも 9 5 % 同一である配列を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 1 0、1 1、1 2、または 1 3 の配列を含む L H C D R 1、配列番号 1 4 の配列を含む L H C D R 2、及び配列番号 1 5、1 6、1 7、または 1 8 の配列を含む L H C D R 3 を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 4 9、6 4、1 1 3、9 8、1 0 7、または 1 2 2 のいずれか 1 つと少なくとも 9 5 % 同一である配列を含む。一例では、重鎖可変ドメインは、配列番号 4 6 の配列を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 4 9 の配列を含む。いくつかの例では、重鎖可変ドメインは、T Y A M N（配列番号 3）を含む V H C D R 1、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D（配列番号 5）を含む V H C D R 2、H G N F G N S Y V S W W

30

40

50

A Y（配列番号 7）を含む V H C D R 3 を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 4 6 と少なくとも 8 0 % 同一（例えば、少なくとも 8 2 %、少なくとも 8 4 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % 同一）である配列を含み、軽鎖可変ドメインは、R S S T G A V T T S N Y P N（配列番号 1 1）を含む V L C D R 1、G T N K R A P（配列番号 1 4）を含む V L C D R 2、及び V L W Y S N R W V（配列番号 1 6）を含む V L C D R 3 を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 4 9 と少なくとも 8 0 % 同一（例えば、少なくとも 8 2 %、少なくとも 8 4 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % 同一）である配列を含む。

10

【0063】

一例では、重鎖可変ドメイン中の重鎖可変ドメインは、T Y A M N（配列番号 3）を含む V H C D R 1、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D（配列番号 5）を含む V H C D R 2、H G N F G N S Y V S W W A Y（配列番号 7）を含む V H C D R 3 を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 4 6 と少なくとも 9 5 % 同一である配列を含み、軽鎖可変ドメインは、R S S T G A V T T S N Y P N（配列番号 1 1）を含む V L C D R 1、G T N K R A P（配列番号 1 4）を含む V L C D R 2、及び V L W Y S N R W V（配列番号 1 6）を含む V L C D R 3 を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 4 9 と少なくとも 9 5 % 同一である配列を含む。

20

【0064】

別の例では、重鎖可変ドメインは、配列番号 4 6 の配列を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 6 4 の配列を含む。いくつかの例では、重鎖可変ドメインは、T Y A M N（配列番号 3）を含む V H C D R 1、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D（配列番号 5）を含む V H C D R 2、H G N F G N S Y V S W W A Y（配列番号 7）を含む V H C D R 3 を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 4 6 と少なくとも 8 0 % 同一（例えば、少なくとも 8 2 %、少なくとも 8 4 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % 同一）である配列を含み、軽鎖可変ドメインは、G S S T G A V T T S N Y V N（配列番号 1 3）を含む V L C D R 1、G T N K R A P（配列番号 1 4）を含む V L C D R 2、及び V L W Y S N R W V（配列番号 1 6）を含む V L C D R 3 を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 6 4 と少なくとも 8 0 % 同一（例えば、少なくとも 8 2 %、少なくとも 8 4 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % 同一）である配列を含む。一例では、重鎖可変ドメインは、T Y A M N（配列番号 3）を含む V H C D R 1、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D（配列番号 5）を含む V H C D R 2、H G N F G N S Y V S W W A Y（配列番号 7）を含む V H C D R 3 を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 4 6 と少なくとも 9 5 % 同一である配列を含み、軽鎖可変ドメインは、G S S T G A V T T S N Y V N（配列番号 1 3）を含む V L C D R 1、G T N K R A P（配列番号 1 4）を含む V L C D R 2、V L W Y S N R W V（配列番号 1 6）を含む V L C D R 3 を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 6 4 と少なくとも 9 5 % 同一である配列を含む。

30

40

【0065】

別の例では、重鎖可変ドメインは、配列番号 4 6 の配列を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 1 1 3 の配列を含む。いくつかの例では、重鎖可変ドメインは、T Y A M N（配列番号 3）を含む V H C D R 1、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D（配列番号 5）を含む V H C D R 2、H G N F G N S Y V S W W A Y（配列番号 7）を含む V H C D R 3 を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 4 6 と少なくとも 8 0 % 同一（例えば、少なくとも 8 2 %、少なくとも 8 4 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 8 %

50

、少なくとも 99%、または 100% 同一) である配列を含み、軽鎖可変ドメインは、R S S T G A V T T S N Y V N (配列番号 12) を含む V L C D R 1、G T N K R A P (配列番号 14) を含む V L C D R 2、及び I L W Y S N R W V (配列番号 18) を含む V L C D R 3 を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 113 と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%、少なくとも 84%、少なくとも 86%、少なくとも 88%、少なくとも 90%、少なくとも 92%、少なくとも 94%、少なくとも 96%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% 同一) である配列を含む。一例では、重鎖可変ドメインは、T Y A M N (配列番号 3) を含む V H C D R 1、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D (配列番号 5) を含む V H C D R 2、H G N F G N S Y V S W W A Y (配列番号 7) を含む V H C D R 3 を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 46 と少なくとも 95% 同一である配列を含み、軽鎖可変ドメインは、R S S T G A V T T S N Y V N (配列番号 12) を含む V L C D R 1、G T N K R A P (配列番号 14) を含む V L C D R 2、及び I L W Y S N R W V (配列番号 18) を含む V L C D R 3 を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 113 と少なくとも 95% 同一である配列を含む。
【0066】

別の例では、重鎖可変ドメインは、配列番号 46 の配列を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 98 の配列を含む。いくつかの例では、重鎖可変ドメインは、T Y A M N (配列番号 3) を含む V H C D R 1、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D (配列番号 5) を含む V H C D R 2、及び H G N F G N S Y V S W W A Y (配列番号 7) を含む V H C D R 3 を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 46 と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%、少なくとも 84%、少なくとも 86%、少なくとも 88%、少なくとも 90%、少なくとも 92%、少なくとも 94%、少なくとも 96%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% 同一) である配列を含み、軽鎖可変ドメインは、G S S T G A V T T S N Y V N (配列番号 13) を含む V L C D R 1、G T N K R A P (配列番号 14) を含む V L C D R 2、及び V L W Y S N L W V (配列番号 17) を含む V L C D R 3 を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 98 と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%、少なくとも 84%、少なくとも 86%、少なくとも 88%、少なくとも 90%、少なくとも 92%、少なくとも 94%、少なくとも 96%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% 同一) である配列を含む。一例では、重鎖可変ドメインは、T Y A M N (配列番号 3) を含む V H C D R 1、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D (配列番号 5) を含む V H C D R 2、及び H G N F G N S Y V S W W A Y (配列番号 7) を含む V H C D R 3 を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 46 と少なくとも 95% 同一である配列を含み、軽鎖可変ドメインは、G S S T G A V T T S N Y V N (配列番号 13) を含む V L C D R 1、G T N K R A P (配列番号 14) を含む V L C D R 2、及び V L W Y S N L W V (配列番号 17) を含む V L C D R 3 を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 98 と少なくとも 95% 同一である配列を含む。
【0067】

別の例では、重鎖可変ドメインは、配列番号 46 の配列を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 107 の配列を含む。いくつかの例では、重鎖可変ドメインは、T Y A M N (配列番号 3) を含む V H C D R 1、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D (配列番号 5) を含む V H C D R 2、H G N F G N S Y V S W W A Y (配列番号 7) を含む V H C D R 3 を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 46 と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%、少なくとも 84%、少なくとも 86%、少なくとも 88%、少なくとも 90%、少なくとも 92%、少なくとも 94%、少なくとも 96%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% 同一) である配列を含み、軽鎖可変ドメインは、R S S T G A V T T S N Y V N (配列番号 12) を含む V L C D R 1、G T N K R A P (配列番号 14) を含む V L C D R 2、及び V L W Y S N R W V (配列番号 16) を含む V L C D R 3 を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 107 と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%、少なくとも 84%、少なくとも 86%、少なくとも 88%、少なくとも 90%、少なくとも 92%、少なくとも 94%、少なくとも 96%、少なくと

も 98%、少なくとも 99%、または 100% 同一) である配列を含む。一例では、重鎖可変ドメインは、TYAMN (配列番号 3) を含む VH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD (配列番号 5) を含む VH CDR2、HGNFGNSYVSWW AY (配列番号 7) を含む VH CDR3 を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 46 と少なくとも 95% 同一である配列を含み、軽鎖可変ドメインは、RSSGTGAVTTSN YVN (配列番号 12) を含む VL CDR1、GTNKRAP (配列番号 14) を含む VL CDR2、及び VLWYSNRWV (配列番号 16) を含む VL CDR3 を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 107 と少なくとも 95% 同一である配列を含む。

【0068】

別の例では、重鎖可変ドメイン中の重鎖可変ドメインは、配列番号 128 の配列を含み得、軽鎖可変ドメイン中の軽鎖可変ドメインは、配列番号 122 の配列を含み得る。いくつかの例では、重鎖可変ドメインは、TYAMN (配列番号 3) を含む VH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD (配列番号 5) を含む VH CDR2、HGNFGNSYVSWFAY (配列番号 8) を含む VH CDR3 を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 128 と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%、少なくとも 84%、少なくとも 86%、少なくとも 88%、少なくとも 90%、少なくとも 92%、少なくとも 94%、少なくとも 96%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% 同一) である配列を含み、軽鎖可変ドメインは、GSSTGAVTTSNYVN (配列番号 13) を含む VL CDR1、GTNKRAP (配列番号 14) を含む VL CDR2、及び VLWYSNRWV (配列番号 16) を含む VL CDR3 を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 122 と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%、少なくとも 84%、少なくとも 86%、少なくとも 88%、少なくとも 90%、少なくとも 92%、少なくとも 94%、少なくとも 96%、少なくとも 98%、もしくは少なくとも 99%、または 100% 同一) である配列を含む。一例では、重鎖可変ドメインは、TYAMN (配列番号 3) を含む VH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD (配列番号 5) を含む VH CDR2、HGNFGNSYVSWFAY (配列番号 8) を含む VH CDR3 を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 128 と少なくとも 95% 同一である配列を含み、軽鎖可変ドメインは、GSSTGAVTTSNYVN (配列番号 13) を含む VL CDR1、GTNKRAP (配列番号 14) を含む VL CDR2、及び VLWYSNRWV (配列番号 16) を含む VL CDR3 を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 122 と少なくとも 95% 同一である配列を含む。

【0069】

重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインのさらなる例には、表 9B のものが含まれる。

【0070】

標的結合タンパク質が一本鎖タンパク質 (例えば、scFv) である場合、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 50、28、114、99、108、または 32 の配列を含み得る。いくつかの例では、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 3 の配列を含む VH CDR1、配列番号 5 の配列を含む VH CDR2、配列番号 6、7、または 8 の配列を含む VH CDR3、配列番号 10、11、12、または 13 の配列を含む LH CDR1、配列番号 14 の配列を含む LH CDR2、及び配列番号 15、16、17、または 18 の配列を含む LH CDR3 を含み、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 50、28、114、99、188、または 32 のうちのいずれか 1 つと少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%、少なくとも 84%、少なくとも 86%、少なくとも 88%、少なくとも 90%、少なくとも 92%、少なくとも 94%、少なくとも 96%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% 同一) である配列を含む。例えば、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 3 の配列を含む VH CDR1、配列番号 5 の配列を含む VH CDR2、配列番号 6、7、または 8 の配列を含む VH CDR3、配列番号 10、11、12、または 13 の配列を含む LH CDR1、配列番号 14 の配列を含む LH CDR2、及び配列番号 15、16、17、または 18 の配列を含む LH CDR3 を含み、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 50、28、114、99、188、

または 3 2 のうちのいずれか 1 つと少なくとも 9 5 % 同一である配列を含む。

【0071】

いくつかの例では、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 5 0 の配列を含み得る。いくつかの例では、一本鎖標的結合タンパク質は、TYAMN（配列番号 3）を含む VH CDR 1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含む VH CDR 2、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号 7）を含む VH CDR 3、RSSTGAVTTSNYPN（配列番号 11）を含む VL CDR 1、GTNKRAP（配列番号 14）を含む VL CDR 2、及び VLWYSNRWV（配列番号 16）を含む VL CDR 3 を含み、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 5 0 と少なくとも 8 0 % 同一（例えば、少なくとも 8 2 %、少なくとも 8 4 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一）である配列を含む。例えば、一本鎖標的結合タンパク質は、TYAMN（配列番号 3）を含む VH CDR 1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含む VH CDR 2、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号 7）を含む VH CDR 3、RSSTGAVTTSNYPN（配列番号 11）を含む VL CDR 1、GTNKRAP（配列番号 14）を含む VL CDR 2、及び VLWYSNRWV（配列番号 16）を含む VL CDR 3 を含み、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 5 0 と少なくとも 9 5 % 同一である配列を含む。

10

【0072】

いくつかの例では、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 2 8 の配列を含み得る。いくつかの例では、一本鎖標的結合タンパク質は、TYAMN（配列番号 3）を含む VH CDR 1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含む VH CDR 2、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号 7）を含む VH CDR 3、GSSTGAVTTSNYVN（配列番号 13）を含む VL CDR 1、GTNKRAP（配列番号 14）を含む VL CDR 2、VLWYSNRWV（配列番号 16）を含む VL CDR 3 を含み、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 2 8 と少なくとも 8 0 % 同一（例えば、少なくとも 8 2 %、少なくとも 8 4 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一）である配列を含む。例えば、一本鎖標的結合タンパク質は、TYAMN（配列番号 3）を含む VH CDR 1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含む VH CDR 2、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号 7）を含む VH CDR 3、GSSTGAVTTSNYVN（配列番号 13）を含む VL CDR 1、GTNKRAP（配列番号 14）を含む VL CDR 2、VLWYSNRWV（配列番号 16）を含む VL CDR 3 を含み、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 2 8 と少なくとも 9 5 % 同一である配列を含む。

20

30

【0073】

いくつかの例では、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 1 1 4 の配列を含み得る。いくつかの例では、一本鎖標的結合タンパク質は、TYAMN（配列番号 3）を含む VH CDR 1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含む VH CDR 2、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号 7）を含む VH CDR 3、RSSTGAVTTSNYVN（配列番号 12）を含む VL CDR 1、GTNKRAP（配列番号 14）を含む VL CDR 2、及び ILWYSNRWV（配列番号 18）を含む VL CDR 3 を含み、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 1 1 4 と少なくとも 8 0 % 同一（例えば、少なくとも 8 2 %、少なくとも 8 4 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一）である配列を含む。例えば、一本鎖標的結合タンパク質は、TYAMN（配列番号 3）を含む VH CDR 1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号 5）を含む VH CDR 2、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号 7）を含む VH CDR 3、RSSTGAVTTSNYVN（配列番号 12）を含む VL CDR 1、GTNKRAP（配列番号 14）を含む VL CDR 2、及び IL

40

50

WY S N R W V (配列番号 18) を含む V L C D R 3 を含み、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 114 と少なくとも 95% 同一である配列を含む。

【0074】

いくつかの例では、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 99 の配列を含み得る。いくつかの例では、一本鎖標的結合タンパク質は、T Y A M N (配列番号 3) を含む V H C D R 1、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D (配列番号 5) を含む V H C D R 2、及び H G N F G N S Y V S W W A Y (配列番号 7) を含む V H C D R 3、G S S T G A V T T S N Y V N (配列番号 13) を含む V L C D R 1、G T N K R A P (配列番号 14) を含む V L C D R 2、及び V L W Y S N L W V (配列番号 17) を含む V L C D R 3 を含み、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 99 と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%、少なくとも 84%、少なくとも 86%、少なくとも 88%、少なくとも 90%、少なくとも 92%、少なくとも 94%、少なくとも 96%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% 同一) である配列を含む。例えば、一本鎖標的結合タンパク質は、T Y A M N (配列番号 3) を含む V H C D R 1、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D (配列番号 5) を含む V H C D R 2、及び H G N F G N S Y V S W W A Y (配列番号 7) を含む V H C D R 3、G S S T G A V T T S N Y V N (配列番号 13) を含む V L C D R 1、G T N K R A P (配列番号 14) を含む V L C D R 2、及び V L W Y S N L W V (配列番号 17) を含む V L C D R 3 を含み、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 99 と少なくとも 95% 同一である配列を含む。

10

【0075】

いくつかの例では、一本鎖標的結合は、配列番号 108 の配列である。いくつかの例では、一本鎖標的結合タンパク質は、T Y A M N (配列番号 3) を含む V H C D R 1、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D (配列番号 5) を含む V H C D R 2、H G N F G N S Y V S W W A Y (配列番号 7) を含む V H C D R 3、R S S T G A V T T S N Y V N (配列番号 12) を含む V L C D R 1、G T N K R A P (配列番号 14) を含む V L C D R 2、及び V L W Y S N R W V (配列番号 16) を含む V L C D R 3 を含み、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 108 と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%、少なくとも 84%、少なくとも 86%、少なくとも 88%、少なくとも 90%、少なくとも 92%、少なくとも 94%、少なくとも 96%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% 同一) である配列を含む。例えば、一本鎖標的結合タンパク質は、T Y A M N (配列番号 3) を含む V H C D R 1、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D (配列番号 5) を含む V H C D R 2、H G N F G N S Y V S W W A Y (配列番号 7) を含む V H C D R 3、R S S T G A V T T S N Y V N (配列番号 12) を含む V L C D R 1、G T N K R A P (配列番号 14) を含む V L C D R 2、及び V L W Y S N R W V (配列番号 16) を含む V L C D R 3 を含み、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 108 と少なくとも 95% 同一である配列を含む。

20

30

【0076】

いくつかの例では、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 32 の配列を含み得る。いくつかの例では、一本鎖標的結合タンパク質は、T Y A M N (配列番号 3) を含む V H C D R 1、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D (配列番号 5) を含む V H C D R 2、H G N F G N S Y V S W F A Y (配列番号 8) を含む V H C D R 3、G S S T G A V T T S N Y V N (配列番号 13) を含む V L C D R 1、G T N K R A P (配列番号 14) を含む V L C D R 2、及び V L W Y S N R W V (配列番号 16) を含む V L C D R 3 を含み、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 32 と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%、少なくとも 84%、少なくとも 86%、少なくとも 88%、少なくとも 90%、少なくとも 92%、少なくとも 94%、少なくとも 96%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% 同一) である配列を含む。例えば、一本鎖標的結合タンパク質は、T Y A M N (配列番号 3) を含む V H C D R 1、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D (配列番号 5) を含む V H C D R 2、H G N F G N S Y V S W F A Y (配列番号 8) を含む V H C D R 3、G S S T G A V T T S N Y V N (配列番号 13) を含

40

50

む V L C D R 1、G T N K R A P（配列番号 14）を含む V L C D R 2、及び V L W Y S N R W V（配列番号 16）を含む V L C D R 3 を含み、一本鎖標的結合タンパク質は、配列番号 32 と少なくとも 95% 同一である配列を含む。

【0077】

一本鎖標的結合タンパク質のさらなる例には、表 9 B に開示されるものが含まれる。

【0078】

標的結合タンパク質は、C D 3（例えば、C D 3 イプシロン）と特異的に結合し得る。本明細書で使用される場合、「特異的結合」及び「特異的に結合する」という用語は、免疫グロブリン分子とその免疫グロブリンが特異的である抗原との間で生じるタイプの非共有結合相互作用を指す。結合相互作用の強度または親和性は、相互作用の解離定数（ K_d または K_D ）の観点から表すことができ、ここで、より小さい K_d は、より高い親和性を表す。結合相互作用の強度または親和性は、会合速度（ K_{on} ）または解離速度（ K_{off} ）の観点から表すことができる。結合相互作用の強度または親和性は、標的結合ドメインとその結合パートナー（例えば、抗原またはエピトープ）との間の非共有結合相互作用の合計の強度を指す。別段の指示がない限り、本明細書で使用される場合、「親和性」は、標的結合ドメインのメンバーと抗原またはエピトープとの間の 1:1 の相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。親和性は、本明細書に記載されるものを含み、当該技術分野において既知の一般的な方法によって測定することができる。親和性は、例えば、表面プラズモン共鳴（SPR）技術（例えば、B I A C O R E（登録商標））またはバイオレイヤー干渉法（例えば、F O R T E B I O（登録商標））を使用して決定することができる。標的結合ドメイン及びその対応する抗原またはエピトープに対する親和性を決定するための追加の方法は、当該技術分野において既知である。

【0079】

本明細書で使用される場合、C D 3 結合タンパク質が C D 3 と「特異的に結合する」という記載は、100 μ M 未満（例えば、5 μ M 未満または 10 μ M 未満）の解離定数（ K_d ）で C D 3 と結合するタンパク質を指す。標的結合タンパク質は、約 0.01 nM ~ 約 500 nM（例えば、約 0.01 nM ~ 約 450 nM、約 0.01 nM ~ 約 400 nM、約 0.01 nM ~ 約 350 nM、約 0.01 nM ~ 約 300、約 0.01 nM ~ 約 250 nM、約 0.01 nM ~ 約 200 nM、約 0.01 nM ~ 約 150 nM、約 0.01 nM ~ 約 100 nM、約 0.01 nM ~ 約 80 nM、約 0.01 nM ~ 約 60 nM、約 0.01 nM ~ 約 50 nM、約 0.01 nM ~ 約 40 nM、約 0.01 nM ~ 約 25 nm、約 0.01 nM ~ 約 20 nM、約 0.01 nM ~ 約 15 nM、約 0.01 nM ~ 約 10 nM、約 0.01 nM ~ 約 8 nM、約 0.01 nM ~ 約 6 nM、約 0.01 nM ~ 約 5 nM、約 0.01 nM ~ 約 4 nM、約 0.01 nM ~ 約 3 nM、約 0.01 nM ~ 約 2 nM、約 0.01 nM ~ 約 1 nM、約 0.01 nM ~ 約 0.8 nM、約 0.01 nM ~ 約 0.6 nM、約 0.01 nM ~ 約 0.4 nM、約 0.01 nM ~ 約 0.2 nM、約 0.01 nM ~ 約 0.1 nM、約 0.01 nM ~ 約 0.05 nM、約 0.05 nM ~ 約 500 nM、約 0.05 nM ~ 約 450 nM、約 0.05 nM ~ 約 400 nM、約 0.05 nM ~ 約 350 nM、約 0.05 nM ~ 約 300、約 0.05 nM ~ 約 250 nM、約 0.05 nM ~ 約 200 nM、約 0.05 nM ~ 約 150 nM、約 0.05 nM ~ 約 100 nM、約 0.05 nM ~ 約 80 nM、約 0.05 nM ~ 約 60 nM、約 0.05 nM ~ 約 50 nM、約 0.05 nM ~ 約 40 nM、約 0.05 nM ~ 約 25 nm、約 0.05 nM ~ 約 20 nM、約 0.05 nM ~ 約 15 nM、約 0.05 nM ~ 約 10 nM、約 0.05 nM ~ 約 8 nM、約 0.05 nM ~ 約 6 nM、約 0.05 nM ~ 約 5 nM、約 0.05 nM ~ 約 4 nM、約 0.05 nM ~ 約 3 nM、約 0.05 nM ~ 約 2 nM、約 0.05 nM ~ 約 1 nM、約 0.05 nM ~ 約 0.8 nM、約 0.05 nM ~ 約 0.6 nM、約 0.05 nM ~ 約 0.4 nM、約 0.05 nM ~ 約 0.2 nM、約 0.05 nM ~ 約 0.1 nM、約 0.1 nM ~ 約 500 nM、約 0.1 nM ~ 約 450 nM、約 0.1 nM ~ 約 400 nM、約 0.1 nM ~ 約 350 nM、約 0.1 nM ~ 約 300、約 0.1 nM ~ 約 250 nM、約 0.1 nM ~ 約 200 nM、約 0.1 nM ~ 約 150 nM、約 0.1 nM ~ 約 100 nM、約 0.

1 nM～約80 nM、約0.1 nM～約60 nM、約0.1 nM～約50 nM、約0.1 nM～約40 nM、約0.1 nM～約25 nm、約0.1 nM～約20 nM、約0.1 nM～約15 nM、約0.1 nM～約10 nM、約0.1 nM～約8 nM、約0.1 nM～約6 nM、約0.1 nM～約5 nM、約0.1 nM～約4 nM、約0.1 nM～約3 nM、約0.1 nM～約2 nM、約0.1 nM～約1 nM、約0.1 nM～約0.8 nM、約0.1 nM～約0.6 nM、約0.1 nM～約0.4 nM、約0.1 nM～約0.2 nM、約0.2 nM～約500 nM、約0.2 nM～約450 nM、約0.2 nM～約400 nM、約0.2 nM～約350 nM、約0.2 nM～約300、約0.2 nM～約250 nM、約0.2 nM～約200 nM、約0.2 nM～約150 nM、約0.2 nM～約100 nM、約0.2 nM～約80 nM、約0.2 nM～約60 nM、約0.2 nM～約50 nM、約0.2 nM～約40 nM、約0.2 nM～約25 nM、約0.2 nM～約20 nM、約0.2 nM～約15 nM、約0.2 nM～約10 nM、約0.2 nM～約8 nM、約0.2 nM～約6 nM、約0.2 nM～約5 nM、約0.2 nM～約4 nM、約0.2 nM～約3 nM、約0.2 nM～約2 nM、約0.2 nM～約1 nM、約0.2 nM～約0.8 nM、約0.2 nM～約0.6 nM、約0.2 nM～約0.4 nM、約0.4 nM～約500 nM、約0.4 nM～約450 nM、約0.4 nM～約400 nM、約0.4 nM～約350 nM、約0.4 nM～約300、約0.4 nM～約250 nM、約0.4 nM～約200 nM、約0.4 nM～約150 nM、約0.4 nM～約100 nM、約0.4 nM～約80 nM、約0.4 nM～約60 nM、約0.4 nM～約50 nM、約0.4 nM～約40 nM、約0.4 nM～約25 nm、約0.4 nM～約20 nM、約0.4 nM～約15 nM、約0.4 nM～約10 nM、約0.4 nM～約8 nM、約0.4 nM～約6 nM、約0.4 nM～約5 nM、約0.4 nM～約4 nM、約0.4 nM～約3 nM、約0.4 nM～約2 nM、約0.4 nM～約1 nM、約0.4 nM～約0.8 nM、約0.4 nM～約0.6 nM、約0.5 nM～約500 nM、約0.5 nM～約450 nM、約0.5 nM～約400 nM、約0.5 nM～約350 nM、約0.5 nM～約300、約0.5 nM～約250 nM、約0.5 nM～約200 nM、約0.5 nM～約150 nM、約0.5 nM～約100 nM、約0.5 nM～約80 nM、約0.5 nM～約60 nM、約0.5 nM～約50 nM、約0.5 nM～約40 nM、約0.5 nM～約25 nm、約0.5 nM～約20 nM、約0.5 nM～約15 nM、約0.5 nM～約10 nM、約0.5 nM～約8 nM、約0.5 nM～約6 nM、約0.5 nM～約5 nM、約0.5 nM～約4 nM、約0.5 nM～約3 nM、約0.5 nM～約2 nM、約0.5 nM～約1 nM、約0.5 nM～約0.8 nM、約0.5 nM～約0.6 nM、約0.6 nM～約500 nM、約0.6 nM～約450 nM、約0.6 nM～約400 nM、約0.6 nM～約350 nM、約0.6 nM～約300、約0.6 nM～約250 nM、約0.6 nM～約200 nM、約0.6 nM～約150 nM、約0.6 nM～約100 nM、約0.6 nM～約80 nM、約0.6 nM～約60 nM、約0.6 nM～約50 nM、約0.6 nM～約40 nM、約0.6 nM～約25 nM、約0.6 nM～約20 nM、約0.6 nM～約15 nM、約0.6 nM～約10 nM、約0.6 nM～約8 nM、約0.6 nM～約6 nM、約0.6 nM～約5 nM、約0.6 nM～約4 nM、約0.6 nM～約3 nM、約0.6 nM～約2 nM、約0.6 nM～約1 nM、約0.6 nM～約0.8 nM、約1 nM～約500 nM、約1 nM～約450 nM、約1 nM～約400 nM、約1 nM～約350 nM、約1 nM～約300、約1 nM～約250 nM、約1 nM～約200 nM、約1 nM～約150 nM、約1 nM～約100 nM、約1 nM～約80 nM、約1 nM～約60 nM、約1 nM～約50 nM、約1 nM～約40 nM、約1 nM～約25 nm、約1 nM～約20 nM、約1 nM～約15 nM、約1 nM～約10 nM、約1 nM～約8 nM、約1 nM～約6 nM、約1 nM～約5 nM、約1 nM～約4 nM、約1 nM～約3 nM、約1 nM～約2 nM、約2 nM～約500 nM、約2 nM～約450 nM、約2 nM～約400 nM、約2 nM～約350 nM、約2 nM～約300、約2 nM～約250 nM、約2 nM～約200 nM、約2 nM～約150 nM、約2 nM～約100 nM、約2 nM～約80 nM、約2 nM～約60 nM、約2 nM～約50 nM、約2 nM～約

