(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7295030号
(P7295030)

(45)発行日　令和5年6月20日(2023.6.20)

(24)登録日　令和5年6月12日(2023.6.12)

(51)国際特許分類		FI		
C12N 15/13 (2006.01)		C12N	15/13	
C07K 16/30 (2006.01)		C07K	16/30	ZNA
C12N 15/63 (2006.01)		C12N	15/63	Z
C12N 5/10 (2006.01)		C12N	5/10	
C12Q 1/02 (2006.01)		C12Q	1/02	

請求項の数　28　（全286頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2019-558615(P2019-558615)
(86)(22)出願日　平成30年4月24日(2018.4.24)
(65)公表番号　特表2020-517294(P2020-517294A)
(43)公表日　令和2年6月18日(2020.6.18)
(86)国際出願番号　PCT/US2018/029221
(87)国際公開番号　WO2018/200586
(87)国際公開日　平成30年11月1日(2018.11.1)
審査請求日　令和3年4月22日(2021.4.22)
(31)優先権主張番号　62/490,586
(32)優先日　平成29年4月26日(2017.4.26)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者　321002949
ユーリカ セラピューティックス， インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４６０８， エメリービル， ホートン ストリート ５８５８， スイート １７０
(74)代理人　110002077
園田・小林弁理士法人
(72)発明者　ジャン， ペンボー
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４５５５， フリーモント， ロウシロン アベニュー ４６５９
(72)発明者　シュー， イーヤン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４５８８， プレザントン， チェスナット
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　グリピカン３を特異的に認識するコンストラクト及びその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトであって、抗ＧＰＣ３抗体部分が、

Ｉ．（ａ）ｉ）配列番号３のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域（ＨＣ－ＣＤＲ）１、配列番号５４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含む重鎖可変ドメイン（V_H）、及びｉｉ）配列番号１５６のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域（ＬＣ－ＣＤＲ）１、配列番号２０７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含む軽鎖可変ドメイン（V_L）、及び／又は

（ｂ）ｉ）配列番号３０９のアミノ酸配列を含むV_H、又は配列番号３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含み、かつ配列番号３０９に少なくとも９０％の配列同一性を有するその変異型、及びｉｉ）配列番号３６０のアミノ酸配列を含むV_L、又は配列番号１５６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含み、かつ配列番号３６０に少なくとも９０％の配列同一性を有するその変異型、又は

Ｉｉ．（ａ）ｉ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＣ－Ｃ

ＤＲ３を含むＶ$_H$、及びｉｉ）配列番号１７４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$、及び／又は

（ｂ）ｉ）配列番号３２７のアミノ酸配列を含むＶ$_H$、又は配列番号２１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含み、かつ配列番号３２７に少なくとも９０％の配列同一性を有するその変異型、及びｉｉ）配列番号３７８のアミノ酸配列を含むＶ$_L$、又は配列番号１７４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含み、かつ配列番号３７８に少なくとも９０％の配列同一性を有するその変異型、又は

ＩＩＩ．（ａ）ｉ）配列番号２４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$、及びｉｉ）配列番号１７７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$、及び／又は

（ｂ）ｉ）配列番号３３０のアミノ酸配列を含むＶ$_H$、又は配列番号２４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含み、かつ配列番号３３０に少なくとも９０％の配列同一性を有するその変異型、及びｉｉ）配列番号３８１のアミノ酸配列を含むＶ$_L$、又は配列番号１７７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、配列番号２７９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含み、かつ配列番号３８１に少なくとも９０％の配列同一性を有するその変異型、又は

ＩＶ．（ａ）ｉ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、配列番号１０３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$、及びｉｉ）配列番号１５４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$、及び／又は

（ｂ）ｉ）配列番号３０７のアミノ酸配列を含むＶ$_H$、又は配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含み、かつ配列番号３０７のアミノ酸配列に少なくとも９０％の配列同一性を有するその変異型、及びｉｉ）配列番号３５８のアミノ酸配列を含むＶ$_L$、又は配列番号１５４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含み、かつ配列番号３５８に少なくとも９０％の配列同一性を有するその変異型、