10

20

30

40

50

40 nM、約2 nM～約25 nM、約2 nM～約20 nM、約2 nM～約15 nM、約2 nM～約10 nM、約2 nM～約8 nM、約2 nM～約6 nM、約2 nM～約5 nM、約2 nM～約4 nM、約2 nM～約3 nM、約5 nM～約500 nM、約5 nM～約450 nM、約5 nM～約400 nM、約5 nM～約350 nM、約5 nM～約300、約5 nM～約250 nM、約5 nM～約200 nM、約5 nM～約150 nM、約5 nM～約100 nM、約5 nM～約80 nM、約5 nM～約60 nM、約5 nM～約50 nM、約5 nM～約40 nM、約5 nM～約25 nM、約5 nM～約20 nM、約5 nM～約15 nM、約5 nM～約10 nM、約5 nM～約8 nM、約5 nM～約6 nM、約10 nM～約500 nM、約10 nM～約450 nM、約10 nM～約400 nM、約10 nM～約350 nM、約10 nM～約300、約10 nM～約250 nM、約10 nM～約200 nM、約10 nM～約150 nM、約10 nM～約100 nM、約10 nM～約80 nM、約10 nM～約60 nM、約10 nM～約50 nM、約10 nM～約40 nM、約10 nM～約25 nM、約10 nM～約20 nM、約10 nM～約15 nM、約20 nM～約500 nM、約20 nM～約450 nM、約20 nM～約400 nM、約20 nM～約350 nM、約20 nM～約300、約20 nM～約250 nM、約20 nM～約200 nM、約20 nM～約150 nM、約20 nM～約100 nM、約20 nM～約80 nM、約20 nM～約60 nM、約20 nM～約50 nM、約20 nM～約40 nM、約50 nM～約500 nM、約50 nM～約450 nM、約50 nM～約400 nM、約50 nM～約350 nM、約50 nM～約300、約50 nM～約250 nM、約50 nM～約200 nM、約50 nM～約150 nM、約50 nM～約100 nM、約50 nM～約80 nM、約100 nM～約500 nM、約100 nM～約450 nM、約100 nM～約400 nM、約100 nM～約350 nM、約100 nM～約300、約100 nM～約250 nM、約100 nM～約200 nM、約100 nM～約150 nM、約250 nM～約500 nM、約250 nM～約450 nM、約250 nM～約400 nM、約250 nM～約350 nM、約250 nM～約300、約400 nM～約500 nM、または約400 nM～約450 nM)のK_dでCD3と特異的に結合し得る。

10

20

30

40

50

【0080】

リンカー

標的結合タンパク質は、1つ以上のリンカーを含み得る。リンカーは、2つの構成成分（例えば、重鎖可変ドメインと軽鎖可変ドメインとの間、標的結合ドメインと切断可能な部分との間、標的結合ドメインとマスキング部分との間、マスキング部分と切断可能な部分との間、または半減期延長部分と標的結合タンパク質中の別の構成成分との間を連結するアミノ酸配列のストレッチを含み得る。リンカーは、任意のプロテアーゼによって切断することができない、またはヒトに天然に存在する任意のプロテアーゼによって切断することができない可能性がある。いくつかの実施形態では、リンカー（複数可）は、可撓性リンカーであり得、これを標的結合タンパク質に導入して、ドメイン間、部分間、部分とドメインとの間の1つ以上の接合部、またはリンカーが有益である任意の他の接合部で可撓性を提供し得る。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質が立体構造的に制約された構築物として提供される場合、構造の形成及び維持を容易にするためにリンカーが挿入され得る。

【0081】

本明細書に記載のリンカーのいずれも、標的の結合の阻害を促進する、またはプロテアーゼによる切断可能な部分の切断を促進するために、所望の可撓性を提供し得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、可撓性リンカー、及び所望の標的結合タンパク質を提供するために可撓性の低い構造を付与する1つ以上の部分を含むことができるように、全てまたは部分的に可撓性であり得る。一部のリンカーはシステイン残基を含有してもよく、このシステイン残基は、ジスルフィド結合を形成し、構成体の可撓性を低減させてよい。

【0082】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質がマスキング部分を含む場合、マスキング部分と結合したリンカーは、マスキング部分が標的結合タンパク質中の標的結合ドメイ

ンをマスクすることを可能にするタンパク質中の標的結合ドメインを効果的にマスクするために、マスキング部分が三次または四次構造中の位置にあることを可能にする長さを有し得る。例えば、三次または四次構造では、マスキング部分は、マスクされる標的結合ドメインに近接し得る。

【0083】

ほとんどの場合、リンカーの長さは、前の構成成分のC末端アミノ酸に隣接するリンカーのN末端から、次の構成成分のN末端アミノ酸に隣接するリンカーのC末端まで（すなわち、リンカーの長さが、前の構成成分のC末端アミノ酸または次の構成成分のN末端アミノ酸のいずれも含まない）のアミノ酸の数をNからC方向にカウントすることによって決定することができる。

【0084】

いくつかの実施形態では、リンカーは、合計1～50、1～40、1～30、1～25（例えば、1～24、1～22、1～20、1～18、1～16、1～15、1～14、1～12、1～10、1～8、1～6、1～5、1～4、1～3、1～2、2～25、2～24、2～22、2～20、2～18、2～16、2～15、2～14、2～12、2～10、2～8、2～6、2～5、2～4、2～3、4～25、4～24、4～22、4～20、4～18、4～16、4～15、4～14、4～12、4～10、4～8、4～6、4～5、5～25、5～24、5～22、5～20、5～18、5～16、5～15、5～14、5～12、5～10、5～8、5～6、6～25、6～24、6～22、6～20、6～18、6～16、6～15、6～14、6～12、6～10、6～8、8～25、8～24、8～22、8～20、8～18、8～16、8～15、8～14、8～12、8～10、10～25、10～24、10～22、10～20、10～18、10～16、10～15、10～14、10～12、12～25、12～24、12～22、12～20、12～18、12～16、12～15、12～14、14～25、14～24、14～22、14～20、14～18、14～16、14～15、15～25、15～24、15～22、15～20、15～18、15～16、16～25、16～24、16～22、16～20、16～18、18～25、18～24、18～22、18～20、20～25、20～24、20～22、22～25、22～24、または24～25個のアミノ酸）を含み得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、合計1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25個のアミノ酸を含み得る。

【0085】

いくつかの実施形態では、リンカーは、グリシン（GlyまたはG）残基が豊富であり得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、セリン（SerまたはS）残基が豊富であり得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、グリシン及びセリン残基が豊富であり得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、1つ以上のグリシン-セリン残基対（GS）（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10、またはそれ以上のGS対）を有し得る。

【0086】

いくつかの実施形態では、リンカーは、1つ以上のGly-Gly-Gly-Ser（GGGS）配列（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10、またはそれ以上のGGGS配列）を有し得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、1つ以上のGly-Gly-Gly-Gly-Ser（GGGGS）配列（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10、またはそれ以上のGGGGS配列）を有し得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、1つ以上のGly-Gly-Ser-Gly（GGS G）配列（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10、またはそれ以上のGGS G配列）を有し得る。リンカーの例としては、グリシンポリマー（G）_n、グリシン-セリンポリマー（例えば、（GS）_n、（GGS）_n、（GSGGS）_n、及び（GGGS）_nを含み、ここで、nは、少なくとも1つの整数である）、グリシン-アラニンポリマー、アラニン-セリンポリマー、及び当該技術分野で既知である他の可

10

20

30

40

50

撓性リンカーが挙げられ得る。グリシン及びグリシンセリンポリマーは、比較的非構造的であり得、したがって、構成成分間の中性結合として機能し得る。グリシンは、アラニンよりもはるかに多くの ϕ - ψ 空間にアクセスし、より長い側鎖を有する残基よりもはるかに制限が少ない (Schera et al., Rev. Computational Chem. 11:173-142 (1992)) を参照されたい)。例示的な可撓性リンカーには、GSGG、GSGGG (配列番号 667)、GSGGG (配列番号 668)、GSGGG (配列番号 669)、GGGG (配列番号 670)、GSSSG (配列番号 671)、GSSSGSGSGGG (配列番号 672)、GGGS (配列番号 673)、GGGSGGGG (配列番号 674)、GGGSGGGSGGGG (配列番号 675)、GGGSGGGGGSGGGG (配列番号 676)、GGGGSGGGGGSGGGGSGGGG (配列番号 677)、GGGGSGGGGGSGGGGSGGGGSGGGG (配列番号 678)、GGGGSGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG (配列番号 679)、GS、GGGGSGGS (配列番号 680)、GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGS (配列番号 681)、GGS LDPKGGGGS (配列番号 682)、PKSCDKTHTCPPCPAPELLG (配列番号 683)、SKYGPCCPCPAPEFLG (配列番号 684)、GKSSSGSGSESKS (配列番号 685)、GSTSGSGKSSSEGKG (配列番号 686)、GSTSGSGKSSSEGSGSGSTKG (配列番号 687)、GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号 688)、及び GSTSGSGKPGSSSEGST (配列番号 689)、もしくは GSTSGSGKPGSSSEGST (配列番号 690) のうちの 1 つ、または 1 つ以上の組み合わせが含まれる。

10

20

30

40

50

【0087】

リンカーの例は、本明細書に記載の例示的なリンカーと少なくとも 70% 同一 (例えば、少なくとも 72%、少なくとも 74%、少なくとも 75%、少なくとも 76%、少なくとも 78%、少なくとも 80%、少なくとも 82%、少なくとも 84%、少なくとも 85%、少なくとも 86%、少なくとも 88%、少なくとも 90%、少なくとも 92%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% 同一) である配列をさらに含み得る。当業者は、設計に全部または部分的に可撓性なリンカーを含めることができ、その結果、リンカーには可撓性リンカーだけでなく、望ましい標的結合タンパク質構造を提供するために可撓性の低い構造を付与する 1 つ以上の部分を含めることができることを認識するであろう。

【0088】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 個のリンカー (複数可) (例えば、本明細書に記載されるかまたは当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のいずれかと同じまたは異なるリンカー配列) を含み得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、スルホ-SIAB (スルホスクシンイミジル (4-ヨードアセチル) アミノベンゾエート)、SMPB (スクシンイミジル 4-(N-マレイミドフェニル) ブチレート)、及びスルホ-SMPB (スルホスクシンイミジル 4-(N-マレイミドフェニル) ブチレート) を含むがこれらに限定されない非アミノ酸系リンカーを含み得、リンカーは、一級アミンのスルフヒドリルと反応する。

【0089】

半減期延長部分 (EM)

標的結合タンパク質は、半減期延長部分 (EM) をさらに含み得る。いくつかの例では、半減期延長部分は、血清半減期延長部分であり得、すなわち、EM と結合した分子の血清半減期を延長することができる。

【0090】

いくつかの例では、EM は、抗体の断片結晶化可能領域 (Fc ドメイン) を含み得る。例えば、EM は、IgG (例えば、IgG1、IgG2、IgG3、または IgG4) の Fc ドメインであり得る。いくつかの例では、EM は、2 つの Fc ドメインによって形成される二量体を含み得る。Fc ドメインは、野生型ペプチドまたは変異体であり得る。例えば、EM は、2 つの Fc ドメイン変異体によって形成される二量体を含み得る。そのよ

うな場合、2つのFcドメイン変異体は、Fcドメインホール変異体及びFcドメインノブ変異体であり得る。ノブ及びホール変異体は、2つのFcドメインの二量体化を促進するために、互いに相互作用し得る。いくつかの実施形態では、ノブ及びホール変異体は、2つのFcドメイン間の境界面内に（例えば、CH3ドメインに）、1つ以上のアミノ酸修飾を含み得る。一例では、修飾は、一方のIgG Fcドメインにアミノ酸置換T366W、及び任意にアミノ酸置換S354C、ならびに他方のIgG Fcドメインにアミノ酸置換T366S、L368A、Y407V、及び任意にY349C（EU番号付けシステムによる番号付け）を含む。Fc変異体の例には、配列番号26～27も含まれる。

【0091】

Fcドメイン変異体の例には、米国特許第7,695,936号（全体が参照により本明細書に組み込まれる）に記載されているものも含まれる。一例では、修飾は、一方のIgG Fcドメインにアミノ酸置換T366Y、他方のIgG Fcドメインにアミノ酸置換Y407Tを含む。一例では、修飾は、一方のIgG Fcドメインにアミノ酸置換T366W、他方のIgG Fcドメインにアミノ酸置換Y407Aを含む。一例では、修飾は、一方のIgG Fcドメインにアミノ酸置換F405A、他方のIgG Fcドメインにアミノ酸置換T394Wを含む。一例では、修飾は、一方のIgG Fcドメインにアミノ酸置換T366Y及びF405A、他方のIgG Fcドメインにアミノ酸置換T394W及びY407Tを含む。一例では、修飾は、一方のIgG Fcドメインにアミノ酸置換T366W及びF405W、他方のIgG Fcドメインにアミノ酸置換T394S及びY407Aを含む。一例では、修飾は、一方のIgG Fcドメインにアミノ酸置換F405W及びY407A、他方のIgG Fcドメインにアミノ酸置換T366W及びT394Sを含む。一例では、修飾は、一方のIgG Fcドメインにアミノ酸置換F405W、他方のIgG Fcドメインにアミノ酸置換T394Sを含む。Fcドメイン中の変異位置は、EU番号付けシステムに従って番号付けされる。IgG Fcドメインは、配列番号34～37（IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4）の配列を含み得る。これらの配列では、アミノ酸1～107は、EU番号341～447に対応する。

【0092】

いくつかの例では、Fcドメイン変異体は、低減されたエフェクター機能を有し得る。そのようなFcドメインの例には、US20190135943（全体が参照により本明細書に組み込まれる）に開示されているものが含まれる。Fcドメインのさらなる例には、配列番号38～42が含まれる。

【0093】

EMのさらなる例には、免疫グロブリン（例えば、IgG）、血清アルブミン（例えば、ヒト血清アルブミン（HSA）、ヘキサ－ハットGST（グルタチオンS－トランスフェラーゼ）グルタチオン親和性、カルモジュリン結合ペプチド（CBP）、Streptag、セルロース結合ドメイン、マルトース結合タンパク質、S－ペプチドタグ、キチン結合タグ、免疫反応性エピトープ、エピトープタグ、E2タグ、HAエピトープタグ、Mycエピトープ、FLAGエピトープ、AU1及びAU5エピトープ、Glu－Gluエピトープ、KT3エピトープ、IRSエピトープ、Bタグエピトープ、プロテインキナーゼ－Cエピトープ、及びVSVエピトープが含まれる。

【0094】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質の血清半減期は、参照タンパク質（例えば、半減期延長部分を有しない実質的に同じ標的結合タンパク質）の血清半減期よりも長くてもよく、例えば、標的結合タンパク質のpKは、参照タンパク質のpKよりも長い。いくつかの例では、EMを有する標的結合タンパク質は、同じであるがEMを有さない参照標的結合タンパク質の血清半減期よりも少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、2倍、4倍、6倍、8倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍長い血清半減期を有し得る。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質の血清半減期は、生物に投与さ

れた場合、少なくとも15日、12日、11日、10日、9日、8日、7日、6日、5日、4日、3日、2日、1日、20時間、18時間、16時間、14時間、12時間、10時間、8時間、6時間、4時間、3時間、2時間、または1時間であり得る。

【0095】

追加の標的結合ドメイン

標的結合タンパク質は、本明細書に記載のCD3結合ドメインに加えて、1つ以上の標的結合ドメインを含み得る。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、追加の軽鎖可変ドメイン及び追加の重鎖可変ドメインを含み得る。追加の軽鎖可変ドメイン及び追加の重鎖可変ドメインは、追加の標的結合ドメインを形成し得る。いくつかの例では、CD3結合ドメイン及び追加の標的結合ドメインは、同一であり得る。いくつかの例では、CD3結合ドメイン及び追加の標的結合ドメインは、互いに異なってもよい（例えば、同じまたは異なる抗原またはエピトープと特異的に結合し得る）。

10

【0096】

いくつかの実施形態では、CD3結合ドメイン及び追加の標的結合ドメインは、両方がFv断片であり得るか、または少なくとも1つがFv断片であり得る。いくつかの実施形態では、CD3結合ドメイン及び追加の標的結合ドメインは、両方がFab断片であり得るか、または少なくとも1つがFab断片であり得る。いくつかの実施形態では、CD3結合ドメイン及び追加の標的結合ドメインは、Fab'断片であり得るか、または少なくとも1つがFab'断片であり得る。

【0097】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、多重特異性（例えば、二重特異性、三重特異性、四重特異性、及び他の多重特異性標的結合タンパク質）であり得、例えば、CD3及び1つ以上の追加の標的と結合し得る。いくつかの実施形態では、多重特異性標的結合タンパク質は、多価であり得、例えば、結合部位が同じ標的を認識するか異なる標的を認識するかにかかわらず、複数の標的結合部位を含む。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、二重特異性であり得る。「二重特異性」という用語は、標的結合タンパク質が2つの異なる標的と特異的に結合することができることを意味する。典型的には、二重特異性標的結合タンパク質は、2つの標的結合ドメインを含み、これらの各々は、異なる標的と特異的に結合することができる。いくつかの実施形態では、二重特異性標的結合タンパク質は、2つの標的、例えば、2つの異なる細胞上に発現される2つの標的タンパク質と同時に結合することができる。

20

30

【0098】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、CD3結合ドメイン、及び疾患に関連する細胞（例えば、腫瘍細胞）の表面上の分子と結合することができる追加の標的結合ドメインを含み得る。そのような標的結合タンパク質は、免疫細胞（例えば、T細胞）、及び疾患に関連する細胞（例えば、腫瘍細胞）と同時に結合し、したがって、免疫細胞を活性化し、活性化された免疫細胞を疾患に関連する細胞に架橋し得る。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、キメラ抗原受容体（CAR）、T細胞係合抗体（例えば、T細胞係合二重特異性抗体）、プロ二重特異性T細胞係合（プロ-BITE）分子、プロキメラ抗原受容体（プロ-CAR）修飾T細胞、または他の操作された受容体もしくは他の免疫エフェクター細胞、例えば、CAR修飾NK細胞の一部として製剤化され得る。

40

【0099】

いくつかの例では、標的結合タンパク質は、CD3結合ドメイン、及び本明細書に記載の追加の標的結合ドメインを含む、一価二重特異性抗体であり得る。本明細書で 사용되는場合、「一価二重特異性抗体」という用語は、1つの抗原結合ドメインのみが特定の標的に向けて指向する二重特異性抗体を指す。本発明者らは、驚くべきことに、本明細書に記載のある特定のCD3結合ドメインが、CD3と特異的に結合する一価二重特異性抗体（例えば、抗CD3 scFv）を含む、一価CD3結合タンパク質の状況下において、改善された安定性、製造性、及び／またはCD3結合親和性を示すことを発見した。

【0100】

50

追加の標的結合ドメインの標的は、タンパク質または他の種類の分子、例えば、細胞表面受容体、及び分泌結合タンパク質（例えば、成長因子）、可溶性酵素、構造タンパク質（例えば、コラーゲン、フィブロネクチン）などであり得る。

【0101】

いくつかの例では、追加の標的結合ドメインは、疾患に関連する細胞上または細胞内の分子である標的と結合し得る。例えば、追加の標的結合ドメインは、腫瘍細胞と結合し得る。そのような場合、追加の標的結合ドメインは、腫瘍関連抗原と結合し得る。本明細書で使用される場合、「腫瘍関連抗原」という用語は、がんに関連するタンパク質、糖タンパク質、ガングリオシド、炭水化物、脂質を含む任意の抗原を指す。そのような抗原は、腫瘍細胞（例えば、悪性細胞）上、または腫瘍関連血管、細胞外マトリックス、間葉系間質、もしくは免疫浸潤物などの腫瘍微小環境中で発現され得る。いくつかの実施形態では、腫瘍関連抗原は、ヒト上皮成長因子受容体2（HER2）であり得る。例えば、追加の標的結合ドメインは、トラスツズマブまたはその断片であり得る。別の例では、追加の標的結合ドメインは、ペルツズマブまたはその断片であり得る。

10

【0102】

活性化可能な標的結合タンパク質

一態様では、本明細書の標的結合タンパク質は、活性化可能な標的結合タンパク質を含む。一般に、活性化可能な標的結合タンパク質は、プロドメインを含み得、これは、標的結合タンパク質と結合したときに、標的結合タンパク質による標的結合を阻害するように機能し、プロテアーゼ切断可能な基質を形成するアミノ酸配列を含む、ポリペプチドを指す。標的結合を阻害するプロドメインの部分は、マスキング部分（MM）と呼ばれ、プロテアーゼ切断可能な基質であるアミノ酸配列は、切断可能な部分（CM）と呼ばれる。プロドメインは、MMとCMとの間、及び／またはプロドメインの末端（例えば、プロドメインの標的結合タンパク質との結合を容易にするためのカルボキシル及び／またはアミノ末端）にリンカー（L）を含み得る。ある特定の実施形態では、プロドメインは、以下の式（N末端からC末端方向のアミノ酸配列を表す）：MM-CM、MM-L-CM、MM-CM-L、MM-L-CM-L、CM-MM、CM-L-MM、L-CM-MM、またはL-CM-L-MM（式中、各「-」は、直接的または間接的な（例えば、リンカーを介する）結合を表す）のうちの1つを含み得る。

20

【0103】

本明細書で使用される場合、「活性化可能な標的結合タンパク質」という用語は、その不活性（切断されないまたは天然）状態の標的結合タンパク質を指す。いくつかの実施形態では、切断された活性化可能な標的結合タンパク質が、標的結合ドメインとその標的との間の結合を低減、阻害、または干渉しないMMと接続され得ることは、当業者には明らかであろう。いくつかの実施形態では、切断された活性化可能な標的結合タンパク質は、CMの切断（例えば、プロテアーゼによる）に起因してMMを欠き、MMの放出をもたらし得る。本明細書で使用される場合、「切断状態」または「活性状態」という用語は、少なくとも1つのプロテアーゼによるCMの切断後の活性化可能な標的結合タンパク質の状態を指す。「非切断状態」または「不活性状態」という用語は、プロテアーゼによるCMの切断の非存在下における活性化可能な標的結合タンパク質の状態を指す。

30

40

【0104】

活性化可能とは、活性化可能な標的結合タンパク質が、阻害された、マスクされた、または非切断状態（すなわち、第1の立体構造）にあるとき、標的との第1のレベルの結合を示し、阻害されていない、マスクされていない、及び／または切断されている状態（すなわち、第2の立体構造）で、標的との第2のレベルの結合を示し、第2のレベルの標的結合が第1のレベルの結合よりも大きいことを意味する。一般に、活性化可能な標的結合タンパク質の標的結合ドメインへの標的のアクセスは、CMを切断することができる切断因子、すなわち、プロテアーゼの存在下では、そのような切断因子の非存在下よりも大きい。したがって、活性化可能な標的結合タンパク質が非切断状態にある場合、標的結合ドメインは標的結合から阻害され、標的結合からマスクされ得（すなわち、第1の立体構造

50

は、標的結合ドメインが標的と結合することができないか、または標的と結合することを阻害されるようなものである）、切断された状態では、標的結合ドメインは阻害されないか、または標的結合に対してマスクされない。

【0105】

いくつかの実施形態では、活性化可能な標的結合タンパク質は、目的の標的結合ドメインを選択し、活性化可能な標的結合タンパク質の残りの部分を構築することによって設計され得、その結果、立体構造的に制約された場合、MMは、標的結合ドメインのマスキングまたはその標的との標的結合ドメインの結合の低減をもたらす。この機能的特徴を提供するために、構造設計基準を考慮に入れることができる。

【0106】

本明細書の活性化可能な標的結合タンパク質は、阻害された立体構造と阻害されていない立体構造とで、標的結合に関して所望のダイナミックレンジの活性化可能な表現型を示すことができる。ダイナミックレンジは、概して、（a）第1の条件セットの下でのパラメータの最大検出レベルの、（b）第2の条件セットの下でのそのパラメータの最小検出値に対する比率を指す。例えば、活性化可能な標的結合タンパク質の状況下において、ダイナミックレンジは、（a）活性化可能な標的結合タンパク質におけるCMを切断することができるプロテアーゼの存在下で活性化可能な標的結合タンパク質に結合する標的タンパク質の最大検出レベルの、（b）プロテアーゼの非存在下で活性化可能な標的結合タンパク質に結合する標的タンパク質の最小検出レベルに対する比率を指す。活性化可能な標的結合タンパク質のダイナミックレンジは、活性化可能な標的結合タンパク質切断因子（例えば、酵素）処理の解離定数の、活性化可能な標的結合タンパク質切断因子処理の解離定数に対する比率として計算することができる。活性化可能な標的結合タンパク質のダイナミックレンジが大きいほど、活性化可能な標的結合タンパク質の活性化可能な表現型は良好になる。比較的高いダイナミックレンジ値（例えば、1より大きい）を有する活性化可能な標的結合タンパク質は、活性化可能な標的結合タンパク質による標的タンパク質の結合が、切断因子の非存在下よりも、活性化可能な標的結合タンパク質のCMを切断することができる切断因子（例えば、酵素）の存在下でより大きな程度に生じる（例えば、優勢に生じる）ように、より望ましい活性化可能な表現型を示す。

【0107】

本明細書における活性化可能な標的結合タンパク質は、標的結合ドメイン（TB）、その標的（複数可）との標的結合ドメインの結合を低減、阻害、または干渉する1つ以上のマスキング部分（MM）、1つ以上のMMをTBと結合する1つ以上の切断可能な部分（CM）、及び任意に1つ以上の半減期延長部分（EM）を含み得る。いくつかの実施形態では、活性化可能な標的結合タンパク質は、CD3と特異的に結合するTB、ならびにTB及びCD3の結合を阻害するマスキング部分（MM）を含み得、MMは、切断可能な部分（CM）を介して（直接的または間接的に、例えば、1つ以上のリンカーを介して）TBと結合する。本明細書で使用される場合、別途記載されない限り、「結合された」活性化可能な標的結合タンパク質の構成成分は、直接的な共有結合または間接的な共有結合のいずれかを介して、例えば、1つ以上の結合ペプチド（「リンカー」とも呼ばれる）、切断可能な部分、または活性化可能なタンパク質の他の構成成分を介して結合され得る。

【0108】

いくつかの実施形態では、活性化可能な標的結合タンパク質は、1つを超える標的結合ドメイン（TB）を含み得る。例えば、活性化可能な標的結合タンパク質は、CD3と特異的に結合する第1のTB、TB1及びCD3の結合を阻害する第1のMM（MM1）であって、第1の切断可能な部分（CM1）を介して（直接的または間接的に、例えば、1つ以上のリンカーを介して）TB1と結合する、MM1、第2の標的と特異的に結合する第2の標的結合ドメイン（TB2）、TB2及び第2の標的の結合を阻害する第2のマスキング部分（MM2）であって、第2の切断可能な部分（CM2）を介して（直接的または間接的に、例えば、1つ以上のリンカーを介して）TB2と結合する、MM2を含み得る。活性化可能な標的結合タンパク質は、半減期延長部分（EM）をさらに含み得る。一

10

20

30

40

50

例では、活性化可能な標的結合タンパク質は、T B 1を含む s c F vを含む。

【0109】

マスキング部分 (M M)

本明細書の活性化可能な標的結合タンパク質は、T Bの標的との結合を干渉することができる1つ以上のマスキング部分 (M M)を含み得る。活性化可能な分子中のマスキング部分 (まだ活性化されていない)は、その標的との標的結合ドメインの結合を「マスク」するか、もしくは減少させるか、またはさもなければ阻害する。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質のM Mとの結合または修飾は、当該技術分野で既知の阻害手段 (例えば、構造変化及び抗原結合ドメインに対する競合)によって、その標的と特異的に結合するタンパク質の能力を阻害し得る。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質のM Mとの結合または修飾は、その標的と特異的に結合するタンパク質の能力を低減または阻害する構造変化をもたらし得る。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質のM Mとの結合または修飾は、その標的と特異的に結合する抗原結合ドメインの能力を立体的に遮断、低減、または阻害する。

10

【0110】

M Mは、C M、及び任意に本明細書に記載される1つ以上のリンカーによってT Bと結合され得る。いくつかの実施形態では、活性化可能な標的結合タンパク質が活性化されない場合、M Mは、T Bの標的結合を防止するが、活性化可能な標的結合タンパク質が活性化される場合 (C Mがプロテアーゼによって切断される場合)、M Mは、T Bの標的との結合を実質的にまたは著しく干渉しない。

20

【0111】

活性化可能な標的結合タンパク質において、T Bの標的結合を干渉するM Mが、T Bと結合され得る (直接的または間接的に、例えば、1つ以上のリンカーを介して)。代替的に、T Bの標的結合を干渉するM Mは、T Bではない活性化可能な標的結合タンパク質の構成成分と直接的または間接的に結合され得る。例えば、M Mは、異なるT Bと直接的または間接的に結合され得る。別の例では、M Mは、E Mと直接的または間接的に結合され得る。いずれの場合も、活性化可能な構造の三次または四次構造では、M Mは、M MがT Bをマスクすることを可能にする位置 (例えば、マスクされるT Bの近位)にあり得る。

【0112】

いくつかの実施形態では、M Mは、T Bと相互作用し、したがって、T Bとその結合パートナーとの間の相互作用を低減または阻害し得る。いくつかの実施形態では、M Mは、T Bの天然に存在する結合パートナーの少なくとも部分的または完全なアミノ酸配列を含み得る。例えば、M Mは、天然に存在する結合パートナーの断片であり得る。断片は、天然に存在する結合パートナーに対する95%、90%、80%、75%、70%、60%、50%、40%、30%、25%または20%以下の核酸またはアミノ酸配列相同性を保持し得る。いくつかの実施形態では、M Mは、T Bの同族ペプチドであり得る。例えば、M Mは、T Bのエピトープまたはその断片の配列を含み得る。本明細書で物体に適用される「天然に存在する」という用語は、対象が天然に存在し得るという事実を指す。例えば、天然の供給源から単離することができ、実験室で人によって意図的に改変されていない生物 (ウイルスを含む)に存在するポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列は、天然に存在する。

30

40

【0113】

いくつかの実施形態では、M Mは、天然に存在しない、または天然に存在する結合パートナーもしくは標的タンパク質のアミノ酸配列を含まないアミノ酸配列を含み得る。ある特定の実施形態では、M Mは、T Bの天然結合パートナーではない。M Mは、T Bに対する結合の親和性及び／または結合活性を減少させるアミノ酸変化を含む、T Bの修飾結合パートナーであり得る。いくつかの実施形態では、M Mは、T Bの天然結合パートナーに対する核酸またはアミノ酸相同性を全く含まないか、または実質的に含まない場合がある。他の実施形態では、M Mは、T Bの天然結合パートナーと、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、7

50

0 %、75 %、または80 %以下で類似する。

【0114】

いくつかの実施形態では、MMは、TBと特異的に結合しないが、立体障害などの非特異的相互作用を通じて、その結合パートナーとのTBの結合を干渉し得る。例えば、MMは、活性化可能な標的結合タンパク質の三次または四次構造が、電荷系相互作用を通してMMがTBをマスクすることを可能にし、それによって、MMを所定の位置に保持して、TBへの結合パートナーのアクセスを干渉するように、活性化可能な標的結合タンパク質内に配置され得る。

【0115】

いくつかの実施形態では、MMは、TBの標的に対する解離定数以下である、TBへの結合に対する解離定数を有し得る。いくつかの実施形態では、MMは、切断状態での標的との結合について、TBに干渉しないかまたはそれと競合しない場合がある。

【0116】

MMの構造特性は、標的とタンパク質の結合に干渉するために必要な最小アミノ酸配列、対象の標的タンパク質-タンパク質結合対、TBのサイズ、リンカーの有無などの要因に従って選択することができる。

【0117】

いくつかの実施形態では、MMは、結合したTBに対して固有であり得る。MMの例には、TBまたはその断片の結合ドメインと結合するために特異的にスクリーニングしたMM（例えば、親和性マスク）が含まれる。TBに対して固有の、ならびに結合パートナー／標的の結合ドメインに特異的及び／または選択的に結合するMMを得るためのMMのスクリーニング方法が本明細書に提供され、タンパク質表示方法を含むことができる。

【0118】

本明細書で使用される場合、「マスキング効率」という用語は、不活性化状態の活性化可能な標的結合タンパク質の活性（例えば、EC₅₀）を対照抗体の活性で割ったものを指し、対照抗体は、活性化可能な標的結合タンパク質の切断産物、または活性化可能な標的結合タンパク質のTBとして使用される抗体もしくはその断片のいずれかであり得る。低減されたレベルのTB活性を有する活性化可能な標的結合タンパク質は、10を超えるマスキング効率を有し得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の活性化可能な標的結合タンパク質は、10、100、1000、または5000を超えるマスキング効率を有し得る。

【0119】

いくつかの実施形態では、MMは、約2～50個のアミノ酸の長さのポリペプチドであり得る。例えば、MMは、2～40、2～30、2～20、2～10、5～15、10～20、15～25、20～30、25～35、30～40、35～45、40～50個のアミノ酸の長さのポリペプチドであり得る。例えば、MMは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、または50個のアミノ酸の長さを有するポリペプチドであり得る。いくつかの例では、MMは、50個を超えるアミノ酸の長さ、例えば、100、200、300、400、500、600、700、800、またはそれ以上のアミノ酸のポリペプチドであり得る。

【0120】

いくつかの実施形態では、TB及び干渉MMを有する活性化可能な標的結合タンパク質の不活性化状態において、TBの標的の存在下で、例えば、US20200308243A1に記載されているように、インビトロ免疫吸着アッセイで測定した場合、少なくとも0.1、0.5、1、2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84、96時間、または5、10、15、30、45、60、90、120、150、180日間、または1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、もしくは12ヶ

10

20

30

40

50

月間、T B の標的との結合が全くないか、または実質的にないか、または干渉 M M を伴わない対応抗体の結合と比較して、T B のその標的との結合が 0 . 0 0 1 %、0 . 0 1 %、0 . 1 %、1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、もしくは 5 0 % 以下である。

【 0 1 2 1 】

干渉MMを伴うTBの標的または結合パートナーに対する結合親和性は、干渉MMを伴わないTBのその結合パートナーに対する結合親和性よりも少なくとも5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000倍低いか、または干渉MMを伴わない場合のTBのその結合パートナーに対する結合親和性よりも5~10、10~100、10~1,000、10~10,000、10~100,000、10~1,000,000、10~10,000,000、100~1,000、100~10,000、100~100,000、100~1,000,000、1,000~10,000、1,000~100,000、1,000~1,000,000、1,000~10,000,000、10,000~100,000、10,000~1,000,000、10,000~10,000,000、10,000~1,000,000,000、もしくは100,000~10,000,000倍低い場合がある。

【 0 1 2 2 】

マスクするTBに対するMMの解離定数は、標的に対するTBの解離定数よりも大きい場合がある。マスクされたTBに対するMMの解離定数は、標的に対するTBの解離定数よりも少なくとも5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、100,000、1,000,000、またはさらには10,000,000倍大きい場合がある。逆に、マスクされたTBに対するMMの結合親和性は、標的に対するTBの結合親和性よりも低い場合がある。TBに対するMMの結合親和性は、標的に対するTBの結合親和性よりも少なくとも5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、100,000、1,000,000、またはさらには10,000,000倍低い場合がある。

【 0 1 2 3 】

いくつかの実施形態では、MMは、遺伝的にコードされたアミノ酸または遺伝的にコードされていないアミノ酸を含み得る。遺伝的にコードされていないアミノ酸の例には、D-アミノ酸、β-アミノ酸、及びγ-アミノ酸が含まれるが、これらに限定されない。特定の実施形態では、MMは、50%、40%、30%、20%、15%、10%、5%、または1%以下の遺伝的にコードされていないアミノ酸を含む。

【 0 1 2 4 】

いくつかの実施形態では、活性化可能な標的結合タンパク質から放出され、遊離状態になると、MMは、生物学的活性または治療効果、例えば、結合能力を有し得る。例えば、遊離ペプチドは、同じまたは異なる結合パートナーと結合し得る。ある特定の実施形態では、遊離MMは、治療効果を発揮し、本明細書に開示される組成物に二次機能を提供し得る。いくつかの実施形態では、活性化可能な標的結合タンパク質から切り離されて、遊離状態になると、MMは、生物学的活性を示さないという利点があり得る。例えば、いくつかの実施形態では、遊離状態のMMは、対象において免疫応答を誘発しない。

【 0 1 2 5 】

好適なMMは、可変MMを有する候補活性化可能な標的結合タンパク質のライブラリからのスクリーニング手順を通じて特定及び／またはさらに最適化され得る。例えば、TB及びCMは、所望の酵素／標的の組み合わせを提供するように選択され得、MMのアミノ酸配列は、切り替え可能な表現型を提供するMMを特定するために、以下に記載されるスクリーニング手順によって特定され得る。例えば、ランダムペプチドライブラリ（例えば、2～40個以上のアミノ酸を含むペプチドの）を、本明細書に開示されるスクリーニン

グ方法において使用して、好適なMMを特定してもよい。

【0126】

いくつかの実施形態では、TBに対する特異的結合親和性を有するMMは、候補MMを含むペプチド足場のライブラリを提供することを含むスクリーニング手順によって特定され得、各足場は、膜貫通タンパク質及び候補MMで構成される。次いで、ライブラリを、全長タンパク質、天然に存在するタンパク質断片、またはタンパク質（目的の結合パートナーにも結合することができる）を含む天然に存在しない断片などのタンパク質の全体または一部と接触させ、検出可能な結合タンパク質を有する1つ以上の候補MMを特定してもよい。スクリーニングは、例えば、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、WO2009025846及びUS20200308243A1に記載されるように、磁気活性化選別（MACS）または蛍光活性化選別（FACS）の1つ以上のラウンド、ならびにTBに対するMMの結合親和性の決定、及びその後のマスキング効率の決定によって実行され得る。

10

【0127】

いくつかの実施形態では、MMは、特定の抗体または抗体断片と使用するために選択され得る。例えば、エピトープと結合するTBで使用するための好適なMMは、エピトープの配列を含み得る。いくつかの例では、本明細書に開示される抗CD3結合タンパク質をマスキングするための好適なMMとしては、GYLWGCEWNCGGITTT（配列番号691）、NAFRCWWDP PC QPMT（配列番号692）、ARGLCWWDP PC THDL（配列番号693）、またはNHSLCYWDP PC EPST（配列番号694）の配列を含むMMが挙げられる。抗CD3結合タンパク質の追加のマスキング部分には、MMYCGGNEVL CGPRV（配列番号695）、GYRWGCEWNCGGITTT（配列番号696）、MMYCGGNEIFCEPRG（配列番号697）、GYGWGCEWNCGGSSP（配列番号698）、及びMMYCGGNEIFCGPRG（配列番号699）の配列が含まれる。

20

【0128】

好適なMMの例は、WO2021207657、WO2021142029、WO2021061867、WO2020252349、WO2020252358、WO20200236679、WO2020176672、WO2020118109、WO2020092881、WO2020086665、WO2019213444、WO2019183218、WO2019173771、WO2019165143、WO2019075405、WO2019046652、WO2019018828、WO2019014586、WO2018222949、WO2018165619、WO2018085555、WO2017011580、WO2016179335、WO2016179285、WO2016179257、WO2016149201、及びWO2016014974に開示されており、これらは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

30

【0129】

切断可能な部分（CM）

活性化可能な標的結合タンパク質は、1つ以上の切断可能な部分（CM）を含み得る。

「切断可能な部分」及び「CM」は、本明細書では、ペプチド（そのアミノ酸配列は配列特異的プロテアーゼの基質を含む）を指すために互換的に使用される。いくつかの実施形態では、CMは、TBとMMとの間に配置され得る。

40

【0130】

活性化可能な標的結合タンパク質のCM及びTBは、TBが特定の標的の結合部分を表し、CMが1つ以上のプロテアーゼの基質を表すように選択することができ、プロテアーゼは、組織内の標的と共局在する（例えば、対象の治療部位または診断部位で）。プロテアーゼは、活性化可能な標的結合タンパク質がプロテアーゼに曝露されると、活性化可能な標的結合タンパク質中のCMを切断し得る。いくつかの実施形態では、活性化可能な標的結合タンパク質では、例えば、CM中の部位を切断することができる1つ以上のプロテアーゼが、治療部位または診断部位の標的含有組織中に、非治療部位の組織中（例えば、

50

健康な組織中)よりも比較的高いレベルで存在する場合、特定の用途が見出され得る。

【0131】

いくつかの実施形態では、本明細書のCMは、複数のがんにおいて報告されている既知の基質を有するプロテアーゼの基質を含み得る。例えば、La Rocca et al., British J. Cancer 90(7):1414-1421, 2004を参照されたい。本明細書で利用されるCM構成成分に使用するのに好適な基質には、がん細胞及び組織にでより多く見られる基質が含まれる。したがって、ある特定の実施形態では、CMは、がんに関連する患部組織によりでより多く見られるプロテアーゼの基質を含み得る。がんの例には、胃癌、乳癌、骨肉腫、食道癌、乳癌、HER2陽性癌、カポジ肉腫、有毛細胞白血病、慢性骨髄性白血病(CML)、濾胞性リンパ腫、腎細胞癌(RCC)、10
、黒色腫、神経芽細胞腫、基底細胞癌、皮膚T細胞リンパ腫、上咽頭腺癌、卵巣癌、膀胱癌、BCG抵抗性非筋層浸潤性膀胱癌(NMIBC)、子宮内膜癌、膵臓癌、非小細胞肺癌(NSCLC)、大腸癌、食道癌、胆嚢癌、神経膠腫、頭頸部癌、子宮癌、子宮頸癌、または精巣癌などが含まれる。いくつかの実施形態では、CM構成成分は、腫瘍組織中でより多く存在するプロテアーゼ(複数可)の基質を含む。例えば、プロテアーゼ(複数可)は、対象の腫瘍によって産生され得る。

【0132】

いくつかの実施形態では、活性化可能な標的結合タンパク質は、2つのCM(例えば、MMを複数のTBと結合するための)を含み得る。いくつかの例では、第1のCM及び第2のCMは、同じプロテアーゼの基質を含み得る。いくつかの例では、第1及び第2のCMは、異なるプロテアーゼの基質を含み得る。いくつかの例では、第1のCM及び第2のCMは、同じ配列を含み得るか、またはそれらからなり得る。いくつかの例では、第1及び第2のCMは、異なる配列を含み得るか、またはそれらからなり得る。20

【0133】

本明細書の活性化可能な標的結合タンパク質に使用するための好適なCMには、当該技術分野において既知のプロテアーゼ基質のいずれかが含まれる。いくつかの例では、CMは、セリンプロテアーゼ(例えば、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)、マトリプターゼ(本明細書ではMT-SP1またはMTSP1とも呼ばれる)の基質を含み得る。いくつかの例では、CMは、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)の基質を含み得る。いくつかの例では、CMは、システインプロテアーゼ(CP)の基質(例えば、レグマイン)を含み得る。30

【0134】

いくつかの実施形態では、CMは、ディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ(ADAM)またはトロンボスポンジンモチーフを有するディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ(ADAMTS)(例えば、ADAM8、ADAM9、ADAM10、ADAM12、ADAM15、ADAM17/TACE、ADEMDEC1、ADAMTS1、ADAMTS4、ADAMTS5)、アスパラギン酸プロテアーゼ(例えば、BACE、レニン)、アスパラギン酸カテプシン(例えば、カテプシンD、カテプシンE)、カスパーゼ(例えば、カスパーゼ1、カスパーゼ2、カスパーゼ3、カスパーゼ4、カスパーゼ5、カスパーゼ6、カスパーゼ7、カスパーゼ8、カスパーゼ9、カスパーゼ10、カスパーゼ14)、システインカテプシン(例えば、カテプシンA、カテプシンB、カテプシンC、カテプシンG、カテプシンK、カテプシンL、カテプシンS、カテプシンV/L2、カテプシンX/Z/P)、システインプロテイナーゼ(例えば、クルジパイン、レグマイン、オツパイン-2)、キマーゼ、DESC1、DPP-4、FAP、エラスターゼ、FVIIa、FIXa、FXa、FXIa、FXIIa、グランザイムB、グアニジノベンゾアターゼ、ヘプシン、HtrA1、ヒト好中球エラスターゼ、KLK(例えば、KLK4、KLK5、KLK6、KLK7、KLK8、KLK10、KLK11、KLK13、KLK14)、メタロプロテイナーゼ(例えば、メプリン、ネプリライシン、PSMA、BMP-1)、ラクトフェリン、マラプシン、マトリプターゼ-2、MT-SP1/マトリプターゼ、NS3/4A、PACE4、プラスミン、PSA、MMP(例えば、MM 40
50

P 1、MMP 2、MMP 3、MMP 7、MMP 8、MMP 9、MMP 10、MMP 11、MMP 12、MMP 13、MMP 14、MMP 15、MMP 16、MMP 17、MMP 19、MMP 20、MMP 23、MMP 24、MMP 26、MMP 27)、TMPRSS2、TMPRSS3、TMPRSS4、tPA、トロンビン、トリプターゼ、及びuPAの基質を含み得る。

【0135】

いくつかの実施形態では、CM中のプロテアーゼ基質は、同じプロテアーゼによって自然に切断される任意のポリペプチド配列と実質的に同一ではない（例えば、90%、80%、70%、60%、または50%以下同一である）ペプチド配列を含み得る。

【0136】

いくつかの実施形態では、CMは、以下の表6の配列のうちのいずれか1つの配列のコンセンサスによって包含される配列であり得るか、またはそれを含み得る。

10

20

30

40

50

【表 6 - 1】

表 6. 例示的な CM 配列

配列	配列 番号	配列	配列番 号
AANALAHGLF	167	HMMQYARH	418
AANL	168	HTGRSGAL	419
AANLGSGGSS	169	HVPRQ	420
AAPRS	170	HVPRQV	421
AAPRSF	171	HVPRQVAPRSF	422
AARGPAIH	172	HVPRQVLSGRS	423
AAHYLVSQ	173	HVPRQVLSGRSAN	424
AFPDMRSVRS	174	HWHLGPPT	425
AFQALRM	175	IANLLSMV	426
AFRHLR	176	IDGR	427
AGLGISS	177	IEGR	428
AGLGVVER	178	ILNLLSMV	429
AGPR	179	ILPRSPAF	430
AHGL	180	IPFSWSRF	431
AHGLF	181	IQNLLSMV	432
AHQALRM	182	ISSGL	433
AIPRVRLFDV	183	ISSGLL	434
ALAHG	184	ISSGLLS	435
ALAHGL	185	ISSGLLSGRSANI	436
ALAHGLF	186	ISSGLLSGRSANP	437
ALAHGLFAPRSF	187	ISSGLLSGRSANPRG	438
ALAHGLFSGRSAN	188	ISSGLLSGRSDDH	439
ALAHGLPTFVHL	189	ISSGLLSGRSDIH	440
ALGLRLP	190	ISSGLLSGRSDNH	666
ALPSVKMVSE	191	ISSGLLSGRSDNI	441
ALRAP	192	ISSGLLSGRSDNP	442
ANQALRM	193	ISSGLLSGRSDQH	443
ANQALRMA	194	ISSGLLSGRSDTH	444
APPLVKSMVV	195	ISSGLLSGRSDYH	445
APPSEKLVNA	196	ISSGLLSGRSGNH	446
APRS	197	ISSGLLSGRSNI	447
APRSALAHGLF	198	ISSGLLSGRSNIG	448
APRSF	199	ISSGLLSGRSNIGS	449

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

AQFVLTEG	200	ISSGLSS	450
AQNLLGMV	201	ISSGLSSGGSGGSLSGRSDNH	451
ARGP	202	ISSGLSSGGSGGSLSGRSGNH	452
ARGPS	203	ISSGLSS	453
ARGPSF	204	IVSRSA	454
ARGPSFK	205	KGLTGRSDRHQA	455
ASGLLRFP	206	KGPKVKVVTL	456
ASPTMKTVGL	207	KNLYGRSENNGN	457
AVGLLAPP	208	KRMPVQFL	458
AVGLLAPPGGLSGRSANI	209	LAAPLGLL	459
AVGLLAPPGGLSGRSANP	210	LAHG	460
AVGLLAPPGGLSGRSDDH	211	LAHGL	461
AVGLLAPPGGLSGRSDIH	212	LAHGLF	462
AVGLLAPPGGLSGRSDNH	213	LAPLGLQRR	463
AVGLLAPPGGLSGRSDNI	214	LARAG	464
AVGLLAPPGGLSGRSDNP	215	LARAGI	465
AVGLLAPPGGLSGRSDQH	216	LARAGL	466
AVGLLAPPGGLSGRSDTH	217	LKAAPRWA	467
AVGLLAPPGGLSGRSDYH	218	LKAAPRWF	468
AVGLLAPPGGLSGRSNI	219	LKAAPVWA	469
AVGLLAPPGGLSGRSNIG	220	LKAAPVWF	470
AVGLLAPPGGLSGRSNIGS	221	LKGRSYYY	471
AVGLLAPPGTSTSGRSANPRG	222	LLAPSHRA	472
AVGLLAPPSGRSANPRG	223	LLEALRAL	473
AVGLLAPPTSGRSANPRG	224	LLESLRAL	474
AVPKVRVVPE	225	LLPAHGG	475
CGPPLGR	226	LLPLLS	476
CSPPLGR	227	LLNALRAL	477
DEVDSGGSS	228	LLNSLRAL	478
DEXXC(A/S)		LLQALRAL	479
DISHWRRS	229	LLQSLRAL	480
DLAHPLL	230	LLSALRAL	481
DLPLVKSLPS	231	LLSSLRAL	482
DLXXT(A/S)		LNGRSDNH	483
DRLSGRSANHKK	232	LPAGLLL	484
DRLSGRSDNHKK	233	LPAGLLLR	485

10

20

30

40

50

【表 6 - 3】

DRPEMKSLSG	234	LPAHLVLL	486
DRPKVKTMDF	235	LPAHLVLV	487
DVAQFVLT	236	LPGGLSPW	488
DVPPMKTLRP	237	LPSHLVLL	489
DWLYWMGI	238	LPSHLVLV	490
DWLYWMSI	239	LPTFV	491
DWLYWPGI	240	LPTFVH	492
DWLYWPSI	241	LPTFVHL	493
EAPKVKALPK	242	LRSGW	494
EHPRVKVSE	243	LSGR	495
EKPRMKLFQG	244	LSGRS	496
EPQALAMS	245	LSGRSA	497
EQPEVKMVKG	246	LSGRSALAHGLF	498
ERPGVKSLVL	247	LSGRSAN	499
ESLPVVAV	248	LSGRSANI	500
ESPVMKSMAL	249	LSGRSANP	501
ESRRW	250	LSGRSD	502
ESRRWM	251	LSGRSDD	503
ESRRWMP	252	LSGRSDDH	665
ETPSVKTMGR	253	LSGRSDI	504
ETPSVKTMGRSS	254	LSGRSDIH	505
FPRPLGITGL	255	LSGRSDN	506
FRLLDWQW	256	LSGRSDNH	507
GCGPPLGR	257	LSGRSDNHGGAVGLLAPP	508
GCSPPLGR	258	LSGRSDNHGGSGGSISSGLLSS	509
GFPHMKTQFH	259	LSGRSDNHGGSGGSQNQALRMA	510
GFPHMKTQFHSS	260	LSGRSDNHGGVHMPGLGFLGP	511
GGGPPLGR	261	LSGRSDNI	512
GGPPLGR	262	LSGRSDNP	513
GGQPSGMWGW	263	LSGRSDQ	514
GGSIDGR	264	LSGRSDQH	515
GGSPPLGR	265	LSGRSDT	516
GGWHTGRN	266	LSGRSDTH	517
GIAGQ	267	LSGRSDY	518
GLGTPRGLFA	268	LSGRSDYH	519
GLPTFV	269	LSGRSENH	520

10

20

30

40

50

【表 6 - 4】

GLPTFVH	270	LSGRSG	521
GLPTFVHL	271	LSGRSGN	522
GLPTFVHLPRQV	272	LSGRSGNH	523
GLSGRSDNHGSS	273	LSGRSGNHGGSGGSISSGLLSS	524
GPEGLRVG	274	LSGRSGNHGGSGGSQNQALRMA	525
GPLGIAGI	275	LSGRSGNP	526
GPLNGRSDNHKA	276	LSGRSVTQ	527
GPLNGRSDNHKK	277	LSQARWRK	528
GPLNGRSDNHKR	278	LTFTYIF	529
GPLNGRSDNHQA	279	LTFTYWF	530
GPLNGRSDNHQK	280	LTGRSDRH	531
GPLNGRSDNHQR	281	LTGRSGA	532
GPLNGRSDNHRA	282	LTGRSGA	533
GPLNGRSDNHRK	283	LYAAPRWA	534
GPLNGRSDNHRR	284	LYAAPRWF	535
GPLSGRSDNHKA	285	LYAAPVWA	536
GPLSGRSDNHKK	286	LYAAPVWF	537
GPLSGRSDNHKR	287	LYGRSENN	538
GPLSGRSDNHQA	288	MDAFLESS	539
GPLSGRSDNHQK	289	MGLFSEAG	540
GPLSGRSDNHQR	290	MGPWFM	541
GPLSGRSDNHRA	291	MIAPVAYR	542
GPLSGRSDNHRK	292	MLRSGW	543
GPLSGRSDNHRR	293	MLRSGWR	544
GPPLGR	294	MLRSGWRG	545
GPQGIAGQ	295	MLRSGWRL	546
GPQGLLGA	296	MLRSGWRS	547
GPRSFG	297	MTFTYIF	548
GPRSEGL	298	MTFTYWF	549
GPSHLVLT	299	NHRIGRSDNHRR	550
GPTN	300	NMPSEKLVGT	551
GPTNALAHGLF	301	NTLSGRSENHSG	552
GRSML	302	NTLSGRSGNHGS	553
GRSMLL	303	NZPRVRLVLP	554
GRSMLLG	304	PAGLWLDP	555
GRSMLLGG	305	PAGRR	556

10

20

30

40

50

【表 6 - 5】

GRSMLLGP	306	PAGRRS	557
GRSMLLGS	307	PAGRRL	558
GRSMLLP	308	PASLWYTQ	559
GRSMLLPG	309	PESRRWMP	560
GRSMLLPP	310	PFHLSR	561
GRSMLLPS	311	PHGFFQ	562
GRSMLLS	312	PLARAGI	563
GRSMLLSG	313	PLARAGL	564
GRSMLLSP	314	PLGL	565
GRSMLLSS	315	PLGLAG	566
GRSMLM	316	PLGLWA	567
GRSMLMG	317	PLGVRGK	568
GRSMLMGG	318	PLTGRSGG	569
GRSMLMGP	319	PLTGRSGGGSS	570
GRSMLMGS	320	PPLGR	571
GRSMLMP	321	PPPDMKLFPG	572
GRSMLMPG	322	PPPEVRSFSV	573
GRSMLMPP	323	PPPVKLLEW	574
GRSMLMPS	324	PPSIARSDNLAN	575
GRSMLMS	325	PQHRIVSF	576
GRSMLMSG	326	PRFKIIGG	577
GRSMLMSP	327	PRFRIIGG	578
GRSMLMSS	328	PRPFVKSVDQ	579
GSGPPLGR	329	PRQV	580
GSPPLGR	330	PRSF	581
GSSPPLGR	331	PSPPVKMMPE	582
GTGRGPSWVGSS	332	PTNGGSGGSS	583
PTNL	333	RVPKVKVMLD	584
PTNLGSGGSS	334	SAGFSLPA	585
PVGYTSSL	335	SAPAVESE	586
PVPRLKLIKD	336	SAPYFRMMDM	587
PVQPIGPQ	337	SARGPSRW	588
QALAMSAI	338	SCGPPLGR	589
QFQALRM	339	SCSPPLGR	590
QGPMFKSLWD	340	SGGPLGVR	591
QGRAITFI	341	SGGPPLGR	592