Ｖ．（ａ）ｉ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$、及びｉｉ）配列番号１６４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、及び配列番号２１５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$、及び／又は

（ｂ）ｉ）配列番号３１７のアミノ酸配列を含むＶ$_H$、又は配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含み、かつ、配列番号３１７に少なくとも９０％の配列同一性を有するその変異型、及びｉｉ）配列番号３６８のアミノ酸配列を含むＶ$_L$、又は配列番号１６４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含み、かつ配列番号３６８に少なくとも９０％の配列同一性を有するその変異型、

又は
ＶＩ．（ａ）ｉ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_H、及びｉｉ）配列番号１６５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１６を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_L、及び／又は
（ｂ）ｉ）配列番号３１８のアミノ酸配列を含むV_H、又は配列番号１２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号６３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含み、かつ配列番号３１８に少なくとも９０％の配列同一性を有するその変異型、及びｉｉ）配列番号３６９のアミノ酸配列を含むV_L、又は配列番号１６５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含み、かつ配列番号３６９に少なくとも９０％の配列同一性を有するその変異型、
を含む、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【請求項２】
抗ＧＰＣ３抗体部分が、
Ｉ．（ａ）ｉ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_H、及びｉｉ）配列番号１５６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_L、及び／又は
（ｂ）配列番号３０９のアミノ酸配列を含むV_H、及び配列番号３６０のアミノ酸配列を含むV_L、又は
ＩＩ．（ａ）ｉ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_H、及びｉｉ）配列番号１７４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_L、及び／又は
（ｂ）配列番号３２７のアミノ酸配列を含むV_H、及び配列番号３７８のアミノ酸配列を含むV_L、又は
ＩＩＩ．（ａ）ｉ）配列番号２４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_H、及びｉｉ）配列番号１７７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_L、及び／又は
（ｂ）配列番号３３０のアミノ酸配列を含むV_H、及び配列番号３８１のアミノ酸配列を含むV_L、
を含む、請求項１に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【請求項３】
請求項１又は２に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトと競合的にＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【請求項４】
（ｉ）抗ＧＰＣ３抗体部分が、完全長抗体、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又は単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）である、かつ／又は
（ｉｉ）抗ＧＰＣ３抗体部分が、Ｆｃ断片に融合している、かつ／又は
（ｉｉｉ）単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが多重特異性である、
請求項１～３のいずれか一項に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【請求項５】
単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが、ペプチドリンカーによって連結された２つの

ｓｃＦｖを含むタンデムｓｃＦｖであり、抗ＧＰＣ３抗体部分が第１のｓｃＦｖであり、かつ第２のｓｃＦｖが、第２の抗原を特異的に認識する第２の抗体部分である、請求項１～４のいずれか一項に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【請求項６】

第２の抗原が、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、ＣＤ３ε、ＣＤ３ζ、ＣＤ２８、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＣＤ１３７、ＣＤ２７、ＣＤ４０Ｌ、及びＨＶＥＭからなる群から選択される、請求項５に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【請求項７】

単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが、

（ａ）抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、

（ｂ）膜貫通ドメインと、

（ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、

を含むキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）である、

請求項１～４のいずれか一項に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【請求項８】

細胞内シグナル伝達ドメインが、ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む、請求項７に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【請求項９】

単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが、

（ａ）抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、

（ｂ）第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子の動員を促進する、キメラ抗体－Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）コンストラクト（ｃａＴＣＲ）である、請求項１～４のいずれか一項に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【請求項１０】

（ｉ）第１のＴＣＲ－ＴＭがＴＣＲγ膜貫通ドメインに由来し、第２のＴＣＲ－ＴＭがＴＣＲδ膜貫通ドメインに由来する、又は

（ｉｉ）第１のＴＣＲ－ＴＭがＴＣＲδ膜貫通ドメインに由来し、第２のＴＣＲ－ＴＭがＴＣＲγ膜貫通ドメインに由来する、

請求項９に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【請求項１１】

単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが、

（ａ）抗ＧＰＣ３抗体部分を含むリガンド結合モジュール、

（ｂ）膜貫通モジュール、及び

（ｃ）共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュール

を含むキメラ共刺激受容体（ＣＳＲ）である、請求項１～４のいずれか一項に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【請求項１２】

共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュールが、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＰＤ－１、ＩＣＯＳ、ＬＦＡ－１、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＫＧ２Ｃ、Ｂ７－Ｈ３、及びＣＤ８３に特異的に結合するリガンドからなる群から選択される共刺激分子の細胞内ドメインの部分を含む、請求項１１に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【請求項１３】

単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが、抗ＧＰＣ３抗体部分及びエフェクタ分子を含む免疫複合体であり、

（ｉ）エフェクタ分子が、薬物、毒素、放射性同位体、タンパク質、ペプチド、及び核酸からなる群から選択される治療薬である、又は

（ｉｉ）エフェクタ分子が標識である、

請求項１～４のいずれか一項に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【請求項１４】
請求項１～１３のいずれか一項に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトのポリペプチド構成要素をコードしている、単離された核酸、又は単離された核酸を含むベクター。
【請求項１５】
請求項１～１３のいずれか一項に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクト、請求項１４に記載の単離された核酸、又は請求項１４に記載のベクターを含む、単離された宿主細胞。
【請求項１６】
請求項４～１３のいずれか一項に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトを発現する、エフェクタ細胞。
【請求項１７】
エフェクタ細胞が、ｃａＴＣＲを更に含む、請求項１１又は１２に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトを発現する、エフェクタ細胞。
【請求項１８】
ｃａＴＣＲが抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲである、請求項１７に記載のエフェクタ細胞。
【請求項１９】
抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが、
（ａ）抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインであって、
（ｉ）抗ＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する、かつ／又は
（ｉｉ）抗ＧＰＣ３抗体部分と細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合に競合する可溶性ＧＰＣ３のＩＣ$_{50}$が、１μｇ／ｍＬ～１００μｇ／ｍＬである、細胞外ドメイン、及び
（ｂ）第１のＴＣＲ－ＴＭを含む第１のＴＣＲＤ及び第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴＣＲＭであって、ＴＣＲＭが少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子の動員を促進する、ＴＣＲＭ、
を含む、請求項１８に記載のエフェクタ細胞。
【請求項２０】
抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが、請求項９又は１０に記載の抗ＧＰＣ３ｃａＴＣＲである、請求項１８又は１９に記載のエフェクタ細胞。
【請求項２１】
エフェクタ細胞がＴ細胞である、請求項１６～２０のいずれか一項に記載のエフェクタ細胞。
【請求項２２】
抗ＧＰＣ３コンストラクトの発現が、エフェクタ細胞の活性化によって誘導される、請求項１６～２１のいずれか一項に記載のエフェクタ細胞。
【請求項２３】
ＧＰＣ３陽性がんを有する個体を治療する方法における使用のための、請求項１～１３のいずれか一項に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、請求項１４に記載の単離された核酸又はベクター、又は請求項１６～２２のいずれか一項に記載のエフェクタ細胞を含む医薬組成物であって、
方法が、前記医薬組成物の有効量を個体に投与することを含む、医薬組成物。
【請求項２４】
ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を診断する方法における使用のための、請求項１３に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトであって、
方法が、
ａ）有効量の抗ＧＰＣ３コンストラクトを個体に投与することと、
ｂ）個体における標識のレベルを決定することであって、閾値レベルを上回る標識のレベルが、個体がＧＰＣ３陽性疾患を有することを示す、決定することと、を含む、
単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【請求項２５】

ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を診断する方法における使用のための、請求項１３に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトであって、
方法が、
ａ）個体に由来するサンプルを、抗ＧＰＣ３コンストラクトと接触させることと、
ｂ）サンプル中の抗ＧＰＣ３コンストラクトに結合している細胞の数を決定すること、であって、閾値レベルを上回る、抗ＧＰＣ３コンストラクトに結合している細胞の数の値が、個体がＧＰＣ３陽性疾患を有することを示す、決定することと、を含む、
単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【請求項２６】
ＧＰＣ３陽性疾患がＧＰＣ３陽性がんである、請求項２４又は２５に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【請求項２７】
ＧＰＣ３陽性がんが肝細胞癌（ＨＣＣ）、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、及び脂肪肉腫からなる群から選択される、請求項２３に記載の医薬組成物、請求項１４に記載の単離された核酸又はベクター、請求項１６～２２のいずれか一項に記載のエフェクタ細胞、又は請求項１～１３のいずれか一項に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【請求項２８】
抗ＧＰＣ３コンストラクトを生成する方法であって、
（ａ）抗ＧＰＣ３コンストラクトを発現するのに有効な条件下で、請求項１４に記載の単離された核酸又はベクターを含む宿主細胞、又は請求項１５に記載の単離された宿主細胞を培養することと、
（ｂ）発現した抗ＧＰＣ３コンストラクトを前記宿主細胞から得ることと、を含む、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、２０１７年４月２６日に出願された米国特許仮出願第６２／４９０，５８６号に対する優先権を主張し、その内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【０００２】
（ＡＳＣＩＩテキストファイルでの配列表の提出）
ＡＳＣＩＩテキストファイルでの以下の提出物の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる：コンピュータ可読形態（ＣＲＦ）の配列表（ファイル名：７５００４２００１２４０ＳＥＱＬＩＳＴ．ｔｘｔ、記録日：２０１８年４月２４日、サイズ：３９５ＫＢ）。
【０００３】
（発明の分野）
本発明は、グリピカン３（ＧＰＣ３）を特異的に認識する抗体コンストラクト、その製造方法、並びに疾患の治療及び診断を含むその使用に関する。
【背景技術】
【０００４】
グリピカン３（ＧＰＣ３；ＳＧＢ、ＤＧＳＸ、ＭＸＲ７、ＳＤＹＳ、ＳＧＢＳ、ＯＣＩ－５、ＳＧＢＳ１、ＧＴＲ２－２としても知られている）は、肝細胞癌（ＨＣＣ）、黒色腫（Ｎａｋａｔｓｕｒａ Ｔ ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．２００４）、肺扁平上皮細胞癌（Ｙｕ Ｘ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｅｔ Ｍｏｌ Ｒｅｓ．２０１５）、卵巣癌（Ｓｔａｄｌｍａｎｎ Ｓ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔ Ｊ Ｇｙｎｅｃｏｌ Ｐａｔｈｏｌ．２００７）、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌（Ｚｙｎｇｅｒ ＤＬ ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｓｕｒｇ Ｐａｔｈｏｌ．２００６）、ウィルムス腫瘍、及び脂肪肉腫（Ｂａｕｍｈｏｅｒ

Ｄ ｅ ｔ ａ ｌ．，Ａｍ Ｊ Ｃｌｉｎ Ｐａｔｈｏｌ．２００８）などの多くの固形腫瘍を含む複数の癌型で過剰発現する細胞表面タンパク質である。ＧＰＣ３を過剰発現するものを含む様々な癌に対する治療法を開発するメディカルニーズが存在する。