10

20

30

40

50

【表 6 - 6】

QHQUALRM	342	SGPPLGR	593
QNQUALRIA	343	SGRS	594
QNQUALRM	344	SGRSA	595
QNQUALRMA	345	SGRSAN	596
QNQUALRMAGGSGGSLSGRSDNH	346	SGRSANI	597
QNQUALRMAGGSGGSLSGRSGNH	347	SGRSANP	598
QSRRVP	348	SGRSANPRG	599
QSRRVPL	349	SGRSD	600
QSRRVPV	350	SGRSDD	601
QTRRVP	351	SGRSDDH	602
QTRRVPL	352	SGRSDI	603
QTRRVPV	353	SGRSDIH	604
QYIVSRSA	354	SGRSDN	605
RALRAP	355	SGRSDNI	606
REPFMKSLPW	356	SGRSDNP	607
RFPLKV	357	SGRSDQ	608
RFPSLKSFPL	358	SGRSDQH	609
RFPYGVW	359	SGRSDT	610
RFYRNQFF	360	SGRSDTH	611
RGPA	361	SGRSDY	612
RGPAFNPM	362	SGRSDYH	613
RGPATPIM	363	SGRSG	614
RGPKLYW	364	SGRSGN	615
RHLAKL	365	SGRSGNH	616
RIGRSDNH	366	SGSPPLGR	617
RKMPNITV	367	SIARSDNL	618
RKSSIIIRMRDVVL	368	SISSGLLSGRSDNI	619
RKTVQHWW	369	SNPFKY	620
RLGRSDNN	370	SPLPLRVP	621
RMHLRSLG	371		
RPLARAGI	372	SPLTGRSG	622
RPLARAGL	373	SPPLGR	623
RPLNGRSDNHKA	374	SRRVP	624
RPLNGRSDNHKK	375	SRRVPL	625
RPLNGRSDNHKR	376	SRRVPV	626
RPLNGRSDNHQA	377	SSGPPLGR	627

10

20

30

40

50

【表 6 - 7】

RPLNGRSDNHQK	378	SSPPLGR	628
RPLNGRSDNHQR	379	SSRGPAYL	629
RPLNGRSDNHRA	380	SSRHRRALD	630
RPLNGRSDNHRK	381	SSSFDKGKYKKGDDA	631
RPLNGRSDNHRR	382	SSSFDKGKYKRGDDA	632
RPLSGRSDNHKA	383	SSPPLGR	633
RPLSGRSDNHKK	384	STFPFGMF	634
RPLSGRSDNHKR	385	STVFHM	635
RPLSGRSDNHQA	386	SVHHLI	636
RPLSGRSDNHQK	387	SVSGLLSH	637
RPLSGRSDNHQR	388	SVSGLLSS	638
RPLSGRSDNHRA	389	SVSGLRSH	639
RPLSGRSDNHRK	390	SVSGLRSS	640
RPLSGRSDNHRR	391	TARG	641
RPSPMWAY	392	TARGP	642
RRHDGLRA	393	TARGPALAHGLF	643
RRHDGLRS	394	TARGPS	644
RSLVFAPI	395	TARGPSF	645
RSPSRLKC	396	TARGPSFK	646
VAGRSMRP	397	TARGPSW	647
VAPQLKSLVP	398	TARGPSW	648
VAQFVLTE	399	TARGPVPRQV	649
VHMPLGFLGP	400	TFVH	650
VHMPLGFLGPGLSGRSDNH	401	TGLSGRSVTQTS	651
VHMPLGFLGPGBTSTSGRSANPRG	402	TGRGPSWV	652
VLPELRSVFS	403	TLRLGRSDNNKN	653
VLSKQMSF	404	TLSGLRSP	654
VPAGRRS	405	TSGRSANP	655
VPAGRRLS	406	TSGRSGNP	656
VPRQ	407	TSLSGRSANPRG	657
VPRQV	408	TSLSGRSGNPRG	658
VSRSA	409	TSSGLRSP	659
VVPEGRRS	410	TSTSGRSANPRG	660
WATPRPMR	411	TSTSGRSANPRGGGAVGLLAPP	661
WDHPISLL	412	TSTSGRSANPRGGGVHMPLGFLGP	662
XXQAR(A/V)X		TSTSGRSGNPRG	663
YDPZVKVLA	413	TVSGLRSP	664
YGAGLGVV	414	YVPRVKALEM	417
YIVSRSA	415	YKKFVGSL	416

【0137】

CMの例には、WO2010/081173、WO2021207669、WO2021207657、WO2021142029、WO2021061867、WO2020252349、WO2020252358、WO2020236679、WO2020176672、WO2020118109、WO2020092881、WO2020086665、WO2019213444、WO2019183218、WO2019173771、WO2019165143、WO2019075405、WO2019046652、WO2019018828、WO2019014586、WO2018222949、WO2018165619、WO2018085555、WO2017011580

、WO2016179335、WO2016179285、WO2016179257、WO2016149201、WO2016014974に記載されているものも含まれ、これらは、あらゆる目的のためにそれらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0138】

いくつかの実施形態では、CMは、上記の例示的な配列の組み合わせ、C末端切断バリエーション、またはN末端切断バリエーションであり得るか、またはそれらを含み得る。CMでの使用に好適である前述のアミノ酸配列の切断バリエーションは、対応するプロテアーゼの認識部位を保持する任意のものであり得る。これらには、上記のアミノ酸配列の少なくとも3つの連続するアミノ酸、またはプロテアーゼの認識部位を保持する前述のアミノ酸配列の少なくとも4、5、6、7、8、9、もしくは10個のアミノ酸を含む、C末端及び／またはN末端切断バリエーションが含まれる。ある特定の実施形態では、上記のアミノ酸配列の切断バリエーションは、上記のいずれかに対応するアミノ酸配列であり得るが、C末端及び／またはN末端が、1～10個のアミノ酸、1～9個のアミノ酸、1～8個のアミノ酸、1～7個のアミノ酸、1～6個のアミノ酸、1～5個のアミノ酸、1～4個のアミノ酸、または1～3個のアミノ酸によって切断され、(1)少なくとも3つのアミノ酸残基を有し、(2)プロテアーゼの認識部位を保持するものであり得る。前述の実施形態のいくつかでは、切断されたCMはN末端で切断されたCMである。いくつかの実施形態では、切断されたCMは、C末端で切断されたCMである。いくつかの実施形態では、切断されたCMは、C末端及びN末端で切断されたCMである。

10

【0139】

いくつかの実施形態では、CMは、合計3個のアミノ酸～25個のアミノ酸を含み得る。いくつかの実施形態では、CMは、合計3～25、3～20、3～15、3～10、3～5、5～25、5～20、5～15、5～10、10～25、10～20、10～15、15～25、15～20、または20～25個のアミノ酸を含み得る。

20

【0140】

いくつかの実施形態では、CMは、約 $0.001 \sim 1500 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、または少なくとも0.001、0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1、2.5、5、7.5、10、15、20、25、50、75、100、125、150、200、250、500、750、1000、1250、もしくは $1500 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ の速度で、少なくとも1つのプロテアーゼによって特異的に切断され得る。速度は、WO2016118629に開示されるように、基質切断動態(k_{cat}/K_m)として測定され得る。

30

【0141】

コンジュゲーション剤

いくつかの態様では、標的結合タンパク質(活性化可能な標的結合タンパク質を含む)は、1つ以上の追加の薬剤、例えば、対象の細胞もしくは組織への送達を容易にする標的化部分、治療剤(例えば、化学療法剤または抗腫瘍剤などの抗悪性腫瘍剤)、毒素、放射性同位体、低分子、診断剤、標的化部分、または検出可能な部分、あるいはそれらの断片をさらに含み得る。追加の薬剤は、標的結合タンパク質とコンジュゲートされ得る。「薬剤」は、本明細書において、化学化合物、化学化合物の混合物、生物学的巨大分子、または生物学的材料から作製される抽出物を示すために使用される。

40

【0142】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、細胞傷害性薬剤、例えば、毒素(例えば、細菌、真菌、植物、もしくは動物由来の酵素活性毒素、またはそれらの断片)または放射性同位体にコンジュゲートされ得る。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、例えば、TLR3、TLR7、TLR8、及びTLR9を含む、Toll様受容体(TLR)の低分子アゴニストなどのT細胞活性化剤とコンジュゲートされ得る。そのような活性化剤の非限定的な例には、TLR3アゴニスト、例えば、(Riboxol)、RGC100、ARNAX、及びポリ-IC; TLR7/8アゴニスト、例えば、レシキモド(R848)、及びモトリモド(VTX-2337)(イミキモドの第2世代実験

50

誘導体、イミダゾキノリン)、PF-4878691、BDC-1001、LHC165、NKTR-262、TQ-A3334、RO7119929、DSP-0509、BNT411、及びNJH395;TLR9アゴニスト、例えば、Bacillus Calmette-Guerin (BCG)、カプロトリモド (Cavrotolimod) / AST-008 (Excicure)、CMP-001 (Checkmate)、CpG-28 (University of Paris)、EnandIM (Mologen AG)、IMO-2055 (Idera)、IMO-2125 / チルソトリモド (tilsotolimod) (Idera)、MGN1703 / レフィットリモド (Lefitolimod) (Mologen AG)、NZ-TLR9 (LIDDS)、PF-3512676 (Pfizer)、SD-101 (Dynavax)、及びS-540956 (Shionogi) が含まれる。

10

【0143】

標的結合タンパク質とコンジュゲートすることができる細胞傷害性薬剤の例には、ドラスタチン及びその誘導体 (例えば、アウリスタチンE、AFP、モノメチルアウリスタチンD (MMAD)、モノメチルアウリスタチンF (MMAF)、モノメチルアウリスタチンE (MMAE)、デスメチルアウリスタチンE (DMAE)、アウリスタチンF、デスメチルアウリスタチンF (DMAF)、ドラスタチン16 (DmJ)、ドラスタチン16 (Dpv)、アウリスタチン誘導体 (例えば、アウリスタチンチラミン、アウリスタチンキノロン)、マイタンシノイド (例えば、DM-1、DM-4)、マイタンシノイド誘導体、デュオカルマイシン、アルファ-アマニチン、ターボスタチン (turbostatatin)、フェンスタチン (phenstatin)、ヒドロキシフェンスタチン (hydroxyphenstatin)、スポンジスタチン5、スポンジスタチン7、ハリストアチン (halistatin) 1、ハリストアチン2、ハリストアチン3、ハロコムスタチン (halocomstatin)、ピロロベンズイミダゾール (PBI)、シブロスタチン (cibrostatin) 6、ドキサリフォーム (doxaliform)、セマドチン類似体 (CemCH2-SH)、シュードモナス毒素A (PES8) バリエント、シュードモナス毒素A (ZZ-PE38) バリエント、ZJ-101、アントラサイクリン、ドキシソルピシン、ダウノルピシン、ブリオスタチン、カンプトテシン、7-置換カンプトテシン、10, 11-ジフルオロメチレンジオキシカンプトテシン、コンプレタスタチン、デブロモアブリシアトキシシン、カハマイド (Kahamide) -F、ディスコデルモリド、及びエクチナサイジン (Ecteinascidin) が含まれる。

20

30

【0144】

標的結合タンパク質とコンジュゲートすることができる酵素活性毒素の例には、ジフテリア毒素、Pseudomonas aeruginosa由来の外毒素A鎖、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデシンA鎖、アルファ-サルシナ (sarcin)、アリウリエスフォルディタンパク質 (Aleuris fordii protein)、ダイアンフィンタンパク質 (dianfhin protein)、フィトイアカアメリカナタンパク質 (Phytoiaca Americana protein) (例えば、PAPI、PAPII、及びPAP-8)、モモルディカチャランチア阻害剤 (momordica charantia inhibitor)、クルシン、クロチル (crotilis)、サパオナリアオフィシナリス阻害剤 (sapaonaria officinalis inhibitor)、ゲイオニン (geionin)、ミトゲリイン (mitogelilin)、レストリクトシン、フェノマイシン、ネオマイシン、及びトリコテシンが含まれる。

40

【0145】

標的結合タンパク質とコンジュゲートすることができる抗新生物の例には、アドリアマイシン、セルビジン、プレオマイシン、アルケラン、ベルバン (velban)、オンコピン、フルオロウラシル、メトトレキサート、チオテパ、ピサントレン、ノバントロン、チオグアニン、プロカラビジン、及びシタラビンが含まれる。

【0146】

50

標的結合タンパク質とコンジュゲートすることができる抗ウイルス剤の例には、アシクロビル、ピラA、及びシンメトレルが含まれる。標的結合タンパク質とコンジュゲートすることができる抗真菌剤の例には、ナスタチンが含まれる。標的結合タンパク質とコンジュゲートすることができる検出試薬の例には、フルオレセイン及びその誘導体、フルオレセインイソチオシアネート（FITC）が含まれる。標的結合タンパク質とコンジュゲートすることができる抗菌剤の例には、アミノグリコシド、ストレプトマイシン、ネオマイシン、カナマイシン、アミカシン、ゲンタマイシン、及びトブラマイシンが含まれる。標的結合タンパク質とコンジュゲートすることができる3ベータ、16ベータ、17アルファトリヒドロキシコレスト-5-エン-22-オン16-O-（2-O-4-メトキシベンゾイル-ベータ-D-キシロピラノシル）-（1->3）-（2-O-アセチル-アルファ-L-アラビノピラノシド）（OSW-1）の例には、O6-ベンジルグアニンのs-ニトロベンジルオキシカルボニル誘導体、トポイソメラーゼ（topoisomerase）阻害剤、ヘミアステリン、セファロタキシン、ホモハリンギオニン（homoharringtonine）、ピロールオベンゾジアゼピン二量体（pyrrollobenzodiazepine dimer）（PBD）、官能化ピロロベンゾジアゼペン、カルシケアミニン（calcicheamicin）、ポドフィイチトキシン（podophyllotoxin）、タキサン、及びビンカアルコイド（vincaloid）が含まれる。標的結合タンパク質とコンジュゲートすることができる放射性医薬品の例には、 ^{123}I 、 ^{89}Zr 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{201}Tl 、 ^{62}Cu 、 ^{18}F 、 ^{68}Ga 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、 ^{38}K 、 ^{82}Rb 、 ^{111}In 、 ^{133}Xe 、 ^{11}C 、及び $^{99\text{m}}\text{Tc}$ （テクネチウム）が含まれる。標的結合タンパク質とコンジュゲートすることができる重金属の例には、バリウム、金、及び白金が含まれる。標的結合タンパク質とコンジュゲートすることができる抗マイコプラズマの例には、タイロシン、スペクチノマイシン、ストレプトマイシンB、アンピシリン、スルファニルアミド、ポリミキシン、及びクロラムフェニコールが含まれる。

10

20

30

40

50

【0147】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、シグナルペプチドを含み得る。複数のペプチドを含む場合、標的結合タンパク質は、複数のシグナルペプチド、例えば、複数のペプチドの各々に対して1つのシグナルペプチドを含み得る。シグナルペプチドは、分泌経路に向かって運命づけられた新しく合成されたタンパク質の末端（例えば、N末端またはC末端）に存在するペプチド（例えば、10～30個のアミノ酸の長さ）であり得る。いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、スペーサーを介して標的結合タンパク質とコンジュゲートされ得る。いくつかの実施形態では、スペーサーは、シグナルペプチドの非存在下で標的結合タンパク質とコンジュゲートされ得る。

【0148】

当業者は、多種多様な可能性のある薬剤が、本明細書に記載の標的結合タンパク質のいずれかとコンジュゲートされ得ることを認識するであろう。薬剤は、リンカー、CM、または2つの分子を結合することができる他の分子もしくはその断片であり得るコンジュゲート部分によって標的結合タンパク質の別の構成成分とコンジュゲートされ得る。いくつかの例では、コンジュゲート部分は、酵素（例えば、プロテアーゼ）によって切断可能であり得る。いくつかの例では、コンジュゲート部分は、酵素*（例えば、プロテアーゼ）によって切断することができない場合がある。

【0149】

コンジュゲーションは、標的結合タンパク質及び他の部分がそれらのそれぞれの活性を保持する限り、2つの分子を結合する任意の化学反応を含み得る。コンジュゲーションは、多くの化学メカニズム、例えば、共有結合、親和性結合、インターカレーション、配位結合、及び複合体化を含み得る。いくつかの実施形態では、結合は、共有結合であり得る。共有結合は、既存の側鎖の直接縮合によって、または外部架橋分子の組み込みによって達成され得る。多くの二価または多価の結合剤は、本明細書に記載される標的結合タンパク質のいずれかをコンジュゲートするのに有用であり得る。例えば、コンジュゲーション

には、チオエステル、カルボジイミド、スクシンイミドエステル、グルタルアルデヒド、ジアゾベンゼン、ヘキサメチレンジアミンなどの有機化合物が含まれ得る。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、コンジュゲーションに好適な部位を提供するために、1つ以上の非天然アミノ酸残基を含むか、または他の方法で導入することができる。

【0150】

いくつかの実施形態では、薬剤及び／またはコンジュゲート体は、ジスルフィド結合（例えば、システイン分子上のジスルフィド結合）によって、抗原結合ドメインと結合され得る。多くのがんは高レベルのグルタチオン、すなわち還元剤を自然に放出するため、がん組織微小環境に存在するグルタチオンはジスルフィド結合を還元することができ、その後、送達部位で薬剤及び／またはコンジュゲート体が放出される。

10

【0151】

いくつかの実施形態では、コンジュゲート体が、標的部位（例えば、患部組織（例えば、がん組織））内の補体の存在下でその標的と結合すると、コンジュゲート体及び／または薬剤をリンカーに結合しているアミド結合またはエステル結合が切断され、その結果、コンジュゲート体及び／または薬剤がその活性形態で放出される。これらのコンジュゲート体及び／または薬剤は、対象に投与されると、標的部位（例えば、患部組織（例えば、がん組織））でのコンジュゲート体及び／または薬剤の送達及び放出を達成することができる。これらのコンジュゲート体及び／または薬剤は、本明細書に記載されるコンジュゲート体及び／または薬剤のうちのいずれかのインビボ送達に有効であり得る。

【0152】

いくつかの実施形態では、コンジュゲート部分は、補体系の酵素によって切断することができない場合がある。例えば、コンジュゲート体及び／または薬剤は、補体活性化によって標的細胞が最終的に溶解されるため、補体活性化なしで放出される。そのような実施形態では、コンジュゲート体及び／または薬剤は、標的細胞に送達されることになる（例えば、ホルモン、酵素、コルチコステロイド、神経伝達物質、または遺伝子）。さらに、コンジュゲート部分は、血清プロテアーゼによる切断に軽度感受性であり得、コンジュゲート体及び／または薬剤は、標的部位でゆっくりと放出される。

20

【0153】

いくつかの実施形態では、コンジュゲート体及び／または薬剤は、コンジュゲート体及び／または薬剤が標的部位（例えば、疾患組織（例えば、がん組織））に送達されるが、コンジュゲート体及び／または薬剤が放出されないように設計され得る。

30

【0154】

いくつかの実施形態では、コンジュゲート体及び／または薬剤は、抗原結合ドメインと直接結合するか、またはアミノ酸（例えば、D-アミノ酸）、ペプチド、チオール含有部分、または本明細書に記載の方法によって抗原結合ドメインとの結合に後で利用することができる官能基を含むように修飾され得る他の有機化合物を介して結合され得る。

【0155】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、薬剤の少なくとも1つのコンジュゲーション点を含み得る。いくつかの実施形態では、全ての可能なコンジュゲーション点は、薬剤とのコンジュゲーションに利用可能である。いくつかの実施形態では、1つ以上のコンジュゲーション点には、ジスルフィド結合に関与する硫黄原子、鎖間ジスルフィド結合に関与する硫黄原子、鎖間スルフィド結合に関与する鎖内ジスルフィド結合に関与する硫黄原子ではない硫黄原子、及び／またはシステインもしくは硫黄原子を含む他のアミノ酸残基の硫黄原子が含まれ得る。そのような場合、残基は、タンパク質構築物構造内に天然に存在するか、または部位特異的変異誘発、化学変換、もしくは非天然アミノ酸の誤取り込みを含む方法を使用してタンパク質構築物に組み込まれ得る。

40

【0156】

本開示はまた、1つ以上のコンジュゲート剤と標的結合タンパク質を調製するための方法及び材料を提供する。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、1つ以上の鎖間ジスルフィド結合を含むように修飾され得る。例えば、ジスルフィド結合は、これらに

50

限定されないが、TCEP、DTT、またはβ-メルカプトエタノールなどの還元剤に曝露した後に還元され得る。いくつかの場合では、ジスルフィド結合の還元は、単に部分的であり得る。本明細書で使用される場合、部分的還元という用語は、標的結合タンパク質が還元剤と接触し、全ての可能なコンジュゲーション部位の一部が還元される（例えば、全てのジスルフィド結合が還元されるわけではない）状況を指す。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、還元剤との接触後に、全ての可能なコンジュゲーション部位の99%未満（例えば、98%、97%、96%、95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、または5%未満）が還元された場合に、部分的還元であり得る。いくつかの実施形態では、1つ以上の鎖間ジスルフィド結合の減少を有する標的結合タンパク質は、遊離チオールと反応する薬物とコンジュゲートされ得る。

10

【0157】

本開示はまた、治療剤を標的結合タンパク質上の特定の位置にコンジュゲートするための方法及び材料を提供する。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、治療剤が標的結合タンパク質上の特定の位置で標的結合タンパク質とコンジュゲートされ得るように修飾され得る。例えば、標的結合タンパク質は、標的結合タンパク質とのコンジュゲーションを容易にする方法で部分的に還元され得る。そのような場合、標的結合タンパク質の部分的還元は、標的結合タンパク質内のコンジュゲーション部位が還元されないように生じ得る。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質上のコンジュゲーション部位（複数可）は、タンパク質構築物上の特定の位置での薬剤のコンジュゲーションを容易にするように選択され得る。様々な因子が、還元剤による処理時に標的結合タンパク質の「還元レベル」に影響を及ぼし得る。例えば、限定されないが、還元剤の標的結合タンパク質に対する比率、インキュベーションの長さ、インキュベーション温度、及び／または還元反応溶液のpHは、本明細書に記載の方法及び材料を用いて標的結合タンパク質の部分的還元を達成するために最適化を必要とし得る。因子の任意の適切な組み合わせ（例えば、還元剤の標的結合タンパク質に対する比率、還元剤とのインキュベーションの長さ及び温度、及び／または還元剤のpH）を使用して、標的結合タンパク質の部分的還元（例えば、可能なコンジュゲーション部位の全般的な還元または特定のコンジュゲーション部位での還元）が達成され得る。

20

【0158】

還元剤の標的結合タンパク質に対する有効比率は、薬剤とのコンジュゲーションを可能にする様式で標的結合タンパク質を少なくとも部分的に還元する（例えば、可能なコンジュゲーション部位の全般的な還元または特定のコンジュゲーション部位での還元）任意の比率であり得る。いくつかの実施形態では、還元剤の標的結合タンパク質に対する比率は、約20:1～1:1、10:1～1:1、9:1～1:1、8:1～1:1、7:1～1:1、6:1～1:1、5:1～1:1、4:1～1:1、3:1～1:1、2:1～1:1、20:1～1:1.5、10:1～1:1.5、9:1～1:1.5、8:1～1:1.5、7:1～1:1.5、6:1～1:1.5、5:1～1:1.5、4:1～1:1.5、3:1～1:1.5、2:1～1:1.5、1.5:1～1:1.5、または1:1～1:1.5の範囲であり得る。

30

40

【0159】

還元剤で標的結合タンパク質を処理するための有効なインキュベーション時間及び温度は、薬剤の標的結合タンパク質とのコンジュゲーションを可能にする様式で標的結合タンパク質を少なくとも部分的に還元する（例えば、可能なコンジュゲーション部位の全般的な還元または特定のコンジュゲーション部位での還元）任意の時間及び温度であり得る。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質を処理するためのインキュベーション時間及び温度は、37℃で約1時間～37℃で約12時間（またはその中の任意の部分的な範囲）の範囲であり得る。

【0160】

還元剤で標的結合タンパク質を処理するための還元反応に有効なpHは、標的結合タン

50

パク質の薬剤とのコンジュゲーションを可能にする様式で標的結合タンパク質を少なくとも部分的に還元する（例えば、可能なコンジュゲーション部位の全般的な還元または特定のコンジュゲーション部位での還元）任意の pH であり得る。

【0161】

部分的に還元された標的結合タンパク質をチオールを含有する薬剤と接触させると、薬剤は、標的結合タンパク質中の鎖間チオールとコンジュゲートされ得る。薬剤は、チオール含有試薬（例えば、システインまたは N-アセチルシステイン）を用いて、チオールを含有するように修飾できる。例えば、標的結合タンパク質は、還元剤（例えば、TEPC）と約 37℃ で約 1 時間、還元剤の標的結合タンパク質に対する所望の比率でインキュベートした後、部分的に還元することができる。還元剤の標的結合タンパク質に対する有効比率は、チオール含有剤のコンジュゲーションを可能にする様式で標的結合タンパク質中に位置する少なくとも 2 つの鎖間ジスルフィド結合を部分的に還元する（例えば、可能なコンジュゲーション部位の全般的な還元または特定のコンジュゲーション部位での還元）任意の比率であり得る。

10

【0162】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、任意の鎖内ジスルフィド結合の還元を回避する様式で還元剤によって還元され得る。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、任意の鎖内ジスルフィド結合の還元を回避し、少なくとも 1 つの鎖間ジスルフィド結合を還元する様式で還元剤によって還元され得る。

【0163】

いくつかの実施形態では、薬剤（例えば、標的結合タンパク質とコンジュゲートされた薬剤）は、例えば、標識または他のマーカーなどの検出可能な部分であり得る。例えば、薬剤は、放射標識アミノ酸、マークされたアビジン（例えば、光学法または熱量測定法によって検出され得る蛍光マーカーまたは酵素活性を含むストレプトアビジン）によって検出され得る 1 つ以上のビオチニル部分、1 つ以上の放射性同位体もしくは放射性核種、1 つ以上の蛍光標識、1 つ以上の酵素標識、及び／または 1 つ以上の化学発光剤であり得るか、あるいはこれらを含み得る。いくつかの実施形態では、検出可能な部分は、スペーサー分子によって結合され得る。いくつかの実施形態では、検出可能な標識は、イメージング剤、造影剤、酵素、蛍光標識、発色団、色素、1 つ以上の金属イオン、またはリガンド系標識を含み得る。いくつかの実施形態では、イメージング剤は、放射性同位体を含み得る。いくつかの実施形態では、放射性同位体は、インジウムまたはテクネチウムであり得る。いくつかの実施形態では、造影剤は、ヨウ素、ガドリニウム、または酸化鉄を含み得る。いくつかの実施形態では、酵素は、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、または β -ガラクトシダーゼを含み得る。いくつかの実施形態では、蛍光標識は、黄色蛍光タンパク質（YFP）、シアン蛍光タンパク質（CFP）、緑色蛍光タンパク質（GFP）、修飾赤色蛍光タンパク質（mRFP）、赤色蛍光タンパク質 t 二量体 2（RFP t 二量体 2）、HCRED、またはユーロピウム誘導体を含み得る。いくつかの実施形態では、発光標識は、N-メチルアクリジウム誘導体を含み得る。いくつかの実施形態では、標識は、Alex Fluor（登録商標）680 または Alexa Fluor（登録商標）750 などの Alexa Fluor（登録商標）標識を含み得る。いくつかの実施形態では、リガンド系標識は、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジン、または 1 つ以上のハプテンを含み得る。

20

30

40

【0164】

検出可能な標識のさらなる例にはまた、様々な酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光物質、生体発光物質、及び放射性物質も含まれる。好適な酵素の例には、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼが含まれ、好適な補欠分子族複合体の例には、ストレプトアビジン／ビオチン及びアビジン／ビオチンが含まれ、好適な蛍光物質の例には、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリド、またはフィコエリスリンが含まれ、発光物質の例に

50

は、ルミノールが含まれ、生体発光物質の例には、ルシフェラーゼ、ルシフェリン、及びエクオリンが含まれ、好適な放射性物質の例には、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 、または ^3H が含まれる。

【0165】

いくつかの実施形態では、薬剤は、炭水化物部分、スルフヒドリル基、アミノ基、またはカルボキシレート基を使用して、標的結合タンパク質とコンジュゲートされ得る。いくつかの実施形態では、薬剤は、本明細書に記載のリンカー及び／またはCMを介して標的結合タンパク質とコンジュゲートされ得る。いくつかの実施形態では、薬剤は、標的結合タンパク質中のシステインまたはリジンとコンジュゲートされ得る。いくつかの実施形態では、薬剤は、本明細書に開示される残基などの標的結合タンパク質の別の残基とコンジュゲートされ得る。