【０００５】

ＧＰＣ３遺伝子は、Ｘ染色体上に位置し、５８０アミノ酸（ａａ）の７０ｋＤａの前駆体タンパク質をコードしている。この前駆体タンパク質は、$Ａｒｇ^{３５８}$と$Ｃｙｓ^{３５９}$との間でフューリンによって切断され、ジスルフィド結合によって連結された４０ｋＤａのＮ末端サブユニット及び３０ｋＤａのＣ末端サブユニットを生成することができる。成熟ＧＰＣ３は、細胞膜に近接するＣ末端領域に２本のヘパリン硫酸（ＨＳ）鎖を有するグリコシルホスファチジルイノシトール（ＧＰＩ）アンカーによって細胞表面に結合する。ヘパリン硫酸プロテオグリカンファミリーのメンバーとして、ＧＰＣ３は、ヒト胚で広く発現する癌胎児性タンパク質であり、Ｗｎｔ、ヘッジホグシグナル伝達などのシグナル伝達因子との相互作用を通じて形態形成又は成長を制御する。ＧＰＣ３は、正常な成体肝臓では発現しないが、肝発癌中、ＨＣＣ患者においてＧＰＣ３が再活性化されることが報告されている。Ｙａｍａｕｃｈｉ Ｎらは、正常、非新生物性、及び新生物性の肝組織におけるＧＰＣ３発現を調べ、ＧＰＣ３がＨＣＣ患者の８４％（４７／５６）に存在するが、正常な成体肝臓、肝硬変、又は肝炎では存在しないことを見出した（Ｙａｍａｕｃｈｉ Ｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｄｅｒｎ Ｐａｔｈｏｌｏｇｙ ２００５）。同様の結果が他のグループによって報告された（Ｎａｋａｔｓｕｒａ Ｔ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｂｉｏｐｈｙｓ Ｒｅｓ Ｃｏｍｍｕｎ．２００３；Ｂａｕｍｈｏｅｒ Ｄ ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｃｌｉｎ Ｐａｔｈｏｌ．２００８；Ｓｈｉｒａｋａｗａ Ｈ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｓｃｉ．２００９；Ｗａｎｇ Ｌ ｅｔ ａｌ．，Ｈｅｐａｔｏｂｉｌｉａｒｙ Ｐａｎｃｒｅａｔ Ｄｉｓ Ｉｎｔ．２０１５）。また、ＧＰＣ３が、ＨＣＣ患者では様々な形態で細胞表面から細胞外環境に放出され得るが、健康なドナーでは放出されないことも研究によって示された。したがって、ＧＰＣ３は、ＨＣＣの血清診断マーカーとして現在使用されている（Ｈｉｐｐｏ Ｙ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．２００４；Ｃａｐｕｒｒｏ Ｍ ｅｔ ａｌ．，Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ ２００３；Ｈａｒｕｙａｍａ Ｙ ａｎｄ Ｋａｔａｏｋａ Ｈ，Ｗｏｒｌｄ Ｊ Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．２０１６）。

【０００６】

肝細胞癌（ＨＣＣ）は、最も一般的なタイプの肝臓癌であり、全ての肝臓癌の約７５％を占める。肝臓癌は、世界で５番目に多い癌であり、癌による死亡の２番目に多い原因である。肝臓癌の発生率は、１９８０年から３倍超になっており、肝臓癌の死亡率は、２０００年から１年当たりほぼ３％増加している（ｈｔｔｐｓ：／／ｗｗｗ．ｃａｎｃｅｒ．ｏｒｇ／ｃａｎｃｅｒ／ｌｉｖｅｒ－ｃａｎｃｅｒ／ａｂｏｕｔ／ｗｈａｔ－ｉｓ－ｋｅｙ－ｓｔａｔｉｓｔｉｃｓ．ｈｔｍｌ）。肝臓癌の予後は非常に悪く、発生率に対する死亡率の全体比は０．９５である。現在、肝臓癌治療は、主に化学療法又は外科手術に限定されている。しかしながら、肝臓細胞は、広い範囲の一般的に使用されている化学療法剤を排出することができるＡＴＰ結合カセット（ＡＢＣ）トランスポータを発現するので、化学療法の効果は多くの場合限定的である。別の選択肢である外科手術は、早期癌においてのみ利用可能であり、この場合、５年生存率は３１％である。後期で癌と診断された場合（５年生存率：３～１１％）、唯一承認されている化学療法治療は、チロシンキナーゼ阻害剤であるソラフェニブである。この治療は、生存率を２～３ヶ月間延長させるだけである（Ｆｌｅｍｉｎｇ ＢＤ ａｎｄ Ｈｏ Ｍ，Ｔｏｘｉｎｓ ２０１６）。したがって、肝臓癌を治療するための新規方法の開発が望まれている。