10

【0166】

いくつかの実施形態では、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオール)プロピオネート(SPDP)、イミノチオラン(IT)、イミドエステルの二官能性誘導体(例えば、ジメチルアジピミデートHCL)、活性エステル(例えば、ジスクシンイミジルスベレート)、アルデヒド(例えば、グルタルアルデヒド)、ビス-アジド化合物(例えば、ビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサンジアミン)、ビス-ジアゾニウム誘導体(例えば、ビズ-(p-ジアゾニウムベンゾイル)エチレンジアミン)、ジイソシアネート(例えば、トルエン2,6-ジイソシアネート)、及びビス-活性フッ素化合物(例えば、1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン)を含む、様々な二官能性タンパク質結合剤を使用して、薬剤を標的結合タンパク質とコンジュゲートすることができる。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)に記載されているように調製することができる。いくつかの実施形態では、炭素-14-標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミンペンタ酢酸(MX-DTPA)キレート剤を使用して、放射性ヌクレオチドを標的結合タンパク質とコンジュゲートすることができる。(例えば、WO94/11026を参照されたい)。

20

【0167】

好適なコンジュゲーション部分には、文献に記載されているものが含まれる。(例えば、MBS(M-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステルの使用について記載しているRamakrishnan, S. et al., Cancer Res. 44:201-208 (1984)を参照されたい)。また、オリゴペプチドを介して標的結合タンパク質と結合したハロゲン化アセチルヒドラジド誘導体の使用について記載している米国特許第5,030,719号も参照されたい。いくつかの実施形態では、好適なコンジュゲーション部分には、(i)EDC(1-エチル-3-(3-ジメチルアミノ-プロピル)カルボジイミドハイドロクロライド、(ii)SMP(4-スクシンイミジルオキシカルボニル-アルファ-メチル-アルファ-(2-ピリジルジチオ)-トルエン(Pierce Chem. Co., カタログ(21558G)、(iii)SPDP(スクシンイミジル-6-[3-(2-ピリジルジチオ)プロピオンアミド]ヘキサノエート(Pierce Chem. Co., カタログ番号21651G)、(iv)スルホ-LC-SPDP(スルホスクシンイミジル6-[3-(2-ピリジルジチオ)-プロピアンアミド]ヘキサノエート(Pierce Chem. Co., カタログ番号2165-G)、及び(v)EDCとコンジュゲートしたスルホ-NHS(N-ヒドロキシスルホ-スクシンイミド:Pierce Chem. Co., カタログ番号24510)が含まれる。追加の例示的なコンジュゲーション部分には、SMCC、スルホ-SMCC、SPDB、及びスルホ-SPDBが含まれる。

30

40

【0168】

上記のコンジュゲーション部分は、異なる特質を有する構成成分を含み得、したがって、異なる生理化学的特性を有するコンジュゲート体をもたらす。例えば、アルキルカルボキシレートのスルホ-NHSエステルは、芳香族カルボキシレートのスルホ-NHSエ

50

テルよりも安定している。NHS-エステル含有リンカーは、スルホ-NHSエステルよりも可溶性が低い。さらに、SMP Tは、立体的に妨害されたジスルフィド結合を含み、増加した安定性を有するコンジュゲート体を形成することができる。ジスルフィド結合は、ジスルフィド結合がインビトロで切断されるため、一般的にその他の結合より安定性が低く、利用可能なコンジュゲート体を得られることが少ない。スルホ-NHSは、特に、カルボジイミド結合の安定性を高めることができる。カルボジイミド結合（例えば、EDC）をスルホ-NHSとコンジュゲートさせて使用する場合、カルボジイミド結合反応単独よりも、加水分解により抵抗性のあるエステルを形成する。

【0169】

当業者は、多種多様な可能な部分が本開示の標的結合タンパク質とコンジュゲートされ得ることを認識するであろう。（例えば、“Conjugate Vaccines”, Contributions to Microbiology and Immunology, J. M. Cruse and R. E. Lewis, Jr (eds), Carger Press, New York, (1989)（その全内容が参照により本明細書に組み込まれる）を参照されたい）。一般に、薬剤（例えば、細胞傷害性薬剤）の標的結合タンパク質との効果的なコンジュゲーションは、薬剤及び標的結合タンパク質が機能性を保持することを可能にしながら、薬剤を標的結合タンパク質と結合する任意の化学反応によって達成することができる。

【0170】

核酸及びベクター

いくつかの態様では、本開示は、標的結合タンパク質、またはその構成成分もしくは断片をコードする配列を含む核酸をさらに提供する。核酸は、標的結合タンパク質中の重鎖可変ドメイン、軽鎖可変ドメイン、TB、CM、MM、EM、及びリンカー（複数可）のコード配列を含み得る。標的結合タンパク質が複数のペプチドを含む場合（例えば、異なるペプチド上の複数のTB、または1つのTBが複数のペプチドを含む）、核酸は、複数のペプチドのコード配列を含み得る。いくつかの例では、ペプチドの1つのコード配列は、1つの核酸内に配置され、ペプチドの別の1つのコード配列は、別の核酸内に配置される。いくつかの例では、複数のペプチドのうちの2つ以上のコード配列は、同じ核酸内に配置される。本開示には、本明細書に記載のタンパク質またはその一部をコードするポリヌクレオチド、ならびにタンパク質を生産するため及び／または治療目的でのかかるポリヌクレオチドの使用が含まれる。かかるポリヌクレオチドは、本明細書に定義されるタンパク質をコードするDNA及びRNA分子（例えば、mRNA、自己複製RNA、自己増幅mRNAなど）を含み得る。本開示は、かかるポリヌクレオチドを含む組成物を含む。いくつかの態様では、かかる組成物は、治療的または予防的に使用され得る。

【0171】

別段の指定がない限り、「タンパク質をコードする核酸配列」は、互いの縮退バージョンであり、したがって同じアミノ酸配列をコードする全てのヌクレオチド配列を含む。「核酸」という用語は、一本鎖または二本鎖の形態の、デオキシリボ核酸（DNA）、またはリボ核酸（RNA）または、これらの組み合わせを意味する。特に限定されない限り、この用語は、参照ヌクレオチドと類似した結合特性を有する、天然のヌクレオチドの周知の類似体を含有する核酸を包含する。特に指定のない限り、特定の核酸配列はまた、明示的に示される配列に加えて相補的配列も暗に包含する。いくつかの実施形態では、核酸は、DNAである。いくつかの実施形態では、核酸は、RNAである。いくつかの実施形態では、核酸は、DNAとRNAの混合物またはハイブリッドを含む。

【0172】

「N末端に配置された」という用語は、ポリペプチド一次アミノ酸配列における第2のドメインまたは配列に対する第1のドメインまたは配列の位置を指す場合、第1のドメインがポリペプチド一次アミノ酸配列のN末端により近い位置に配置されていることを意味する。いくつかの実施形態では、第1のドメインまたは配列と第2のドメインまたは配列との間に追加の配列及び／またはドメインが存在し得る。「C末端に配置された」という

用語は、ポリペプチド一次アミノ酸配列における第2のドメインまたは配列に対する第1のドメインまたは配列の位置を指す場合、第1のドメインがポリペプチド一次アミノ酸配列のC末端により近い位置に配置されていることを意味する。いくつかの実施形態では、第1のドメインまたは配列と第2のドメインまたは配列との間に追加の配列及び／またはドメインが存在し得る。

【0173】

修飾は、部位特異的変異誘発及びポリメラーゼ連鎖反応（PCR）媒介変異誘発などの当該技術分野において既知の標準的な技術によってヌクレオチド配列に導入され得る。保存的アミノ酸置換とは、アミノ酸残基が、類似の側鎖を有するアミノ酸残基に置換されている置換である。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当該技術分野において定義されている。これらのファミリーには、酸性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アスパラギン酸及びグルタミン酸）、塩基性側鎖を有するアミノ酸（例えば、リジン、アルギニン、及びヒスチジン）、非極性アミノ酸（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、及びトリプトファン）、無電荷極性アミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、システイン、セリン、スレオニン及びチロシン）、親水性アミノ酸（例えば、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン、グルタミン酸、ヒスチジン、リジン、セリン及びスレオニン）、疎水性アミノ酸（例えば、アラニン、システイン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、トリプトファン、チロシン、及びバリン）が含まれる。アミノ酸の他のファミリーには、脂肪族ヒドロキシアミノ酸（例えば、セリン及びスレオニン）、アミドファミリー（例えば、アスパラギン及びグルタミン）、脂肪族ファミリー（例えば、アラニン、バリン、ロイシン及びイソロイシン）、ならびに芳香族ファミリー（例えば、フェニルアラニン、トリプトファン、及びチロシン）が含まれる。

【0174】

本開示は、本明細書に記載の核酸のいずれかを含むベクター及びベクターのセットをさらに提供する。当業者は、本明細書に記載の標的結合タンパク質のいずれかを作製するための好適なベクターまたはベクターのセット（例えば、発現ベクター）を選択し、ベクターまたはベクターのセットを使用して、本明細書に記載の標的結合タンパク質のいずれかを発現することができるであろう。例えば、ベクターまたはベクターのセットを選択する際に、ベクター（複数可）が細胞の染色体に組み込まれ、及び／またはその中で複製することができるように、細胞の種類を選択することができる。標的結合タンパク質を産生するために使用され得る例示的なベクターもまた、本明細書に記載される。本明細書で 사용되는場合、「ベクター」という用語は、細胞内（例えば、本明細書に記載される細胞のいずれか）で、組換えタンパク質（例えば、第1のまたは第2のモノマー）の発現を誘導できるポリヌクレオチドを意味する。「ベクター」は、宿主細胞内に核酸及びそれらの断片を送達することができ、制御配列（例えば、プロモータ、エンハンサ、ポリ（A）シグナル）を含む。外因性ポリヌクレオチドは、発現させるために発現ベクターに挿入され得る。「ベクター」という用語はまた、人工染色体、プラスミド、レトロウイルス、及びバキュロウイルスベクターも包含する。

【0175】

本明細書に記載の核酸のいずれかを含み、細胞（例えば、哺乳動物細胞）を形質転換するのに好適である適切なベクターを構築する方法は、当該技術分野で周知である。例えば、Sambrook et al., Eds., "Molecular Cloning: A Laboratory Manual," 2nd Ed., Cold Spring Harbor Press, 1989、及びAusubel et al., Eds., "Current Protocols in Molecular Biology," Current Protocols, 1993を参照されたい。

【0176】

ベクターの例には、プラスミド、トランスポゾン、コスミド、及びウイルスベクター（例えば、任意のアデノウイルスベクター（例えば、pSVまたはpCMVベクター）、ア

デノ随伴ウイルス（A A V）ベクター、レンチウイルスベクター、及びレトロウイルスベクター）、及び任意の Gateway（登録商標）ベクターが含まれる。ベクターは、例えば、発現のための十分なシス作用要素を含み得、発現のための他の要素は、宿主哺乳動物細胞によって、またはインビトロ発現系において供給され得る。当業者は、本明細書に記載される任意の標的結合タンパク質を作製するために好適なベクター及び哺乳動物細胞を選択することができるであろう。

【0177】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、組換えDNA技術及び真核生物または原核生物種における発現を使用して生合成的に作製され得る。

【0178】

細胞

いくつかの態様では、本開示は、本明細書に記載のベクターまたは核酸のいずれかを含む宿主細胞を提供する。細胞を使用して、本明細書に記載の標的結合タンパク質が産生され得る。いくつかの実施形態では、細胞は、動物細胞、哺乳動物細胞（例えば、ヒト細胞）、げっ歯類細胞（例えば、マウス細胞、ラット細胞、ハムスター細胞、またはモルモット細胞）、非ヒト霊長類細胞、昆虫細胞、細菌細胞、真菌細胞、または植物細胞であり得る。いくつかの実施形態では、細胞は、真核細胞であり得る。本明細書で使用する場合、「真核細胞」という用語は、異なる、膜結合性の核を有する細胞を意味する。このような細胞としては、例えば、哺乳動物（例えば、げっ歯類、非ヒト霊長類、またはヒト）、昆虫、真菌、または植物の細胞が含まれ得る。いくつかの実施形態では、真核細胞は、酵母細胞、例えば *Saccharomyces cerevisiae* である。いくつかの実施形態では、真核細胞は、より高等な真核生物、例えば哺乳動物、トリ、植物または昆虫の細胞である。哺乳動物細胞の非限定例には、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞及びヒト胎児腎細胞（例えば、HEK293細胞）が含まれる。いくつかの実施形態では、細胞は、原核細胞であり得る。

【0179】

核酸及びベクター（例えば、本明細書に記載のベクターのいずれかまたはベクターのセットのいずれか）を細胞に導入する方法は、当該技術分野において既知である。核酸を細胞に導入するために使用することができる方法の例には、リポフェクション、トランスフェクション、リン酸カルシウムトランスフェクション、カチオン性ポリマートランスフェクション、ウイルス形質導入（例えば、アデノウイルス形質導入、レンチウイルス形質導入）、ナノ粒子トランスフェクション、及びエレクトロポレーションが含まれる。

【0180】

いくつかの実施形態では、導入工程は、本明細書に記載の任意の標的結合タンパク質を構成するモノマーをコードする核酸を含むベクター（例えば、本明細書に記載の任意のベクターまたはベクターのセット）を細胞に導入することを含む。

【0181】

組成物及びキット

本開示はまた、本明細書に記載の標的結合タンパク質を含む組成物及びキットを提供する。組成物及びキットは、標的結合タンパク質の使用に必要な1つ以上の賦形剤、担体、試薬、説明書をさらに含み得る。

【0182】

いくつかの実施形態では、組成物は、標的結合タンパク質、その誘導体、断片、類似体、及び相同体を含む薬学的組成物であり得る。薬学的組成物は、標的結合タンパク質及び薬学的に許容される担体を含み得る。本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体」という用語は、薬学的投与に適合する任意の及び全ての溶媒、分散媒、コーティング剤、抗菌剤及び抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤などを含むことが意図される。好適な担体は、当該分野における標準的な参考文献である、Remington's Pharmaceutical Sciencesの最新版に記載されており、これは、参照により本明細書に組み込まれる。かかる担体または希釈剤の好適な例には、水、生理食塩水、

10

20

30

40

50

リンガー溶液、デキストロース溶液、及び5%ヒト血清アルブミンが含まれる。リポソーム及び固定油などの非水性ビヒクルが用いられてもよい。薬学的活性物質に対するこのような媒体及び薬剤の使用は、当該技術分野において周知である。任意の従来の媒体または薬剤が活性化合物と不適合でない限り、組成物におけるそれらの使用が想定される。補足的活性化合物を組成物に組み込むこともできる。

【0183】

薬学的組成物は、その意図される投与経路と適合するように製剤化され得る。投与経路の例としては、非経口、例えば、静脈内、皮内、皮下、経口（例えば、吸入）、経皮（例えば、局所）、経粘膜、及び直腸投与が挙げられる。非経口、皮内、もしくは皮下適用に使用される溶液または懸濁液は、以下の構成成分：注射用水、生理食塩水、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、または他の合成溶媒などの滅菌希釈剤、ベンジルアルコールまたはメチルパラベンなどの抗菌剤、アスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムなどの抗酸化剤、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）などのキレート剤、酢酸、クエン酸、またはリン酸などの緩衝液、及び塩化ナトリウムまたはデキストロースなどの浸透圧の調整のための薬剤のうちの1つ以上を含み得る。PHは、塩酸または水酸化ナトリウムなどの酸または塩基で調節することができる。非経口調製物は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨てシリンジ、または複数用量バイアルに封入され得る。いくつかにおいて、本明細書に記載の標的結合タンパク質のいずれかは、体からの急速な排除から保護する担体、例えば、インプラント及びマイクロカプセル化送達系を含む、徐放性放出及び制御放出製剤とともに調製される。生分解性、生体適合性ポリマー、例えば、エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、及びポリ乳酸を使用することができる。かかる薬学的組成物及び製剤の調製方法は、当業者には明らかである。例えば、標的結合タンパク質は、例えば、コアセルベーション技法によって、または界面重合によって調製されたマイクロカプセル、例えば、それぞれ、ヒドロキシメチルセルロースもしくはゼラチン-マイクロカプセル及びポリ（メチルメタクリレート）マイクロカプセル、コロイド薬物送達系（例えば、リポソーム、アルブミンマイクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子、及びナノカプセル）、またはマクロエマルジョン中に封入され得る。

【0184】

徐放性放出調製物が調製され得る。徐放性放出調製物の好適な例としては、抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスが挙げられ、これらのマトリックスは、成形物品、例えば、フィルム、またはマイクロカプセルの形態である。徐放性マトリックスの例としては、ポリエステル、ヒドロゲル（例えば、ポリ（2-ヒドロキシエチル-メタクリレート）、またはポリ（ビニルアルコール））、ポリラクチド、L-グルタミン酸及びγ-エチル-L-グルタミン酸のコポリマー、非分解性エチレン-酢酸ビニル、分解性乳酸-グリコール酸コポリマー（例えば、乳酸-グリコール酸コポリマー及び酢酸ロイプロリドで構成される注射用マイクロスフェア）、及びポリ-D-（-）-3-ヒドロキシ酪酸が含まれる。エチレン-酢酸ビニル及び乳酸-グリコール酸などのポリマーが100日超の間にわたる分子の放出を可能にする一方で、ある特定のヒドロゲルは、より短い期間にわたってタンパク質を放出する。

【0185】

いくつかの実施形態では、注射用の使用に好適な薬学的組成物は、滅菌水溶液（水溶性の場合）または分散液、及び滅菌注射用溶液または分散液を即時に調製するための滅菌粉末を含む。静脈内投与の場合、好適な担体には、生理学的生理食塩水、静菌性水、Cremophor EL[□]（BASF, Parsippany, N. J.）、またはリン酸塩緩衝生理食塩水（PBS）が含まれる。組成物は、滅菌されてもよく、容易な注射可能な状態が存在する程度に、流動性であるべきである。それは、製造及び保管の条件下で安定しており、細菌及び真菌などの微生物の汚染作用から保護され得る。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、及び液体ポリエチレングリコールなど）、及びそれらの好適な混合物を含有する溶媒または分散媒体

であり得る。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングの使用によって、分散体の場合に必要な粒子サイズの維持によって、及び界面活性剤の使用によって維持することができる。微生物の作用の防止は、様々な抗菌剤及び抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどによって達成される。いくつかの実施形態では、等張剤、例えば、糖、ポリアルコール、例えば、マンニトール、ソルビトール、及び塩化ナトリウムが、組成物に含まれ得る。注射用組成物の長期的な吸収は、組成物に吸収を遅らせる薬剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンを含めることによってもたらされ得る。

【0186】

いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、滅菌注射用溶液を含み得る。滅菌注射用溶液は、必要に応じて、上に列挙される成分のうちの1つまたは組み合わせとともに、必要な量の活性化合物を適切な溶媒中に組み込み、続いて濾過滅菌を行うことによって調製することができる。概して、分散液は、活性化合物を基本的な分散媒体及び上記に列挙されたものからの必要な他の成分を含む滅菌ビヒクルに組み込むことによって調製され得る。滅菌注射用溶液を調製するための滅菌粉末の場合、調製方法は、真空乾燥及び凍結乾燥であり、これにより、活性成分の粉末に加えて、事前に滅菌濾過されたその溶液から任意の追加の所望の成分が得られる。

【0187】

いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、経口組成物を含み得る。経口組成物は、不活性希釈剤または食用担体を含み得る。それらは、ゼラチンカプセルに封入されるか、または錠剤に圧縮され得る。経口治療投与の目的のため、活性化合物は、賦形剤とともに組み込まれ、錠剤、トローチ、またはカプセルの形態で使用され得る。経口組成物はまた、口腔洗浄薬として使用するために流体担体を使用して調製することもでき、化合物を含む流体担体を口に注ぎ、ゆすいで、吐き出すかまたは飲み込む。薬学的に適合性の結合剤及び／またはアジュバント物質は、組成物の一部として含むことができる。錠剤、ピル、カプセル、トローチなどは、以下の成分：微結晶性セルロース、トラガカントゴム、もしくはゼラチンなどの結合剤、デンプンもしくはラクトースなどの賦形剤、アルギン酸、プリモゲル（Primogel）、もしくはコーンスターチなどの崩壊剤、ステアリン酸マグネシウムもしくはステロート（Sterote）などの滑潤剤、コロイド状二酸化ケイ素などの流動促進剤、スクロースもしくはサッカリンなどの甘味剤、またはペパーミント、サリチル酸メチル、もしくはオレンジ風味などの風味剤のうちのいずれか、あるいは類似の性質の化合物を含有し得る。

【0188】

いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、吸入による投与のために製剤化され得る。例えば、化合物は、好適な噴霧剤、例えば、二酸化炭素などのガスを含む加圧容器もしくはディスペンサー、またはネブライザーからエアロゾルスプレーの形態で送達され得る。

【0189】

いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、全身投与のために製剤化され得る。例えば、全身投与は、静脈内投与であってもよく、経粘膜または経皮投与であってもよい。経粘膜または経皮投与のために、浸透させるバリアに適した浸透剤が製剤に使用され得る。そのような浸透剤は、概して、当該技術分野において既知であり、例えば、経粘膜投与のために、洗浄剤、胆汁酸塩、及びフシジン酸誘導体を含む。経粘膜投与は、鼻スプレーまたは坐剤の使用によって達成することができる。経皮投与のために、活性化合物は、概して、当該技術分野において既知であるように、軟膏、膏薬、ゲル、またはクリームに製剤化され得る。

【0190】

いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、直腸送達のための坐剤（例えば、カカオバター及び他のグリセリドなどの従来の坐剤基剤を用いて）または停留浣腸の形態で調製され得る。

【0191】

一実施形態では、薬学的組成物は、インプラント及びマイクロカプセル化送達系を含む制御放出製剤などの、体からの急速な排除から化合物を保護する担体とともに調製され得る。生分解性、生体適合性ポリマー、例えば、エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、及びポリ乳酸を使用することができる。かかる製剤の調製方法は、当業者に明らかであろう。

【0192】

投与の容易さ及び投薬量の均一性のために、経口または非経口組成物を投薬単位形態で製剤化することが有利であり得る。本明細書で使用される投薬単位形態とは、治療される対象に対する単位投薬量として好適な物理的に別個の単位を指し、各単位は、必要な薬学的担体と関連して所望の治療効果を生じるように計算された所定量の活性化合物を含有する。本開示の投薬単位形態の仕様は、活性化合物の独自の特性及び達成される特定の治療効果、ならびに個体の治療のためにそのような活性化合物を配合する当技術分野に固有の制限によって決定され、直接依存し得る。

【0193】

いくつかの実施形態では、組成物（例えば、薬学的組成物）は、任意に投与のための説明書と一緒に、容器、バイアル、シリンジ、インジェクタペン、パック、またはディスプレイ中に含まれ得る。

【0194】

また、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載の標的結合タンパク質のいずれか、本明細書に記載の標的結合タンパク質のいずれかを含む組成物のいずれか、または本明細書に記載の標的結合タンパク質のいずれかを含む薬学的組成物のいずれかを含むキットである。また、本明細書に記載の標的結合タンパク質に加えて、1つ以上の第2の治療剤（複数可）を含むキットも提供される。第2の治療剤（複数可）は、標的結合タンパク質から分離した投薬形態で提供され得る。代替的に、第2の治療剤（複数可）は、標的結合タンパク質と一緒に製剤化され得る。

【0195】

本明細書に記載のキットのいずれも、組成物（例えば、薬学的組成物）のいずれか及び／または本明細書に記載の標的結合タンパク質のいずれかを使用するための説明書を含み得る。いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載の方法のいずれかを実施するための説明書を含むことができる。いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載される組成物（例えば、薬学的組成物）のいずれかの少なくとも1用量を含むことができる。いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載される薬学的組成物のいずれかを投与するためのシリンジを提供することができる。

【0196】

また、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載の方法のいずれかによって産生された標的結合タンパク質である。また、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載の方法のいずれかによって産生された標的結合タンパク質のいずれかを含む組成物（例えば、薬学的組成物）である。また、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載の組成物（例えば、薬学的組成物）のいずれかの少なくとも1用量を含むキットである。

【0197】

標的結合タンパク質を産生する方法

本明細書に提供されるのは、（a）標的結合タンパク質を産生するのに十分な条件下で、本明細書に記載の組換え宿主細胞のいずれかを液体培養培地中で培養することと、（b）宿主細胞及び／または液体培養培地から標的結合タンパク質を回収することと、を含む、本明細書に記載の任意の標的結合タンパク質を産生する方法である。

【0198】

細胞を培養する方法は、当該技術分野において周知である。いくつかの実施形態では、細胞は、細胞増殖、細胞分化、及び細胞成長に有利な条件下でインビトロで維持され得る。例えば、細胞は、細胞（例えば、本明細書に記載される細胞のいずれか）を、細胞生存率及び成長を支持するのに十分な必要な成長因子及び栄養補助剤を含む細胞培養培地と接

10

20

30

40

50

触させることによって培養され得る。

【0199】

いくつかの実施形態では、方法は、回収された標的結合タンパク質を単離することをさらに含み得る。標的結合タンパク質の単離は、任意のタンパク質分離または精製技術を使用して実施することができ、例えば、単離方法の例としては、タンパク質精製タグ（例えば、Hisタグ）を使用した単離、硫酸アンモニウム沈殿、ポリエチレングリコール沈殿、サイズ排除クロマトグラフィー、リガンド-親和性クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー（例えば、アニオンまたはカチオン）、及び疎水性相互作用クロマトグラフィーが挙げられる。

【0200】

本明細書に記載の組成物及び方法は、標的結合タンパク質のMMとTBとの間にジスルフィド結合を形成することを可能にする非還元条件または部分的還元条件の使用を伴い得る。

【0201】

いくつかの実施形態では、方法は、単離された標的結合タンパク質を薬学的組成物に製剤化することをさらに含む。様々な製剤が、当該技術分野において既知であり、本明細書に記載される。本明細書に記載の任意の単離された標的結合タンパク質は、任意の投与経路（例えば、静脈内、腫瘍内、皮下、皮内、経口（例えば、吸入）、経皮（例えば、局所）、経粘膜、または筋肉内）用に製剤化することができる。

【0202】

標的結合タンパク質を使用する方法

いくつかの態様では、本開示は、本明細書の標的結合タンパク質を使用する方法をさらに提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、治療有効量の本明細書に記載の標的結合タンパク質のいずれかを対象に投与することを含む、対象の疾患（例えば、がん（例えば、本明細書に記載のがんのいずれか））を治療する方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、治療有効量の本明細書に記載の標的結合タンパク質を、それを必要とする対象に投与することによって、対象における疾患を予防する、その進行を遅延させる、治療する、症状を緩和する、または改善する方法を提供する。「治療」という用語は、障害の少なくとも1つの症状を改善することを意味する。障害は、がん、自己免疫疾患、感染症、慢性炎症、または移植拒絶反応（例えば、腎臓、肝臓、または心臓移植における）であり得る。いくつかの実施形態では、治療される障害は、がん、自己免疫疾患（例えば、1型糖尿病、リウマチ性関節炎（RA）、乾癬／乾癬性関節炎、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、炎症性腸疾患（例えば、クローン病、潰瘍性大腸炎）、アジソン病、グレーブス病、シェーグレン症候群、橋本甲状腺炎、重症筋無力症、自己免疫性血管炎、悪性貧血、セリアック病）、または感染性疾患（例えば、水痘、風邪、ジフテリア、E.coli、ジアルジア、HIV/AIDS、伝染性単核球症、インフルエンザ（Influenza）（インフルエンザ（flu））、ライム病、マラリア、麻疹、髄膜炎、ムンプス、灰白髄炎（ポリオ）、肺炎、ロッキーマウンテン斑点発熱、三日風疹（風疹）、サルモネラ感染症、重症急性呼吸器症候群（SARS）、性感染性疾患、帯状疱疹（帯状ヘルペス）、テタヌス、毒素性ショック症候群、結核病、ウイルス性肝炎、ウエストナイルウイルス、百日咳（Whooping cough）（百日咳（pertussis））であり、治療は、がん、自己免疫疾患、または感染性疾患の少なくとも1つの症状を改善することである。

【0203】

本明細書で使用される場合、「対象」という用語は、任意の哺乳動物を指す。いくつかの実施形態では、対象は、ネコ科動物（例えば、ネコ）、イヌ科動物（例えば、イヌ）、ウマ科動物（例えば、ウマ）、ウサギ、ブタ、げっ歯類（例えば、マウス、ラット、ハムスター、またはモルモット）、非ヒト霊長類（例えば、類人猿（例えば、サル（例えば、ヒヒ、マーモセット）、もしくは尾なし類人猿（例えば、チンパンジー、ゴリラ、オランウータン、またはテナガザル））、またはヒトである。いくつかの実施形態では、対象は

10

20

30

40

50

、ヒトである。対象及び患者という用語は、本明細書では互換的に使用される。いくつかの実施形態では、対象は、疾患（例えば、がん（例えば、本明細書に記載のがんのいずれか））を有すると、予め特定されているか、または診断されている。

【0204】

いくつかの実施形態では、対象は、哺乳動物細胞（例えば、本明細書に記載の哺乳動物細胞のいずれか）におけるHER2の発現及び／または活性を増加させるHER2遺伝子中の変異を有するものとして識別され得る。例えば、哺乳動物細胞におけるHER2の発現及び／または活性を増加させるHER2遺伝子中の変異は、遺伝子重複、1つ以上のアミノ酸置換（例えば、G309A、G309E、S310F、R678Q、L755S、L755W、I767M、D769H、D769Y、V777L、Y835F、V842I、R896C、及びG1201Vからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換）（野生型タンパク質と比較して）を有するHER2の発現をもたらす変異であり得る。例えば、Weigel et al. and Reis-Filho, Cancer Discov. 2013, 3(2):145-147を参照されたい。

10

【0205】

対象におけるHER2関連疾患を検出する方法の非限定的な例としては、免疫組織化学、蛍光インサイチュハイブリダイゼーション（FISH）、発色インサイチュハイブリダイゼーション（CISH）が挙げられる。例えば、Yan et al., Cancer Metastasis Rev. 2015, 34:157-164を参照されたい。

【0206】

本開示の標的結合タンパク質の治療有効量は、概して、治療目的を達成するために必要な量に関連する。上述したように、これは抗体とその標的抗原との間の結合相互作用であり得、これは、ある特定の場合では、標的の機能に干渉する。投与に必要な量は、さらに、その特異的標的に対する標的結合タンパク質の結合親和性に依存し、投与された標的結合タンパク質が、それが投与される他の対象の自由体積から枯渇する速度にも依存することになる。本開示の標的結合タンパク質の治療有効投与量の一般的な範囲は、非限定的な例として、約0.001、0.01、0.1、0.3、0.5、0.7、0.8、0.9、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50mg/kg体重以上であり得る。本開示の標的結合タンパク質の構造は、従来の標的結合タンパク質と比較して、かつ従来の抗体と比較して、対象に投与される標的結合タンパク質の投与量を低減することを可能にする。例えば、単位投薬量ベースでの投与用量または投与レジメン期間にわたる総用量は、対応する従来の標的結合タンパク質または対応する従来の抗体の対応する用量と比較して、10、20、30、40、または50%減少し得る。

20

30

【0207】

一般的な投薬頻度は、例えば、1日1回もしくは2回、毎週、隔週、または毎月などの範囲であり得る。

【0208】

治療の有効性は、特定の障害を診断または治療するための任意の既知の方法と関連して決定される。所望の特異性を有する標的結合タンパク質をスクリーニングする方法としては、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）及び当該技術分野において既知の他の免疫学的に媒介される技術が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0209】

別の実施形態では、2つ以上の標的に向けられた標的結合タンパク質が、標的の局在化及び／または定量化に関連する当該技術分野で既知の方法で使用される（例えば、適切な生理学的試料内の1つ以上の標的のレベルの測定に使用するため、診断方法に使用するため、タンパク質のイメージングに使用するためなど）。所与の実施形態では、抗体由来の抗原結合ドメインを含む、2つ以上の標的に向けられた標的結合タンパク質、またはその誘導体、断片、類似体、もしくは相同体は、薬理学的に活性な化合物（以下、「治療剤」と称する）として利用される。

50

【0210】

これらの方法及び使用の実施形態のいずれかで使用された標的結合タンパク質は、疾患の任意の段階で投与され得る。例えば、そのような標的結合タンパク質は、初期段階から転移段階まで、任意の段階のがんに罹患している患者に投与され得る。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質及びその製剤は、異常な標的発現及び／または活性に関連する疾患または障害に罹患しているか、または罹患しやすい対象に投与され得る。

【0211】

異常な標的発現及び／または活性に関連する疾患または障害に罹患しているか、または罹患しやすい対象は、当該技術分野において既知の様々な方法のいずれかを使用して特定され得る。例えば、がんまたは他の腫瘍性状態に罹患している対象は、健康状態を評価するために、身体検査、ならびに血液、尿、及び／または便分析などの様々な臨床検査及び／または実験室検査のいずれかを使用して特定され得る。例えば、炎症及び／または炎症性障害に罹患している対象は、健康状態を評価するために、身体検査及び／または体液分析、例えば、血液、尿、及び／または便分析などの様々な臨床検査及び／または実験室検査のいずれかを使用して使用して特定され得る。

10

【0212】

いくつかの実施形態では、異常な標的発現及び／または活性に関連する疾患または障害に罹患している患者への標的結合タンパク質の投与は、様々な実験室または臨床目的のいずれかが達成された場合、成功したとみなされ得る。例えば、異常な標的発現及び／または活性に関連する疾患または障害に罹患している患者への標的結合タンパク質の投与は、疾患または障害に関連する症状の1つ以上が、緩和、軽減、阻害されるか、またはさらなる、すなわち、より悪い状態に進行しない場合、成功したとみなされ得る。異常な標的発現及び／または活性に関連する疾患または障害に罹患している患者への標的結合タンパク質の投与は、疾患または障害が寛解に入るか、またはさらなる、すなわち、より悪い状態に進行しない場合、成功したとみなされ得る。

20

【0213】

本明細書で使用される場合、「治療」という用語は、対象（例えば、本明細書に記載される対象のいずれか）において、疾患（例えば、がん（例えば、本明細書に記載されるがんのいずれか））の重症度、頻度または、1つ以上（例えば、1、2、3、4または5つ）の症状もしくは兆候の数を低減することを含む。疾患ががんであるいくつかの実施形態では、治療によって、がんを有する対象における、がん増殖の低減、がん進行の阻害、がん転移の阻害、またはがん再発のリスク低減がもたらされる。

30

【0214】

いくつかの実施形態では、疾患は、がんであり得る。いくつかの実施形態では、対象は、がんを有すると特定されているまたは診断されている可能性がある。がんの例には、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、神経膠芽腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、リンパ腫（例えば、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫）、白血病（例えば、有毛細胞白血病、慢性リンパ性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、急性リンパ性白血病（ALL））、骨髄異形成症候群（MDS）、カポジ肉腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃及び食道癌、膵臓癌、前立腺癌、脳癌、結腸癌、骨癌、肺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、鼻咽頭腺癌、非小細胞肺癌（NSCLC）、頭頸部扁平上皮癌、子宮内膜癌、膀胱癌、子宮頸癌、肝臓癌、及び肝細胞癌が含まれる。いくつかの実施形態では、がんは、リンパ腫である。いくつかの実施形態では、リンパ腫は、バーキットリンパ腫である。いくつかの態様では、対象は、家族性癌症候群、例えばリフラウメニ症候群、家族性乳癌－卵巣癌（BRCA1またはBRCA2の変異）症候群などを有すると特定されているか、あるいは診断されている。開示される方法は、非固形癌の治療にも有用である。例示的な固形腫瘍としては、各種の臓器系、例えば肺、乳房、リンパ系、消化管（例えば、結腸）、泌尿生殖器（例えば、腎臓、尿路上皮、または精巣の腫瘍）、咽頭、前立腺、及び卵巣などの悪性腫瘍（

40

50

例えば、肉腫、腺癌及び癌腫）が挙げられる。例示的な腺癌には、結腸直腸癌、腎細胞癌、肝臓癌、肺の非小細胞癌、及び小腸の癌が含まれる。本明細書の組成物及び方法によって治療され得るがんのさらなる例には、急性リンパ性白血病、成人；急性リンパ性白血病、小児；急性骨髄性白血病、成人；副腎皮質癌；副腎皮質癌、小児；AIDS-関連リンパ腫；AIDS-関連悪性腫瘍；肛門癌；星状細胞腫、小児小脳；星状細胞腫、小児大脳；胆管癌、肝臓外；膀胱癌；膀胱癌、小児；骨癌、骨肉腫／悪性線維性組織球腫；脳幹神経膠腫、小児；脳腫瘍、成人；脳腫瘍、脳幹神経膠腫、小児；脳腫瘍、小脳星細胞腫、小児；脳腫瘍、大脳星細胞腫／悪性神経膠腫、小児；脳腫瘍、上衣腫、小児；脳腫瘍、髄芽腫、小児；脳腫瘍、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、小児；脳腫瘍、視覚経路及び視床下部神経膠腫、小児；脳腫瘍、小児（他）；乳癌；乳癌及び妊娠；乳癌、小児；乳癌、男性；気管支腺腫／カルチノイド、小児；カルチノイド腫瘍、小児；カルチノイド腫瘍、胃腸；細胞腫、副腎皮質；細胞腫、島細胞；原発不明癌；中枢神経系リンパ腫、原発性；小脳星細胞腫、小児；大脳星細胞腫／悪性神経膠腫、小児；子宮頸癌；小児癌；慢性リンパ性白血病；慢性骨髄性白血病；慢性骨髄増殖性疾患；腱鞘の明細胞肉腫；結腸癌；結腸直腸癌、小児；皮膚T細胞リンパ腫；子宮内膜癌；上衣腫、小児；上皮癌、卵巢；食道癌；食道癌、小児；ユーイング腫瘍ファミリー；頭蓋外胚細胞腫瘍、小児；性腺外胚細胞腫瘍；肝外胆管癌；眼癌、眼内黒色腫；眼癌、網膜芽細胞腫；胆嚢癌；胃（G a s t r i c）（胃（S t o m a c h））癌；胃（胃）癌、小児；消化管カルチノイド腫瘍；胚細胞性腫瘍、頭蓋外、小児；胚細胞腫瘍、性腺外；胚細胞腫瘍、卵巢；妊娠性絨毛性腫瘍；神経膠腫、小児脳幹；神経膠腫、小児視覚経路及び視床下部；ヘアリーセル白血病；頭頸部癌；肝細胞性（肝臓）癌、成人（原発性）；肝細胞性（肝臓）癌、小児（原発性）；ホジキンリンパ腫、成人；ホジキンリンパ腫、小児；妊娠中のホジキンリンパ腫；下咽頭癌；視床下部及び視覚経路神経膠腫、小児；眼球内黒色腫；脾島細胞癌（脾島）；カボジ肉腫；腎癌；喉頭癌；喉頭癌、小児；白血病、急性リンパ性白血病、成人；白血病、急性リンパ性白血病、小児；白血病、急性骨髄性白血病、成人；白血病、急性骨髄性白血病、小児；白血病、慢性リンパ性；白血病、慢性骨髄性；白血病、有毛細胞；口唇及び口腔癌；肝臓癌、成人（原発性）；肝臓癌、小児（原発性）；肺癌、非小細胞；肺癌、小細胞；リンパ性白血病、成人急性；リンパ芽球性白血病、小児急性；リンパ性白血病、慢性；リンパ腫、AIDS-関連；リンパ腫、中枢神経系（原発性）；リンパ腫、皮膚T細胞；リンパ腫、ホジキンリンパ腫、成人；リンパ腫、ホジキンリンパ腫、小児；妊娠中のリンパ腫、ホジキンリンパ腫；リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、成人；リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、小児；妊娠中のリンパ腫、非ホジキンリンパ腫；リンパ腫、原発性中枢神経系；マクログロブリン血症、ワルデンストレーム病、男性乳癌；悪性中皮腫、成人；悪性中皮腫、小児；悪性胸腺腫；髄芽腫、小児；悪性黒色腫；悪性黒色腫、眼内；メルケル細胞癌；中皮腫、悪性；原発不明の転移性頸部扁平上皮癌；多発性内分泌腫瘍症候群、小児；多発性骨髄腫／形質細胞腫瘍；菌状息肉症；骨髄異形成症候群；骨髄性白血病、慢性；骨髄性白血病、小児急性；骨髄腫、多発性；骨髄増殖性疾患、慢性；鼻腔及び副鼻腔癌；上咽頭癌；上咽頭癌、小児；神経芽細胞腫；非ホジキンリンパ腫、成人；非ホジキンリンパ腫、小児；妊娠中の非ホジキンリンパ腫；非小細胞肺癌；口腔癌、小児；口腔及び口唇癌；中咽頭癌；骨肉腫／骨の悪性線維性組織球腫；卵巢癌、小児；卵巢上皮癌；卵巢胚細胞腫瘍；卵巢低悪性度腫瘍；脾癌；脾癌、小児；脾癌、島細胞；副鼻腔及び鼻腔癌；副甲状腺癌；陰莖癌；褐色細胞腫；松果体及びテント上原始神経外胚葉性腫瘍、小児；下垂体腫瘍；形質細胞腫瘍／多発性骨髄腫；胸膜肺芽腫；妊娠及び乳癌；妊娠及びホジキンリンパ腫；妊娠及び非ホジキンリンパ腫；原発性中枢神経系リンパ腫；原発性肝臓癌、成人；原発性肝臓癌、小児；前立腺癌；直腸癌；腎細胞（腎臓）癌；腎細胞癌、小児；腎盂及び尿管、移行上皮癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫、小児；唾液腺癌；唾液腺癌、小児；肉腫、ユーイング腫瘍ファミリー；肉腫、カボジ肉腫；肉腫（骨肉腫）／骨の悪性線維性組織球腫；肉腫、横紋筋肉腫、小児；肉腫、軟部組織、成人；肉腫、軟部組織、小児；セザリー症候群；皮膚癌；皮膚癌、小児；皮膚癌（黒色腫）；皮膚癌、メルケル細胞；小細胞肺癌；小腸癌；軟部組織肉腫、成人；軟部組織肉腫、小児；原発不明の頸部扁平上皮癌、転移性；胃（胃）

10

20

30

40

50

癌；胃（胃）癌、小児；テント上原始神経外胚葉性腫瘍、小児；T細胞リンパ腫、皮膚；精巣癌；胸腺腫、小児；胸腺腫、悪性；甲状腺癌；甲状腺癌、小児；腎盂及び尿管の移行上皮癌；絨毛性腫瘍、妊娠性；原発部位不明、小児がん；小児の珍しいがん；尿管及び腎盂、移行上皮癌；尿道癌；子宮肉腫；陰癌；視覚経路及び視床下部神経膠腫、小児；外陰癌；ワルデンストレーママクログロブリン血症；ウィルムス腫瘍；びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）；ならびにマントル細胞リンパ腫（MCL）が含まれる。前述のがんの転移は、本明細書に記載の方法に従って治療または予防することもできる。

【0215】

いくつかの実施形態では、本明細書の方法は、対象におけるがんの1つ以上の症状の数、重症度、または頻度の減少をもたらし得る（例えば、治療前の対象におけるがんの1つ以上の症状の数、重症度、または頻度と比較して）。

10

【0216】

方法は、対象に1つ以上の追加の薬剤を投与することをさらに含み得る。いくつかの実施形態では、追加の薬剤（複数可）は、化学療法剤、例えば、ドセタキセル、パクリタキセル、アブラキサン（すなわち、アルブミンコンジュゲート型パクリタキセル）、ドキソルビシン、オキサリプラチン、カルボプラチン、シスプラチン、イリノテカン、及びゲムシタビンからなる群から選択される化学療法剤であり得る。いくつかの実施形態では、追加の薬剤（複数可）は、チェックポイント阻害剤、キナーゼ阻害剤、腫瘍微小環境における阻害因子を標的とする薬剤、及び／またはT細胞もしくはNKアゴニストであり得る。いくつかの実施形態では、追加の薬剤（複数可）は、放射線療法単独、または化学療法剤もしくは抗腫瘍剤などの別の追加の薬剤（複数可）との組み合わせであり得る。いくつかの実施形態では、追加の薬剤（複数可）は、ワクチン、オンコウイルス、及び／またはDC活性化剤、例えば、非限定例として、Toll様受容体（TLR）アゴニスト及び／またはα-CD40などであり得る。いくつかの実施形態では、追加の薬剤（複数可）は、ADCを介して、または毒素との直接的なコンジュゲーションを介して、腫瘍を殺傷するように設計された腫瘍標的化抗体（例えば、抗体薬物コンジュゲート体（ADC））であり得る。

20

【0217】

いくつかの実施形態では、チェックポイント阻害剤は、CTLA-4、LAG-3、PD-1、PD-1、TIGIT、TIM-3、B7H4、BTLA、またはVistaなどのタンパク質の阻害剤であり得る。いくつかの実施形態では、キナーゼ阻害剤は、BRAF、MEK、Btk阻害剤、イブルチニブ、またはクリゾチニブであり得る。いくつかの実施形態では、腫瘍微小環境阻害剤は、IDO阻害剤、α-CSF1R阻害剤、α-CCR4阻害剤、TGF-β、骨髄由来サプレッサー細胞、または制御性T細胞であり得る。いくつかの実施形態では、アゴニストは、OX40、GITR、CD137、ICOS、CD27、またはHVEMであり得る。

30

【0218】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、1つ以上の追加の薬剤と組み合わせで治療中及び／または治療後に投与され得る。いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、単一の治療組成物に製剤化され得、標的結合タンパク質及び追加の薬剤（複数可）は、同時に投与され得る。代替的に、標的結合タンパク質及び追加の薬剤（複数可）は、互いに分離され得、例えば、各々を別個の治療組成物に製剤化し、標的結合タンパク質及び追加の薬剤を同時に投与するか、または標的結合タンパク質及び追加の薬剤を治療レジメン中の異なる時点で投与する。例えば、標的結合タンパク質は、追加の薬剤の投与前、追加の薬剤の投与後、または交互に投与され得る。標的結合タンパク質及び追加の薬剤（複数可）は、単回用量または複数回用量で投与され得る。

40

【0219】

本明細書の標的結合タンパク質のうちの1つ以上は、1つ以上の抗炎症薬、免疫抑制剤、または代謝もしくは酵素阻害剤と共製剤化されてもよく、及び／またはそれらと同時投与されてもよい。使用され得る薬物または阻害剤の例には、非ステロイド性抗炎症薬（複

50

数可) (NSAID)、例えば、イブプロフェン、テニダップ、ナプロキセン、メロキシカム、ピロキシカム、ジクロフェナク、及びインドメタシン；スルファサラジン；プレドニゾンなどのコルチコステロイド；サイトカイン抑制性抗炎症薬（複数可）(CSAID)；ヌクレオチド生合成の阻害剤、例えば、プリン生合成の阻害剤、葉酸アンタゴニスト（例えば、メトレキサート（N-[4-[[（2，4-ジアミノ-6-プテリジニル）メチル]メチルアミノ]ベンゾイル]-L-グルタミン酸）；ならびにピリミジン生合成の阻害剤、例えば、ジヒドロオロト酸デヒドロゲナーゼ（DHODH）阻害剤のうちの1つ以上が含まれる。本開示の抗体と組み合わせて使用するための好適な治療剤には、NSAID、CSAID、（DHODH）阻害剤（例えば、レフルノミド）、及び葉酸アンタゴニスト（例えば、メトレキサート）が含まれる。追加の阻害剤の例には、コルチコステロイド（経口、吸入、及び局所注射）；免疫抑制剤、例えば、シクロスポリン、タクロリムス（FK-506）；及びmTOR阻害剤、例えば、シロリムス（ラパマイシンまたはラパマイシン誘導体、例えば、可溶性ラパマイシン誘導体（例えば、エステルラパマイシン誘導体、例えば、CCI-779）；TNF α またはIL-1などの炎症誘発性サイトカインによるシグナル伝達を干渉する薬剤（例えば、IRAK、NIK、IKK、p38、またはMAPキナーゼ阻害剤）；COX2阻害剤、例えば、セレコキシブ、ロフェコキシブ、及びそれらのバリエーション；ホスホジエステラーゼ阻害剤、例えば、R973401（ホスホジエステラーゼIV阻害剤）；ホスホリパーゼ阻害剤、例えば、細胞質ホスホリパーゼ2（cPLA2）の阻害剤（例えば、トリフルオロメチルケトン類似体）；血管内皮細胞増殖因子または増殖因子受容体の阻害剤、例えば、VEGF阻害剤及び／またはVEGF-R阻害剤；ならびに血管新生の阻害剤のうちの1つ以上が含まれる。本開示の抗体と組み合わせて使用するのに好適な治療剤は、免疫抑制剤、例えば、シクロスポリン、タクロリムス（FK-506）；mTOR阻害剤、例えば、シロリムス（ラパマイシン）またはラパマイシン誘導体、例えば、可溶性ラパマイシン誘導体（例えば、エステルラパマイシン誘導体、例えば、CCI-779）；COX2阻害剤、例えば、セレコキシブ及びそのバリエーション、ならびにホスホリパーゼ阻害剤、例えば、細胞質ホスホリパーゼ2（cPLA2）の阻害剤、例えば、トリフルオロメチルケトン類似体である。本開示の抗体と組み合わせることができる治療剤の追加の例には、6-メルカプトプリン（6-MP）；アザチオプリンスルファサラジン；メサラジン；オルサラジン；クロロキン／ヒドロキシクロロキン；ペンシラミン；金チオリンゴ酸（auriothiornalate）（筋肉内及び経口）；アザチオプリン；コルヒチン；ベータ-2アドレナリン受容体アゴニスト（サルブタモール、テルブタリン、サルメテラル）；キサンチン（テオフィリン、アルニノフィリン）；クロモグリケート；ネドクロミル；ケトチフェン；イプラトロピウム及びオキシトロピウム；ミコフェノール酸モフェチル；アデノシンアゴニスト；抗血栓剤；補体阻害剤；ならびにアドレナリン作動剤のうちの1つ以上が含まれる。

10

20

30

40

【0220】

本開示はまた、対象または試料中の切断因子及び／または標的の存在または非存在を検出する方法も提供する。かかる方法は、(i)対象または生物学的試料を標的結合タンパク質と接触させることであって、標的結合タンパク質が、CM基質の切断後に放出される標的結合タンパク質の一部に配置される検出可能な標識を含む、接触させることと、(ii)対象または生物学的試料中の活性化された標的結合タンパク質のレベルを測定することであって、対象または生物学的試料中の活性化された標的結合タンパク質の検出可能なレベルが、切断因子、標的、または切断因子及び標的の両方が、対象または生物学的試料中に存在しない、及び／または十分に存在せず、その結果、標的結合タンパク質の標的結合及び／またはプロテアーゼ切断が、対象または生物学的試料中で検出することができないことを示し、対象または生物学的試料中の活性化された標的結合タンパク質の低減された検出可能なレベルは、切断因子及び標的が対象または生物学的試料中に存在することを示す、測定することと、を含み得る。

【0221】

検出可能な標識の低減されたレベルは、例えば、少なくとも5%、10%、15%、2

50

0 %、25 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、もしくは95 %の低減、または実質的に100 %の低減であり得る。いくつかの実施形態では、検出可能な標識は、標的結合タンパク質の構成要素、例えば、TBとコンジュゲートされ得る。いくつかの実施形態では、対象または試料中の標的結合タンパク質のレベルを測定することは、活性化抗体と特異的に結合する二次試薬を使用して達成され得、試薬は、検出可能な標識を含む。二次試薬は、検出可能な標識を含む抗体であり得る。

【0222】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、患者試料中の標的の検出にも有用であり、したがって診断薬としても有用である。例えば、標的結合タンパク質は、患者試料中の標的レベルを検出するために、インビトロアッセイ、例えば、ELISAにおいて使用され得る。例えば、標的結合タンパク質は、固体支持体（例えば、マイクロタイタプレートウェル（複数可））上に固定化され得る。固定化された標的結合タンパク質は、試験試料中に存在し得る任意の標的の捕捉抗体として機能し得る。固定化された抗体を患者試料と接触させる前に、固体支持体をすすぎ、乳タンパク質またはアルブミンなどのブロッキング剤で処理して、分析物の非特異的吸着を防止することができる。

【0223】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質をインビトロ診断アッセイで使用して得られた結果に基づいて、対象における疾患の段階を標的抗原の発現レベルに基づいて決定することができる。特定の疾患について、血液の試料は、疾患の進行の様々な段階、及び／または疾患の治療的処置の様々な時点にあると診断された対象から採取され得る。進行または治療の各段階について統計的に有意な結果を提供する試料の集団を使用して、各段階の特徴とみなされ得る抗原の濃度の範囲を指定する。

【0224】

本明細書における標的結合タンパク質はまた、診断及び／またはイメージング方法で使用され得る。いくつかの実施形態では、かかる方法は、インビトロ法であり得る。いくつかの実施形態では、かかる方法は、インビボ法であり得る。いくつかの実施形態では、かかる方法は、インサイチュ法であり得る。いくつかの実施形態では、かかる方法は、エクスピボ法であり得る。例えば、CMを有する標的結合タンパク質を使用して、CMを切断することができる酵素の存在または非存在を検出することができる。かかる標的結合タンパク質は、診断に使用され得、これには、特定の宿主生物の特定の細胞または組織における活性化抗体（すなわち、標的結合タンパク質の切断によって生じる抗体）の測定された蓄積を介して、酵素活性（または、いくつかの実施形態では、ジスルフィド結合の還元を提供できるような還元電位の増加した環境）のインビボ検出（例えば、定性的または定量的）が含まれ得る。かかる活性化抗体の蓄積は、組織が酵素活性（またはCMの性質に応じて増加した還元電位）を発現することだけでなく、組織が活性化抗体が結合する標的を発現することも示す。

【0225】

例えば、CMは、腫瘍の部位、生物学的に制限された部位（例えば、腫瘍内、臓器内など）におけるウイルスまたは細菌感染の部位などで見出されるプロテアーゼのプロテアーゼ基質であるように選択され得る。TBは、標的抗原と結合するものであり得る。当業者に周知の方法を使用して、検出可能な標識（例えば、蛍光標識または放射性標識または放射性トレーサ）は、TBまたは標的結合タンパク質の他の領域とコンジュゲートされ得る。好適な検出可能な標識は、上記のスクリーニング方法の文脈において考察され得、追加の具体的な例を以下に提供する。疾患状態のタンパク質またはペプチドに特異的なTBを目的の疾患組織中で活性が上昇されたプロテアーゼとともに使用することで、標的結合タンパク質は、CM特異的酵素が検出可能なレベルで存在しないか、疾患組織中よりも低いレベルで存在するか、または不活性である（例えば、酵素前駆体形態であるか、または阻害因子との複合体）組織と比較して、疾患組織との増加した結合の割合を示し得る。小さなタンパク質及びペプチドは、腎臓濾過システムによって血液から急速に除去され、CM

10

20

30

40

50

に対して特異的な酵素が検出可能なレベルで存在しない（または非疾患組織ではより低いレベルで存在するか、または不活性な立体構造で存在する）ため、疾患組織中の活性化抗体の蓄積は、非疾患組織と比較して増強され得る。

【0226】

いくつかの実施形態では、標的結合タンパク質は、対象、例えば、ヒトを含む哺乳動物における蛍光シグナルの検出により、疾患部位が標的を含み、標的結合タンパク質のCMに対して特異的なプロテアーゼを含有することを示す、インビボイメージングに有用であり得る。インビボイメージングを使用して、本開示の標的結合タンパク質による治療に適した患者集団を特定するか、または絞り込むことができる。例えば、標的、及び試験される標的結合タンパク質のCM中の基質を切断するプロテアーゼの両方に対して試験陽性である患者（例えば、疾患部位に活性化抗体を蓄積する）は、かかるCMを含むかかる標的結合タンパク質を用いた治療に適した候補として特定される。同様に、試験陰性である患者は、別の形態の療法に適した候補として特定され得る（すなわち、試験される標的結合タンパク質による治療には適していない）。いくつかの実施形態では、第1の標的結合タンパク質に関して試験陰性であるかかる患者は、治療のための適切な標的結合タンパク質が特定されるまで、異なるCMを含む他の標的結合タンパク質（例えば、疾患の部位で患者によって切断されるCMを含む標的結合タンパク質）を用いて試験され得る。

10

【0227】

いくつかの実施形態では、インサイチューイメージングは、どの患者を治療するかを特定する方法において有用であり得る。例えば、インサイチューイメージングでは、標的結合タンパク質を使用して患者試料をスクリーニングし、適切な位置、例えば、腫瘍部位に、適切なプロテアーゼ（複数可）及び標的（複数可）を有する患者を特定することができる。いくつかの実施形態では、インサイチューイメージングを使用して、本開示の標的結合タンパク質による治療に適した患者集団を特定するか、または絞り込む。例えば、標的、及び試験される標的結合タンパク質のCM中の基質を切断するプロテアーゼの両方に対して試験陽性である患者（例えば、疾患部位に活性化抗体を蓄積する）は、かかるCMを含むかかる標的結合タンパク質を用いた治療に適した候補として特定される。同様に、標的、及びこれらの方法を使用して試験される標的結合タンパク質中のCM基質中の基質を切断するプロテアーゼのいずれかまたは両方に対して試験陰性である患者は、別の形態の療法に適した候補として特定される（すなわち、試験される標的結合タンパク質による治療には適していない）。いくつかの実施形態では、第1の標的結合タンパク質に関して試験陰性であるかかる患者は、治療のための適切な標的結合タンパク質が特定されるまで、異なるCMを含む他の標的結合タンパク質（例えば、疾患の部位で患者によって切断されるCMを含む活性化可能な標的結合タンパク質）を用いて試験され得る。

20

30

【0228】

本開示は、以下の番号付き項目の任意の組み合わせを含む：

1. 標的結合タンパク質であって、

TYAMN（配列番号3）の配列を含む可変重鎖相補性決定領域1（VH CDR1））、

RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）の配列を含む可変重鎖相補性決定領域2（VH CDR2）、及び

40

HGNFGNSYVSWX₁AY（配列番号6）の配列を含む可変重鎖相補性決定領域3（VH CDR3）であって、X₁が、WまたはFである、前記可変重鎖相補性決定領域3（VH CDR3）を含む、重鎖可変ドメインと、

X₂SSTGAVTTSNYX₃N（配列番号10）の配列を含む可変軽鎖相補性決定領域1（VL CDR1）であって、X₂が、RまたはGであり、X₃が、PまたはVである、前記可変軽鎖相補性決定領域1（VL CDR1）、

GTNKRAP（配列番号14）の配列を含む可変軽鎖相補性決定領域2（VL CDR2）、及び

X₄LWYSNX₅WV（配列番号15）の配列を含む可変軽鎖相補性決定領域3（

50

V L C D R 3) であって、X₄が、VまたはIであり、X₅が、RまたはLである、前記可変軽鎖相補性決定領域3 (V L C D R 3) を含む、軽鎖可変ドメインと、を含み、前記重鎖可変ドメイン及び前記軽鎖可変ドメインが、1つ以上のポリペプチド内に配置され、

前記標的結合タンパク質が、C D 3 イプシロンと特異的に結合する、前記標的結合タンパク質。

【0229】

2. a. 前記V H C D R 1が、T Y A M N (配列番号3) の配列を含み、

b. 前記V H C D R 2が、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D (配列番号5) の配列を含み、

c. 前記V H C D R 3が、H G N F G N S Y V S W W A Y (配列番号7) またはH G N F G N S Y V S W F A Y (配列番号8) の配列を含み、

d. 前記V L C D R 1が、R S S T G A V T T S N Y P N (配列番号11)、R S S T G A V T T S N Y V N (配列番号12)、またはG S S T G A V T T S N Y V N (配列番号13) の配列を含み、

e. 前記V L C D R 2が、G T N K R A P (配列番号14) の配列を含み、

f. 前記V L C D R 3が、V L W Y S N R W V (配列番号16)、V L W Y S N L W V (配列番号17)、またはI L W Y S N R W V (配列番号18) の配列を含む、項目1に記載の標的結合タンパク質。

【0230】

3. 前記V H C D R 1が、T Y A M N (配列番号3) を含み、前記V H C D R 2が、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D (配列番号5) を含み、前記V H C D R 3が、H G N F G N S Y V S W W A Y (配列番号7) を含み、前記V L C D R 1が、R S S T G A V T T S N Y P N (配列番号11) を含み、前記V L C D R 2が、G T N K R A P (配列番号14) を含み、及び前記V L C D R 3が、V L W Y S N R W V (配列番号16) を含むか、

前記V H C D R 1が、T Y A M N (配列番号3) を含み、前記V H C D R 2が、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D (配列番号5) を含み、前記V H C D R 3が、H G N F G N S Y V S W W A Y (配列番号7) を含み、前記V L C D R 1が、G S S T G A V T T S N Y V N (配列番号13) を含み、前記V L C D R 2が、G T N K R A P (配列番号14) を含み、及び前記V L C D R 3が、V L W Y S N R W V (配列番号16) を含むか、

前記V H C D R 1が、T Y A M N (配列番号3) を含み、前記V H C D R 2が、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D (配列番号5) を含み、前記V H C D R 3が、H G N F G N S Y V S W F A Y (配列番号8) を含み、前記V L C D R 1が、G S S T G A V T T S N Y V N (配列番号13) を含み、前記V L C D R 2が、G T N K R A P (配列番号14) を含み、及び前記V L C D R 3が、V L W Y S N R W V (配列番号16) を含むか、

前記V H C D R 1が、T Y A M N (配列番号3) を含み、前記V H C D R 2が、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D (配列番号5) を含み、前記V H C D R 3が、H G N F G N S Y V S W W A Y (配列番号7) を含み、前記V L C D R 1が、R S S T G A V T T S N Y V N (配列番号12) を含み、前記V L C D R 2が、G T N K R A P (配列番号14) を含み、及び前記V L C D R 3が、I L W Y S N R W V (配列番号18) を含むか、

前記V H C D R 1が、T Y A M N (配列番号3) を含み、前記V H C D R 2が、R I R S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D (配列番号5) を含み、前記V H C D R 3が、H G N F G N S Y V S W W A Y (配列番号7) を含み、前記V L C D R 1が、G S S T G A V T T S N Y V N (配列番号13) を含み、前記V L C D R 2が、G T N K R A P (配列番号14) を含み、及び前記V L C D R 3が、V L W Y S N L W V (配列番号17) を含むか、または

前記VH CDR1が、TYAMN（配列番号3）を含み、前記VH CDR2が、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）を含み、前記VH CDR3が、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号7）を含み、前記VL CDR1が、RSSTGAVTTSNYVN（配列番号12）を含み、前記VL CDR2が、GTNKRAP（配列番号14）を含み、及び前記VL CDR3が、VLWYSNRWV（配列番号16）を含む、項目1に記載の標的結合タンパク質。

【0231】

4．前記重鎖可変ドメインが、TYAMN（配列番号3）を含む前記VH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）を含む前記VH CDR2、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号7）を含む前記VH CDR3を含み、前記軽鎖可変ドメインが、RSSTGAVTTSNYPN（配列番号11）を含む前記VL CDR1、GTNKRAP（配列番号14）を含む前記VL CDR2、及びVLWYSNRWV（配列番号16）を含む前記VL CDR3を含む、項目3に記載の標的結合タンパク質。

10

【0232】

5．前記重鎖可変ドメインが、配列番号46と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号49と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含む、項目4に記載の標的結合タンパク質。

20

【0233】

6．前記重鎖可変ドメインが、配列番号46のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号49のアミノ酸配列を含む、項目4に記載の標的結合タンパク質。

【0234】

7．前記重鎖可変ドメインが、TYAMN（配列番号3）を含む前記VH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）を含む前記VH CDR2、HGNFGNSYVSWWAY（配列番号7）を含む前記VH CDR3を含み、前記軽鎖可変ドメインが、GSSTGAVTTSNYVN（配列番号13）を含む前記VL CDR1、GTNKRAP（配列番号14）を含む前記VL CDR2、及びVLWYSNRWV（配列番号16）を含む前記VL CDR3を含む、項目3に記載の標的結合タンパク質。

30

【0235】

8．前記重鎖可変ドメインが、配列番号46と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号64と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含む、項目7に記載の標的結合タンパク質。

【0236】

9．前記重鎖可変ドメインが、配列番号46の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号64の配列を含む、項目7に記載の標的結合タンパク質。

40

【0237】

10．前記重鎖可変ドメインが、TYAMN（配列番号3）を含む前記VH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD（配列番号5）を含む前記VH CDR2、HGNFGNSYVSWFAY（配列番号8）を含む前記VH CDR3を含み、前記軽鎖可変ドメインが、GSSTGAVTTSNYVN（配列番号13）を含む前記VL CDR1、GTNKRAP（配列番号14）を含む前記VL CDR2、及びVLWYSNRWV（配列番号16）を含む前記VL CDR3を含む、項目3に記載の標的結合タンパク質。

【0238】

11．前記重鎖可変ドメインが、配列番号128と少なくとも90%、または少なくと

50

も 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは 99% 同一である配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 122 と少なくとも 90%、または少なくとも 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは 99% 同一である配列を含む、項目 10 に記載の標的結合タンパク質。

【0239】

12. 前記重鎖可変ドメインが、配列番号 128 の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 122 の配列を含む、項目 10 に記載の標的結合タンパク質。

【0240】

13. 前記重鎖可変ドメインが、TYAMN (配列番号 3) を含む前記 VH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD (配列番号 5) を含む前記 VH CDR2、HGNFGNSYVSWWAY (配列番号 7) を含む前記 VH CDR3 を含み、前記軽鎖可変ドメインが、RSSTGAVTTSNYVN (配列番号 12) を含む前記 VL CDR1、GTNKRAP (配列番号 14) を含む前記 VL CDR2、及び ILWYSNRWV (配列番号 18) を含む前記 VL CDR3 を含む、項目 3 に記載の標的結合タンパク質。

10

【0241】

14. 前記重鎖可変ドメインが、配列番号 46 と少なくとも 90%、または少なくとも 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは 99% 同一である配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 113 と少なくとも 90%、または少なくとも 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは 99% 同一である配列を含む、項目 13 に記載の標的結合タンパク質。

20

【0242】

15. 前記重鎖可変ドメインが、配列番号 46 の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 113 の配列を含む、項目 13 に記載の標的結合タンパク質。

【0243】

16. 前記重鎖可変ドメインが、TYAMN (配列番号 3) を含む前記 VH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD (配列番号 5) を含む前記 VH CDR2、HGNFGNSYVSWWAY (配列番号 7) を含む前記 VH CDR3 を含み、前記軽鎖可変ドメインが、GSSTGAVTTSNYVN (配列番号 13) を含む前記 VL CDR1、GTNKRAP (配列番号 14) を含む前記 VL CDR2、及び VLWYSNLWV (配列番号 17) を含む前記 VL CDR3 を含む、項目 3 に記載の標的結合タンパク質。

30

【0244】

17. 前記重鎖可変ドメインが、配列番号 46 と少なくとも 90%、または少なくとも 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは 99% 同一である配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 98 と少なくとも 90%、または少なくとも 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは 99% 同一である配列を含む、項目 16 に記載の標的結合タンパク質。

【0245】

18. 前記重鎖可変ドメインが、配列番号 46 の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 98 の配列を含む、項目 16 に記載の標的結合タンパク質。

40

【0246】

19. 前記重鎖可変ドメインが、TYAMN (配列番号 3) を含む前記 VH CDR1、RIRSKYNNYATYYADSVKD (配列番号 5) を含む前記 VH CDR2、HGNFGNSYVSWWAY (配列番号 7) を含む前記 VH CDR3 を含み、前記軽鎖可変ドメインが、RSSTGAVTTSNYVN (配列番号 12) を含む前記 VL CDR1、GTNKRAP (配列番号 14) を含む前記 VL CDR2、及び VLWYSNRWV (配列番号 16) を含む前記 VL CDR3 を含む、項目 3 に記載の標的結合タンパク質。

【0247】

50

20. 前記重鎖可変ドメインが、配列番号46と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号107と少なくとも90%、または少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%同一である配列を含む、項目19に記載の標的結合タンパク質。

【0248】

21. 前記重鎖可変ドメインが、配列番号46の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配列番号107の配列を含む、項目19に記載の標的結合タンパク質。

【0249】

22. 標的結合タンパク質であって、

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTTFSTYAMNWVR
QASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSK
NTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWX₁AYWGX
6GTLVTVSS (配列番号20) の配列を含む重鎖可変ドメインと、

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCX₂SSTGAVTTSNYX₃N
WVQQKPGX₇APRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLJGGKAA
LTL SGX₉QPEDEAEYYCX₄LWYSNX₅WVFGGGTKLTVL (配列
番号21) の配列を含む軽鎖可変ドメインと、を含み、

X₁が、WまたはFであり、X₂が、RまたはGであり、X₃が、PまたはVであり、
X₄が、VまたはIであり、X₅が、RまたはLであり、

X₆が、Qであり、X₇が、Qであるか、またはX₆が、Cであり、X₇が、Cであ
り、

Jが、X₉がVである場合、Lであるか、またはJが、X₉がAである場合、Iであ
り、

前記標的結合タンパク質が、CD3イプシロンと特異的に結合する、前記標的結合タ
ンパク質。

【0250】

23. X₆が、Qであり、X₇が、Qである、項目22に記載の標的結合タンパク質。

【0251】

24. X₆が、Cであり、X₇が、Cである、項目22に記載の標的結合タンパク質。

【0252】

25. 前記重鎖可変ドメインが、配列番号46の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、
配列番号49の配列を含むか、

前記重鎖可変ドメインが、配列番号46の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配
列番号64の配列を含むか、

前記重鎖可変ドメインが、配列番号46の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配
列番号113の配列を含むか、

前記重鎖可変ドメインが、配列番号46の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配
列番号98の配列を含むか、

前記重鎖可変ドメインが、配列番号46の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、配
列番号107の配列を含むか、または

前記重鎖可変ドメインが、配列番号128の配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、
配列番号122の配列を含む、項目22に記載の標的結合タンパク質。

【0253】

26. 前記重鎖可変ドメイン及び前記軽鎖可変ドメインが、同じポリペプチド内に配置
される、項目1～25のいずれか1つまたは組み合わせに記載の標的結合タンパク質。

【0254】

27. 前記重鎖可変ドメイン及び前記軽鎖可変ドメインが、リンカーを介して結合する
、項目26に記載の標的結合タンパク質。

【0255】

10

20

30

40

50

28. 前記リンカーが、5～30、6～29、7～28、8～27、9～26、10～25、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、または24個のアミノ酸の長さを有する、項目27に記載の標的結合タンパク質。

【0256】

29. 配列番号50、28、114、99、108、または32の配列を含む、項目26に記載の標的結合タンパク質。

【0257】

30. 前記標的結合タンパク質が、一本鎖可変断片(scFv)を含む、項目26～29のいずれか1つまたは組み合わせに記載の標的結合タンパク質。

【0258】

31. 前記標的結合タンパク質が、BiTE、(scFv)₂、NANOBODY (登録商標)、ナノボディーHSA VHH-scAb、VHH-Fab、二重scFab、F(ab')₂、ダイアボディ、CROSSMAB (登録商標)、DAF (2-イン-1)、DAE (4-イン-1)、DUTAMAB (登録商標)、DT-IgG、ノブインホール共通鎖、ノブインホールアセンブリ、電荷対、Fab-アーム交換、SEEDボディ、LUZ-Y、FcAb、kL-ボディ、直交Fab、DVD-IgG、IgG(H)-scFv、scFv-(H)IgG、IgG(L)-scFv、scFv-(L)IgG、IgG(L、H)-Fv、IgG(H)-V、V(H)-IgG、IgG(L)-V、V(L)-IgG、KIH IgG-scFab、2scFv-IgG、IgG-2scFv、scFv4-Ig、ZYBODY (商標)、DVI-IgG、ダイアボディーCH3、トリプルボディ、ミニ抗体、ミニボディ、TriBiミニボディ、scFv-CH3 KIH、Fab-scFv、F(ab')₂-scFv₂、

【数5】

scFv-KIH、

Fab-scFv-Fc、四価HCAb、scダイアボディーFc、ダイアボディーFc、タンデムscFv-Fc、VHH-Fc、タンデムVHH-Fc、

【数6】

L^{HH}-Fc KiH、

Fab-VHH-Fc、イントラボディ、ドックアンドロック、ImmTAC (登録商標) (がんに対する免疫動員モノクローナルTCR (T細胞受容体))、IgG-IgGコンジュゲート、Cov-X-ボディ、scFvL-PEG-scFv₂、アドネクチン、DARPin (登録商標)、フィブロネクチン、IgG、IgM、IgA、IgE、IgD、またはDEPコンジュゲート、TMEAボディ (商標)、SAFEボディ (登録商標)、TRITAC (登録商標)、またはSHIELD抗体を含む、項目1～30のいずれか1つまたは組み合わせに記載の標的結合タンパク質。

【0259】

32. 前記標的結合タンパク質が、IgG、IgM、IgA、IgE、もしくはIgD抗体、またはその断片を含む、項目1～30のいずれか1つまたは組み合わせに記載の標的結合タンパク質。

【0260】

33. 前記標的結合タンパク質が、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4抗体を含む、項目32に記載の標的結合タンパク質。

【0261】

34. 前記標的結合タンパク質が、ヒト化される、項目1～33のいずれか1つまたは組み合わせに記載の標的結合タンパク質。

【0262】

10

20

30

40

50

35. 前記標的結合タンパク質の、不活性状態でのCD3との結合を阻害するマスキング部分をさらに含む、項目1～34のいずれか1つまたは組み合わせに記載の標的結合タンパク質。

【0263】

36. 前記マスキング部分が、切断可能な部分を介して前記標的結合タンパク質と結合し、前記切断可能な部分が、プロテアーゼの基質である、項目35に記載の標的結合タンパク質。

【0264】

37. 前記プロテアーゼが、ADAMS、ADAMTS、ADAM8、ADAM9、ADAM10、ADAM12、ADAM15、ADAM17/TACE、ADAMDEC1、ADAMTS1、ADAMTS4、ADAMTS5、アスパラギン酸プロテアーゼ、BACE、レニン、アスパラギン酸カテプシン、カテプシンD、カテプシンE、カスパーゼ、カスパーゼ1、カスパーゼ2、カスパーゼ3、カスパーゼ4、カスパーゼ5、カスパーゼ6、カスパーゼ7、カスパーゼ8、カスパーゼ9、カスパーゼ10、カスパーゼ14、システインカテプシン、カテプシンB、カテプシンC、カテプシンK、カテプシンL、カテプシンS、カテプシンV/L2、カテプシンX/Z/P、システインプロテイナーゼ、クルジパイン、レグマイン、オツバイン-2、KLK、KLK4、KLK5、KLK6、KLK7、KLK8、KLK10、KLK11、KLK13、KLK14、メタロプロテイナーゼ、メブリン、ネプリライシン、PSMA、BMP-1、MMP、MMP1、MMP2、MMP3、MMP7、MMP8、MMP9、MMP10、MMP11、MMP12、MMP13、MMP14、MMP15、MMP16、MMP17、MMP19、MMP20、MMP23、MMP24、MMP26、MMP27、セリンプロテアーゼ、活性化プロテインC、カテプシンA、カテプシンG、キマーゼ、凝固因子プロテアーゼ、FVIIa、FIXa、FXa、FXIIa、FXIIa、エラスターゼ、グランザイムB、グアニジノベンゾアターゼ、HtrA1、ヒト好中球エラスターゼ、ラクトフェリン、マラプシン、NS3/4A、PACE4、プラスミン、PSA、tPA、トロンビン、トリプターゼ、uPA、II型膜貫通タンパク質、セリンプロテアーゼ、TTSP、DESC1、DPP-4、FAP、ヘプシン、マトリプターゼ-2、MT-SP1/マトリプターゼ、TMPRSS2、TMPRSS3、またはTMPRSS4である、項目36のいずれか1つまたは組み合わせに記載の標的結合タンパク質。

【0265】

38. 前記重鎖可変ドメイン及び／または前記軽鎖可変ドメインが、コンジュゲート部分を介して、毒素、放射性同位体、低分子、診断剤、治療用巨大分子、標的化部分、または検出可能な部分とコンジュゲートされる、項目1～37のいずれか1つまたは組み合わせに記載の標的結合タンパク質。

【0266】

39. 前記コンジュゲート部分が、プロテアーゼによって切断可能である、項目38に記載の標的結合タンパク質。

【0267】

40. 前記コンジュゲート部分が、プロテアーゼによって切断することができない、項目38に記載の標的結合タンパク質。

【0268】

41. 項目1～40のいずれか1つまたは組み合わせに記載の標的結合タンパク質と、担体と、を含む、組成物。

【0269】

42. 前記組成物が、薬学的組成物であり、前記担体が、薬学的に許容される担体である、項目41に記載の組成物。

【0270】

43. 項目41または42に記載の組成物の少なくとも1用量を含む容器、バイアル、シリンジ、インジェクタペン、またはキット。

【0271】

44. 項目1～40のいずれか1つまたは組み合わせに記載の標的結合タンパク質をコードする配列を含む、核酸。

【0272】

45. 項目44に記載の核酸を含む、ベクター。

【0273】

46. 項目44に記載の核酸、または項目45に記載のベクターを含む、細胞。

【0274】

47. 治療することを必要とする対象においてそれを実施する方法であって、治療有効量の項目1～40のいずれか1つもしくは組み合わせに記載の標的結合タンパク質、または項目41もしくは42に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

10

【0275】

48. 前記対象が、がん、炎症性状態、障害、もしくは疾患、または自己免疫性状態、障害、もしくは疾患を有すると特定されているか、あるいは診断されている、項目47に記載の方法。

【0276】

49. 標的結合タンパク質を産生する方法であって、

前記標的結合タンパク質を産生するのに十分な条件下で、項目46に記載の細胞を培養培地中で培養することと、

前記細胞または前記培養培地から前記標的結合タンパク質を回収することと、を含む、前記方法。

20

【0277】

50. 前記細胞または前記培養培地から回収された前記標的結合タンパク質を単離することをさらに含む、項目49に記載の方法。

【0278】

51. 前記標的結合タンパク質を薬学的組成物に製剤化することをさらに含む、項目50に記載の方法。

【実施例】

【0279】

本発明は、特許請求の範囲に記載される本発明の範囲を限定するものではない、以下の実施例においてさらに説明される。

30

【0280】

実施例1：抗CD3 s c F vを含む一価二重特異性抗体の産生

本実施例は、抗CD3 s c F v及びHer2結合ドメインを含む一価二重特異性抗体を産生するための例示的な方法を示す。一価二重特異性抗体を組換え方法によって調製した。タンパク質を、配列番号50、28、114、32、99、108、または164の抗CD3 s c F vのコード配列、及び一価二重特異性抗体の他の構成成分を含むポリヌクレオチドの発現ベクターで宿主細胞を形質転換し、続いて、抗CD3 s c F vを含む一価二重特異性抗体を産生するのに好適な条件下で得られる組換え宿主細胞を培養することによって調製した。形質転換後5日目に上清を採取し、Octetアッセイ（表7）を使用してプロテインA結合物質の力価を測定し、続いて親和性クロマトグラフィー（プロテインA及び／またはCH1）及びサイズ排除クロマトグラフィー法を使用して一価二重特異性抗体を精製した。より高いプロテインA Octet力価は、概して所望のより高い収率と相関し、CD3バリエーションのいくつかは、この所望の特性を示した（表7）。

40

【0281】

実施例2：抗CD3 s c F vを含む一価二重特異性抗体の特性評価

実施例1で産生された一価二重特異性抗体のCD3結合を、Octetアッセイを使用して決定した。抗CD3 s c F vのヒトCD3εとの結合動態を、Octetシステム（Sartorius, Octet RED96）でのバイオレイヤー干渉法を使用して分析した。全てのタンパク質を、動態緩衝液（PBS、2%BSA、0.1%Tween

50

(登録商標) - 20) で希釈した。スーパーストレプトアビジン (SSA) でコーティングされたバイオセンサ (Sartorius, 18-5057) を、データ取得前に室温で10分間、動態緩衝液で平衡化し、実験を1000 rpmで攪拌しながら30℃で実施した。初期ベースラインレベルを60秒間 (「秒」) 実施した。10 nMの組換えHisタグ及びビオチン化CD3εタンパク質 (AcroBiosystems, CDE-H8223) を、SSAバイオセンサに120秒間でロードした。分析物の関連付けの前に、別のベースラインレベルを60秒間で確立した。ロードされたセンサは、オフレートスクリーニングにおいて200 nMの一価CD3モジュールと関連付けられ、150秒間の完全な動態アッセイにおいて200 nM~3.125 nMの範囲の濃度になり、次いで、300秒間の動態緩衝液での解離工程を実施した。V12__LH (配列番号164) を含む参照分子を各オフレートスクリーニングアッセイに含めた。リガンドがロードされているが分析物がロードされていない参照センサを、適合前のデータから差し引いた。データは、質量輸送モデルを使用して適合させた。解析は、ForteBio Data Analysis 10.0ソフトウェアを用いて行った。CD3一価二重特異性抗体は、以下の表7のK_d及びK_{off}データによって示されるように、CD3との特異的結合を示した。

10

【0282】

一価二重特異性抗体のモノマー含有量を、分析用サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) を使用して分析した。280 nmの吸光度でのUV検出を備えたAgilent 1260 Infinity HPLCシステムを使用して、分析を行った。親和性クロマトグラフィー (プロテインAまたはCH1) 精製物質のタンパク質アリコート (およそ25 µg) を、0.1 Mリン酸ナトリウム、0.1 M硫酸ナトリウム pH 6.8、及び1.0 mL/分の流量で平衡化した、7.8 mm×15 cm TSK gel QC-PAK GFC300カラム (TOSOH Biosciences, King of Prussia, PA) に注入した。親和性精製物質の低いモノマー含有量% (サイズ排除洗練工程の前) は、洗練工程での総収率に悪影響を及ぼし得るため、一般的に望ましくない。表7に記載のCD3バリエーションは全て、親和性精製工程において許容される>=50%のモノマー含有量を有した。

20

【0283】

熱変性は、Nanotemper Prometheus NT.48 (Nanotemper Technologies, Munich) を使用して試験した。試料の濃度は、0.8 mg/mL~1 mg/mLの間であり、加熱速度は1℃/分であった。安定性データは、330 nm及び350 nmの発光波長でのトリプトファン蛍光の温度依存的変化を使用して記録した。トリプトファン及びチロシンの内部蛍光 (Trp/Trp) を、330 nm及び350 nmの波長の両方で測定し、1℃/分の加熱速度でアンフォールディング中に15~95℃の温度に対してプロットした。アンフォールディング/変性は、トリプトファン残基の周囲の微小環境極性の変化をもたらし、融解曲線に反映されている蛍光の変化をもたらした。温度に対する蛍光比F350/F330のプロットは、融解温度を分析するために使用された明確な融解遷移をもたらした。融解温度を、蛍光比 (F350/F330) の一次導関数の最大値を検出することによって決定した。融解温度 (T_m) を、F350/F330プロットの一次導関数によって計算した。より高いT_mは、より安定したタンパク質を示す。表7に記載されている全てのCD3バリエーションは、参照v12__LHを除き、55℃を超え、参照v12__LHよりも有意に高い所望のT_mを有していた。一価二重特異性抗体は、以下の表7のそれらのCD3結合ドメインによって特定する。K_{off}データは相対測定値として報告され、「+++」は、CD3結合のK_{off}速度が、抗CD3 scFvとしてv12__LH (配列番号164) を含む参照一価二重特異性抗体とほぼ同じであるか、またはそれよりも優れていることを示す。

30

40

【表 7】

表 7

一価二重特異性抗体	Octet 力価(mg/mL)	モノマー%	Tm	K _D (nM)	K _{off}
v619_HLc (配列番号 50)	76/258*	80	58/57	0.92~2.62	+++
v619_HLh (配列番号 28)	102/248*	84	56/58	1.66~5.64	+++
v619-HLh-CC4 (配列番号 32)	140	62	59	約 11	+++
v619_Hh8 (配列番号 99)	110	50	57		+++
v619_HLp2 (配列番号 114)	98		56		+++
v619_Hh13 (配列番号 108)	64		57		+++
v12_LH (参照、配列番号 164)	58	85	53		+++

* 2つの数値は、2つの独立した形質転換からのものであり、形質転換／発現の可変性を表す。

【0284】

実施例 3 抗CD3 s c F v 及び H e r 2 結合ドメインを含む一価二重特異性抗体の細胞傷害性

一価二重特異性抗体のインビトロ効力を、細胞傷害性アッセイによって決定した。簡単に説明すると、SKOV3-luc2 標的細胞及びヒトPBMCエフェクター細胞 (Stemcell technologies) を、1:10の標的対エフェクター細胞の比率で、5%ヒト血清 (MP Bioカタログ番号2930949) を補充したRPMI培地 (Gibcoカタログ番号22400071) 中に一緒に播種して共培養した。この共培養物に、実施例1で産生された一価二重特異性抗体の滴定物を加え、プレートを37℃、5%CO₂でおおよそ48時間インキュベートした。インキュベーション後、細胞傷害性を、ONE-Glo (商標) ルシフェラーゼアッセイシステム (Promegaカタログ番号E6130) を使用して評価し、発光をプレートリーダー (Tecan) で測定した。細胞傷害性パーセントを以下のように計算した: $(1 - (\text{RLU実験} / \text{平均RLU未処理})) * 100$ 。GraphPad PRISMを使用して、細胞傷害性パーセントデータをプロットし、EC₅₀値を計算した。結果を、抗CD3 s c F v (配列番号164) としてv12-LHを含む内部対照一価二重特異性抗体のEC₅₀と比較したEC₅₀の相対値として以下の表8に示す。各分子を少なくとも2回試験し、得られた結果の範囲を表8に報告した。典型的なアッセイ誤差はおおよそ2~3倍であるため、約0.5~約2の比率は、試験した一価二重特異性抗体が、抗CD3結合タンパク質としてv12-LHを含む参照一価二重特異性抗体と同様の効力を有することを示す。約0.5未満の比率は、試験した一価二重特異性抗体が、v12-LH抗CD3 s c F vを含む参照一価二重特異性抗体よりも強力であることを示す。一価二重特異性抗体は、それらのCD3結合ドメインによって特定する。表8のCD3バリエーションの大部分が (v619_HLp2を除く全て)、アッセイ変動の限界内で、v12-LHよりも優れた効力を示唆するEC₅₀比率を有した。

10

20

30

40

50

【表 8】

表 8. 抗 CD3 s c F v を含む一価二重特異性抗体の細胞傷害性。

一価二重特異性抗体	v619_HLc (配列番号 50)	v619_HLh (配列番号 28)	v619-HLh- CC4(配列番号 32)	v619_Hh8 (配列番号 99)	v619_HLp2 (配列番号 114)	v619_Hh13 (配列番号 108)
参照(v12-LH、 配列番号 164) の EC50 に対する EC50 の比率	0.01~0.13	0.11~1.15	0.35~1.51	0.23~0.61	0.57~1.84	0.14~0.26

10

【 0 2 8 5 】

配列の例が、以下の表 9 A 及び 9 B に列挙される。

【表 9 A - 1】

表 9 A 例示的な配列

配列番号	注釈	配列
1	野生型ヒト CD3 イプシロン	DGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNI GGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDA NFYLYLRARVCENCMEMDMVMSVATIVIVDICITGGLLLVYY WSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPVPNPDIYEP RKGQRDLYSGLNQRI
3	VH CDR1	TYAMN
5	VH CDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKD
6	VH CDR3 コン センサス配列	HGNFGNSYVSWX ₁ AY (X ₁ は、W または F である)
7	VH CDR3	HGNFGNSYVSWWAY
8	VH CDR3	HGNFGNSYVSWFAY
10	VL CDR1 コン センサス配列	X ₂ SSTGAVTTSNYX ₃ N (X ₂ は、R または G であり、X ₃ は、P または V である)
11	VL CDR1	RSSTGAVTTSNYPN
12	VL CDR1	RSSTGAVTTSNYVN
13	VL CDR1	GSSTGAVTTSNYVN
14	VL CDR2	GTNKRAP
15	VL CDR3 コン センサス配列	X ₄ LWYSNX ₅ WV (X ₄ は、V または I であり、X ₅ は、R または L である)
16	VL CDR3	VLWYSNRWV
17	VL CDR3	VLWYSNLWV
18	VL CDR3	ILWYSNRWV
20	重鎖可変ドメイン コンセンサス 配列	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSTYAMNWVRQAS GKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWX ₁ AYWG ₆ GTLVT VSS (X ₁ は、W または F であり、X ₆ は、配列番号 21 の X ₇ と同じで あり、Q または C である)

20

30

40

50

【表 9 A - 2】

21	軽鎖可変ドメイン コンセンサス 配列	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCX ₂ SSTGAVTTSNYX ₃ NWVQQ KPGX ₇ APRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLJGGKAALTLSGX ₉ Q PEDEAEYYCX ₄ LWYSNX ₅ WVFGGGTKLTVL (X ₂ は、R または G であり、X ₃ は、P または V であり、X ₄ は、V または I であり、X ₅ は、R または L であり、 X ₇ は、配列番号 20 の X ₆ と同じであり、Q または C であり、 J は、X ₉ が V である場合、L であるか、または J は、X ₉ が A である場合、I である)
22	重鎖可変ドメイン コンセンサス 配列(ジスルフィド 結合変異なし)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSTYAMNWVRQAS GKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWX ₁ AYWGX ₆ GTL VTVSS (X ₁ は、W または F であり、X ₆ は、Q である)
23	軽鎖可変ドメイン コンセンサス 配列(ジスルフィド 変異なし)	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCX ₂ SSTGAVTTSNYX ₃ NWVQQ KPGX ₇ APRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLJGGKAALTLSGX ₉ Q PEDEAEYYCX ₄ LWYSNX ₅ WVFGGGTKLTVL (X ₂ は、R または G であり、X ₃ は、P または V であり、X ₄ は、V または I であり、X ₅ は、R または L であり、 X ₇ は、Q であり、 J は、X ₉ が V である場合、L であるか、または J は、X ₉ が A である場合、I である)
24	重鎖可変ドメイン コンセンサス 配列(ジスルフィド 結合変異あり)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSTYAMNWVRQAS GKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWX ₁ AYWGX ₆ GTL VTVSS (X ₁ は、W または F であり、X ₆ は、C である)
25	軽鎖可変ドメイン コンセンサス 配列(ジスルフィド 変異あり)	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCX ₂ SSTGAVTTSNYX ₃ NWVQQ KPGX ₇ APRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLJGGKAALTLSGX ₉ Q PEDEAEYYCX ₄ LWYSNX ₅ WVFGGGTKLTVL (X ₂ は、R または G であり、X ₃ は、P または V であり、X ₄ は、V または I であり、X ₅ は、R または L であり、 X ₇ は、C であり、 J は、X ₉ が V である場合、L であるか、または J は、X ₉ が A である場合、I である)

10

20

30

40

50

【表 9 A - 3】

26	Fc ドメインホール変異体	ESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSQEEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSRLLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGX (X は、リジンであるか、または非存在である。)
27	Fc ドメインノブ変異体 (HC179(HC_FcK_IgG4_EN))	GSSKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPCQEEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSRLLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGX (X は、リジンであるか、または非存在である。)
28	v619h	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTSTYAMNWVRQAS GKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGLTV TVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT GSSTGAVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPAR FSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT KLTVL
29	v619h+20gg	QQQSGSGYLWGCEWNCGGITGSSGGSGGSGGLSGRSDDHG GSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTSTYAMNWVRQ ASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGG TKLTVL
30	v619h-CC4+20gg	QQQSGSGYLWGCEWNCGGITGSSGGSGGSGGLSGRSDDHG GSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTSTYAMNWVRQ ASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWCGGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYVNWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGG TKLTVL

10

20

30

40

50

【表 9 A - 4】

31	v619h-CC45、 240+20gg	QQQSGSGYLWGCEWNCGGITTGSSGGSGGSGGLSGRSDDHG GSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMNWVRQ ASGKGCEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVCGGG TKLTVL	10
32	v619h-CC4	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAS GKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGCGLTVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTTSNYVNWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTPARFS GSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL	20
33	v619h-CC45、 240	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAS GKGCEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGTLV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC GSSTGAVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPAR FSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVCGGGT KLTVL	30
34	ヒト IgG1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGX (Xは、リジンであるか、または非存在である。)	40

【表 9 A - 5】

35	ヒト IgG2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTVKCCVECPPEPPVAGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGX (Xは、リジンであるか、または非存在である)
36	ヒト IgG3	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV NHKPSNTKVDKRVELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCP RCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNHRTQKSLSLSPGX (Xは、リジンであるか、または非存在である)
37	ヒト IgG4	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGX (Xは、リジンであるか、または非存在である)
38	hIgG4 S228P 及 び L235E CH1- Fc	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGX (Xは、リジンであるか、または非存在である。)

【表 9 A - 6】

39	IgG4-EN KiHSS-H 鎖 Fc のみ	SKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVCTLPSPQEEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSRLLTVDKSRWQEGNVFSCSV HEALHNHYTQKSLSLGLX (X は、リジンであるか、または非存在である)
40	IgG4-EN KiHSS-K 鎖-Fc のみ	GPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCQEEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLVSRLLTVDKSRWQEGNVFSCSV HEALHNHYTQKSLSLGLX (X は、リジンであるか、または非存在である。)
41	IgG1 KiHSS-H 鎖 Fc のみ	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGX (X は、リジンであるか、または非存在である。)
42	IgG1 KiHSS-K 鎖 -Fc のみ	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGX (X は、リジンであるか、または非存在である。)

10

20

30

【 0 2 8 6 】

表 9 B 重鎖可変ドメイン、軽鎖可変ドメイン、及び関連分子の例示的な配列。

重鎖可変ドメイン内の CDR は、それぞれ、重鎖可変ドメインの 31～35 位のアミノ酸、50～68 位のアミノ酸、及び 101～114 位のアミノ酸の配列を含む。軽鎖可変ドメイン内の CDR は、それぞれ、軽鎖可変ドメインの 23～36 位のアミノ酸、52～58 位のアミノ酸、及び 91～99 位のアミノ酸の配列を含む。

40

50

【表 9 B - 1】

抗 CD3 モジュール	ポリペプチド	配列	配列番号
v619_HL15	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMN WVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR HGN FGNSYVSWFAYWGQGT LTVSS	43
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLIG GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGT KLTVL	44
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMN WVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR HGN FGNSYVSWFAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTS NYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSG SLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVF GGGTKLTVL	45
v619_Hla	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMN WVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHG NFGNSYVSWWAYWGQGT LTVSS	46
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLIG GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGG TKLTVL	47
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMN WVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHG NFGNSYVSWWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVT TSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFS GSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNRWV FGGGTKLTVL	48

10

20

30

40

50

【表 9 B - 2】

v619_HLc	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	46
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYP NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLL GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	49
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTG AVTTSNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS NRWVFGGGTKLTVL	50
v619_HLc1	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTV HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	51
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	SQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNY PNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSL LGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFG GGTKLTVL	52
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTV HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTG AVTTSNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS NRWVFGGGTKLTVL	53

10

20

30

40

50

【表 9 B - 3】

v619_HLd	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS	54
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYP NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	55
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGA VTTSNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSN RWVFGGGTKLTVL	56
V619_Hle	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR HGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS	57
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGNYA NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGG GTKLTVL	58
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR HGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGA VTSGNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYS NRWVFGGGTKLTVL	59

10

20

30

40

50

【表 9 B - 4】

v619_HLf	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSS	57
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNLWVFGG GTKLTVL	60
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYS NLWVFGGGTKLTVL	61
v619_HLg	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSS	43
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGNYP NWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLL GGKAALTLGSVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGG GTKLTVL	62
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCRSSTGA VTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPA RFSGSLLGGKAALTLGSVQPEDEAEYYCALWYSN LWVFGGGTKLTVL	63

10

20

30

40

50

【表 9 B - 5】

v619_HLh	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	46
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	64
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTG AVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVL	28
v619_HLh 1	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTV HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	51
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	64
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTV HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTG AVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVL	65

10

20

30

40

50

【表 9 B - 6】

v619_Hli	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR HGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSS	66
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLIG GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGG TKLTVL	67
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR HGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGA VTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSN LWVFGGGTKLTVL	68
V619_HLj	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSS	54
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLIG GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGG TKLTVL	67
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGA VTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSN LWVFGGGTKLTVL	69

10

20

30

40

50

【表 9 B - 7】

v619_HLk	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSS	70
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYP NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGG GTKLTVL	71
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG <u>GGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA</u> VTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSN LWVFGGGTKLTVL	72
v619_HLL	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	73
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYP NWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLIG GKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNLWVFGGG TKLTVL	74
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGG <u>GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTG</u> AVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYS NLWVFGGGTKLTVL	75

10

20

30

40

50

【表 9 B - 8】

v619_HLm	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNKYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSS	76
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYP NWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLIG GKAALTLGAQPEDEAEYYCWLWYSNLWVFGGG TKLTVL	74
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNKYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCWLWYSN LWVFGGGTKLTVL	77
v619_HLn	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNKYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	78
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYP NWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLIG GKAALTLGAQPEDEAEYYCWLWYSNLWVFGGG TKLTVL	74
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNKYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTG AVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCWLWYS NLWVFGGGTKLTVL	79

10

20

30

40

50

【表 9 B - 9】

V619_HLo	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	78
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGVVTSSNYP NWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLIG GKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNLWVFGGG TKLTVL	80
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGSGGSGG GSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTG VVTSSNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYS NLWVFGGGTKLTVL	81
v619 HLv2	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSS	82
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGG GTKLTVL	44
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGA VTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYS NLWVFGGGTKLTVL	83

10

20

30

40

50

【表 9 B - 1 0】

v619 HLK1	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSS	82
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYP NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGG GTKLTVL	71
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSN LWVFGGGTKLTVL	84
v619_Hh1	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSS	70
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	64
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYS NRWVFGGGTKLTVL	85

10

20

30

40

50

【表 9 B - 1 1】

v619_Hh2	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSS	70
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYA VWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	86
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYAVWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYS NRWVFGGGTKLTVL	87
v619_Hh3	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSS	70
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYA FWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLIG GKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGG TKLTVL	88
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYAFWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSN RWVFGGGTKLTVL	89

10

20

30

40

50

【表 9 B - 1 2】

v619_Hh4	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM HWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	90
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	64
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM HWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTG AVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVL	91
v619_Hh5	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMI WVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	92
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	64
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMI WVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYS NRWVFGGGTKLTVL	93

10

20

30

40

50

【表 9 B - 1 3】

v619_Hh6	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM LWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	94
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	64
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM LWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYS NRWVFGGGTKLTVL	95
v619_Hh7	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSS	70
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYA YWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	96
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYAYWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYS NRWVFGGGTKLTVL	97

10

20

30

40

50

【表 9 B - 1 4】

v619_Hh8	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	46
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNLWVFGG GTKLTVL	98
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTG AVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWY SNLWVFGGGGTKLTVL	99
v619_Hh9	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	46
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNLWVFGG GTKLTVL	100
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTG AVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWY SNLWVFGGGGTKLTVL	101

10

20

30

40

50

【表 9 B - 1 5】

v619_Hh10	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMI WVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSS	102
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA YWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNLWVFGG GTKLTVL	103
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMI WVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGG SGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAV TTSNYAYWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPAR FSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNL WVFGGGTKLTVL	104
v619_Hh12	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	46
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	105
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTG AVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVL	106

10

20

30

40

50

【表 9 B - 1 6】

v619_Hh 13	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	46
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	107
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCRSSTG AVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVL	108
v619_Hh 15	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	46
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGG GTKLTVL	109
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTG AVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWY SNRWVFGGGTKLTVL	110

10

20

30

40

50

【表 9 B - 1 7】

v619_Hh17	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	111
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	64
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTG AVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVL	112
v619_HLp 2	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	46
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCILWYSNRWVFGG GTKLTVL	113
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTG AVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCILWYS NRWVFGGGTKLTVL	114

10

20

30

40

50

【表 9 B - 1 8】

v619_HLp 3	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSS	46
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCILWYSNLWVFGG GTKLTVL	115
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTG AVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCILWYS NLWVFGGGTKLTVL	116
v619_HLp 4	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSS	46
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCPSSTGAVTTSNYG NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	117
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCPSSTG AVTTSNYGNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVL	118

10

20

30

40

50

【表 9 B - 1 9】

v619_HLp 5	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	46
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCPSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	119
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCPSSTG AVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVL	120
v619-HLh- CC1	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWCQGTLLTVSS	121
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	122
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWCQGTLLTVSSGGGGSGGG GSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYVNWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSN RWVFGGGTKLTVL	123

10

20

30

40

50

【表 9 B - 2 0】

v619-HLh-CC2	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWCQGT LTVSS	121
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQCPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	124
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWCQGT LTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYVNWWVQQKPGQCPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSN RWVFGGGTKLTVL	125
v619-HLh-CC3	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWCQGT LTVSS	121
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQACRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	126
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWCQGT LTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYVNWWVQQKPGQACRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYS NRWVFGGGTKLTVL	127

10

20

30

40

50

【表 9 B - 2 1】

v619-HLh-CC4	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGCGTLTVSS	128
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	122
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGCGTLTVSS <u>GGGGSGGG</u> <u>GSGGGGS</u> QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYVNWWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSN RWVFGGGTKLTVL	32
v619-HLh-CC5	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGCGTLTVSS	128
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQCPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	124
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGCGTLTVSS <u>GGGGSGGG</u> <u>GSGGGGS</u> QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYVNWWVQQKPGQCPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSN RWVFGGGTKLTVL	129

10

20

30

40

50

【表 9 B - 2 2】

v619- HLh-CC6	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGCGLTVTVSS	128
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQACRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	126
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGCGLTVTVSSGGGGSGGG <u>GSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA</u> VTTSNYVNWVQQKPGQACRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYS NRWVFGGGTKLTVL	130
v619- HLh-CC7	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQCTLTVTS	131
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	122
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQCTLTVTVSSGGGGSGGG <u>GSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA</u> VTTSNYVNWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSN RWVFGGGTKLTVL	132

10

20

30

40

50

【表 9 B - 2 3】

v619-HLh- CC8	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQCTLVTVSS	131
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQCPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	124
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQCTLVTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYVNWWVQQKPGQCPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSN RWVFGGGGTKLTVL	133
v619-HLh- CC9	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQCTLVTVSS	131
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQACRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	126
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGQCTLVTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYVNWWVQQKPGQACRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYS NRWVFGGGGTKLTVL	134

10

20

30

40

50

【表 9 B - 2 4】

v619_HLh- CC10	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKCLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	135
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGC GTKLTVL	136
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKCLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYS NRWVFGCGTKLTVL	137
v619_HLa 1	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTV HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	51
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLIG GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGG TKLTVL	47
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTV HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCRSSTG AVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYS NRWVFGGGTKLTVL	138

10

20

30

40

50

【表 9 B - 2 5】

v619_HL d1	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTV HGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS	139
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYP NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL	55
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTV HGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGA VTTSNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSN RWVFGGGTKLTVL	140
v619- HLL1	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR HGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS	57
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYP NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNLWVFGG GTKLTVL	141
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR HGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSN LWVFGGGTKLTVL	142

10

20

30

40

50

【表 9 B - 2 6】

v619_HLB	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR HGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSS	66
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYP NWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLIG GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGG TKLTVL	143
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR HGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGA VTTSNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSN LWVFGGGTKLTVL	144
v619h-RE	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYARSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	145
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNEWVFGG GTKLTVL	165
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYARSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYS NEWVFGGGTKLTVL	166

10

20

30

40

50

【表 9 B - 2 7】

v619h-RD	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYARSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	145
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNDWVFGG GTKLTVL	146
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYARSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYS NDWVFGGGTKLTVL	147
v619h- R237K	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSS	46
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWYSNKWVFGG GTKLTVL	148
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTG AVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCVLWY SNKWVFGGGTKLTVL	149

10

20

30

40

50

【表 9 B - 2 8】

v619_hh9- CC4	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGCGTLTVSS	150
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNLWVFGG GTKLTVL	151
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGCGTLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTG AVTTSNYANWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYS NLWVFGGGTKLTVL	152
v619_hh9- PA-CC4_	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGCGTLTVSS	153
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNLWVFGG GTKLTVL	151
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGCGTLTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTG AVTTSNYANWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYS NLWVFGGGTKLTVL	154

10

20

30

40

50

【表 9 B - 2 9】

v619_hh9F-CC4PA	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGCGTLVTVSS	155
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNLWVFGG GTKLTVL	151
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAYWGCGTLVTVSSGGGGSGGG GGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGA VTTSNYANWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSN LWVFGGGTKLTVL	156
v619_Hh9-CC4-PAV	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGCGTLVTVSS	153
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYV NWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLI GGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNLWVFGG GTKLTVL	157
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAM NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWWAYWGCGTLVTVSSGGGGSGGG GGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTG AVTTSNYVNWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTP ARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYS NLWVFGGGTKLTVL	158

10

20

30

40

50

【表 9 B - 3 0】

v619_Hh9F- CC4-PAV	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAV YYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGCGLTVTVSS	155
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSN YVNWVQQKPGCAPRGLIGGTNKRAPGTPARFS GSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNL WVFGGGTKLTVL	157
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAV YYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGCGLTVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTV TLTCRSSTGAVTTSNYVNWVQQKPGCAPRGLI GGTNKRAPGTPARFSGSLIGGKAALTLGAQPE DEAEYYCVLWYSNLWVFGGGTKLTVL	159
v619_531V Tras 1/2 TCB	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYA MNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAV YYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSS	46
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSN YVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFS GSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNL WVFGGGTKLTVL	160
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYA MNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAV YYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCRSSTGAVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGL IGGTNKRAPGTPARFSGSLIGGKAALTLGAQP EDEAEYYCVLWYSNLWVFGGGTKLTVL	161

10

20

30

40

50

【表 9 B - 3 1】

v619_c15	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYA MNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAV YYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSS	46
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSN YPNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFS GSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNR WVFGGGTKLTVL	49
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYA MNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAV YYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSS GGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCRSSTGAVTTSNYPNWVQQKPGQAPRGL IGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQP EDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL	50
v619_h15	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYA MNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAV YYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSS	46
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSN YVNWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFS GSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCVLWYSNR WVFGGGTKLTVL	64
	抗 CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYA MNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAV YYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSS GGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTTSNYVNWVQQKPGQAPRGL IGGTNKRAPGTPARFSGSLIGGKAALTLGAQP EDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL	28

10

20

30

40

50

【表 9 B - 3 2】

V12(参照抗 CD3 scFv)	抗 CD3 重鎖可変ドメイン	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAV YYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS	162
	抗 CD3 軽鎖可変ドメイン	QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSN YANWVQQTPGQAPRGLIGGTNKRAPGVDPDRFS GSILGNKAALTITGAQADDESDYYCALWYSNL WVFGGGTKLTVL	163
	抗 CD3 scFv	QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSN YANWVQQTPGQAPRGLIGGTNKRAPGVDPDRFS GSILGNKAALTITGAQADDESDYYCALWYSNL WVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQL VESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNW VRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS	164

10

【0287】

20

その他の実施形態

本発明を上記の発明を実施するための形態に関連して説明してきたが、前述の説明は例示を意図しており、本発明の範囲を限定するものではなく、本発明の範囲は、添付の特許請求の範囲によって定義されることを理解されたい。他の態様、利点、及び修正は、以下の特許請求の範囲に含まれる。

【0288】

本明細書で言及される全ての刊行物、特許出願、特許、及び他の参考文献は、参照によってその全体が組み込まれる。矛盾する場合には、定義を含めて本明細書が優先する。加えて、セクションの見出し、材料、方法、及び例は、単に例示的なものであり、限定することを意図しない。

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/017130

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/28 A61P35/00
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K A61P

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2021/163620 A1 (GRANDA BRIAN [US] ET AL) 3 June 2021 (2021-06-03) cd3-7, cd3-11; the whole document -----	1-6, 22-51
X	WO 2016/014974 A2 (CYTOMX THERAPEUTICS INC [US]) 28 January 2016 (2016-01-28) paragraph [0028] -----	1-6, 22-51
X	WO 2007/042261 A2 (MICROMET AG [DE]; KISCHEL ROMAN [DE] ET AL.) 19 April 2007 (2007-04-19) sequence 170 -----	1-6, 22-51
X	WO 2021/063330 A1 (HARBOUR BIOMED SUZHOU CO LTD [CN]) 8 April 2021 (2021-04-08) sequence 54 -----	1-6, 22-51

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 September 2023

Date of mailing of the international search report

04/10/2023

Name and mailing address of the ISA/
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Scheffzyk, Irmgard

CORRECTED VERSION

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/01 130

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☐ forming part of the international application as filed.
- b. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☒ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/017130

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☒ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4-9 (completely); 1-3, 22-51 (partially)
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:

30

40

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2023 /017130

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 4-6(completely); 1-3, 22-51(partially)

target binding protein comprising SEQ.ID.NOs. 3,5,7,11,14
and 16

2. claims: 7-9(completely); 1-3, 22-51(partially)

target binding protein comprising SEQ.ID.NOs 3,5,7,13,14 and
16

3. claims: 10-12(completely); 1-3, 22-51(partially)

target binding protein comprising SEQ.ID.NOs 3,5,8,13,14 and
16

4. claims: 13-15(completely); 1-3, 22-51(partially)

target binding protein comprising SEQ.ID.NOs 3,5,7,12,14 and
18

5. claims: 16-18(completely); 1-3, 22-51(partially)

target binding protein comprising SEQ.ID.NOs 3,5,7,13,14 and
17

6. claims: 19-21(completely); 1-3, 22-51(partially)

target binding protein comprising SEQ.ID.NOs 3,5,7,12,14 and
16.

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/017130

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2021163620 A1	03-06-2021	AU 2019247229 A1	15-10-2020
		CA 3095093 A1	10-10-2019
		CN 112204052 A	08-01-2021
		EP 3774910 A1	17-02-2021
		IL 277551 A	30-11-2020
		JP 2021520192 A	19-08-2021
		KR 20200142525 A	22-12-2020
		RU 2020135920 A	05-05-2022
		US 2021163620 A1	03-06-2021
		WO 2019195535 A1	10-10-2019
WO 2016014974 A2	28-01-2016	AU 2015292406 A1	09-02-2017
		AU 2021203876 A1	08-07-2021
		BR 112017001579 A2	21-11-2017
		CA 2955947 A1	28-01-2016
		CN 107108738 A	29-08-2017
		EP 3172235 A2	31-05-2017
		JP 7020909 B2	16-02-2022
		JP 7168702 B2	09-11-2022
		JP 2017523176 A	17-08-2017
		JP 2021087429 A	10-06-2021
		JP 2022191494 A	27-12-2022
		US 2016194399 A1	07-07-2016
		US 2021047406 A1	18-02-2021
		WO 2016014974 A2	28-01-2016
WO 2007042261 A2	19-04-2007	AU 2006301492 A1	19-04-2007
		CA 2625440 A1	19-04-2007
		DK 1940881 T3	20-02-2017
		EP 1940881 A2	09-07-2008
		EP 3178850 A1	14-06-2017
		EP 3770174 A1	27-01-2021
		ES 2616316 T3	12-06-2017
		ES 2856451 T3	27-09-2021
		JP 5686953 B2	18-03-2015
		JP 2009511521 A	19-03-2009
		US 2009252683 A1	08-10-2009
		US 2013129729 A1	23-05-2013
		US 2019070290 A1	07-03-2019
		WO 2007042261 A2	19-04-2007
WO 2021063330 A1	08-04-2021	AU 2020359928 A1	21-04-2022
		CA 3152438 A1	08-04-2021
		CN 113015749 A	22-06-2021
		EP 4039707 A1	10-08-2022
		JP 2022550832 A	05-12-2022
		KR 20220071263 A	31-05-2022
		TW 202126694 A	16-07-2021
		US 2022348661 A1	03-11-2022
		WO 2021063330 A1	08-04-2021

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 P	21/02 (2006.01)	C 1 2 P	21/02	C
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	37/06 (2006.01)	A 6 1 P	37/06	
		A 6 1 K	39/395	L

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

弁理士 富樫 征也

(72)発明者 ペイドウンガット, マダン エム.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルバード 1 5 1, スイート 4 0 0, サイトムエックス セラピューティクス, インコー
ポレイテッド 気付

(72)発明者 ミトラ, サヤンタン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルバード 1 5 1, スイート 4 0 0, サイトムエックス セラピューティクス, インコー
ポレイテッド 気付

(72)発明者 バウスタニー, レイラ エム.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルバード 1 5 1, スイート 4 0 0, サイトムエックス セラピューティクス, インコー
ポレイテッド 気付

(72)発明者 フォックス, エレイン アン マリアーノ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルバード 1 5 1, スイート 4 0 0, サイトムエックス セラピューティクス, インコー
ポレイテッド 気付

(72)発明者 ヴー, トラン ティー. ティー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルバード 1 5 1, スイート 4 0 0, サイトムエックス セラピューティクス, インコー
ポレイテッド 気付

(72)発明者 ウォン, ローリー

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルバード 1 5 1, スイート 4 0 0, サイトムエックス セラピューティクス, インコー
ポレイテッド 気付

(72)発明者 ヴィノード, ヴィーナ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルバード 1 5 1, スイート 4 0 0, サイトムエックス セラピューティクス, インコー
ポレイテッド 気付

(72)発明者 ラブヤデ, ニコル ジー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルバード 1 5 1, スイート 4 0 0, サイトムエックス セラピューティクス, インコー
ポレイテッド 気付

-
- (72)発明者 トリユー, メリッサ
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルバード 151, スイート 400, サイトムエックス セラピューティクス, インコー
ポレイテッド 気付
- (72)発明者 ダラル, ヴィジット
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルバード 151, スイート 400, サイトムエックス セラピューティクス, インコー
ポレイテッド 気付
- F ターム (参考) 4B064 AG27 CA19 DA01
4B065 AB01 AC14 BA02 CA25 CA44
4C085 AA14 AA21 AA27 BB11 BB33 BB34 BB35 BB36 BB37 CC01
DD62 EE01
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA76 EA20 FA74