【０００７】

本明細書で参照した全ての出版物、特許、特許出願、及び特許出願公開の開示内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００８】
【文献】Ｎａｋａｔｓｕｒａ Ｔ ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．２００４
Ｙｕ Ｘ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｅｔ Ｍｏｌ Ｒｅｓ．２０１５
Ｓｔａｄｌｍａｎｎ Ｓ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔ Ｊ Ｇｙｎｅｃｏｌ Ｐａｔｈｏｌ．２００７
Ｚｙｎｇｅｒ ＤＬ ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｓｕｒｇ Ｐａｔｈｏｌ．２００６
Ｂａｕｍｈｏｅｒ Ｄ ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｃｌｉｎ Ｐａｔｈｏｌ．２００８
Ｙａｍａｕｃｈｉ Ｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｄｅｒｎ Ｐａｔｈｏｌｏｇｙ ２００５
Ｎａｋａｔｓｕｒａ Ｔ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｂｉｏｐｈｙｓ Ｒｅｓ Ｃｏｍｍｕｎ．２００３
Ｂａｕｍｈｏｅｒ Ｄ ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｃｌｉｎ Ｐａｔｈｏｌ．２００８
Ｓｈｉｒａｋａｗａ Ｈ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｓｃｉ．２００９
Ｗａｎｇ Ｌ ｅｔ ａｌ．，Ｈｅｐａｔｏｂｉｌｉａｒｙ Ｐａｎｃｒｅａｔ Ｄｉｓ Ｉｎｔ．２０１５
Ｈｉｐｐｏ Ｙ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．２００４
Ｃａｐｕｒｒｏ Ｍ ｅｔ ａｌ．，Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ ２００３
Ｈａｒｕｙａｍａ Ｙ ａｎｄ Ｋａｔａｏｋａ Ｈ，Ｗｏｒｌｄ Ｊ Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．２０１６
Ｆｌｅｍｉｎｇ ＢＤ ａｎｄ Ｈｏ Ｍ，Ｔｏｘｉｎｓ ２０１６
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００９】
本出願は、一態様では、細胞表面結合ＧＰＣ３（本明細書では「ネイティブフォーマットＧＰＣ３」又は「ネイティブＧＰＣ３（ｎＧＰＣ３）」と称される）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を提供する。いくつかの実施形態では、コンストラクト（本明細書では、「抗ＧＰＣ３コンストラクト」と称される）は、ネイティブフォーマットＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分（本明細書では、「抗ＧＰＣ３抗体部分」と称される）を含む。
【００１０】
したがって、いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトの細胞表面結合ＧＰＣ３に対するK_dは、約０．１ｎＭ～約２ｎＭ（例えば、約０．１ｎＭ～約１ｎＭ又は約０．１ｎＭ～約１．５ｎＭ）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトと細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合に競合する可溶性ＧＰＣ３のＩＣ５０は、約１μｇ／ｍＬ～約１００μｇ／ｍＬ（例えば、約１μｇ／ｍＬ～約１０μｇ／ｍＬ又は約２μｇ／ｍＬ～約５μｇ／ｍＬ）である。いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３は、配列番号４６０又は配列番号４６２のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２細胞で発現するＧＰＣ３である。いくつかの実施形態では、可溶性ＧＰＣ３は、配列番号４６１又は配列番号４６３のアミノ酸配列を含む。
【００１１】
上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。
【００１２】
上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。
【００１３】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号４６２のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。

【００１４】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号４６３のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。

【００１５】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、抗体部分は、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号４６４のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。

【００１６】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、抗体部分は、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。

【００１７】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、抗体部分は、ＧＣ３３と競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合しない。いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号５３６のアミノ酸配列内のエピトープには結合しない。いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号５３６のアミノ酸配列を含む断片には結合しない。

【００１８】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。

【００１９】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は癌細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、癌細胞は、肝細胞癌（ＨＣＣ）などの肝臓癌細胞である。

【００２０】

本出願は、別の態様では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、当該抗体部分が、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含む重鎖相補性決定領域（ＨＣ－ＣＤＲ）１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含む重鎖可変ドメイン（V_H）と、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含む軽鎖相補性決定領域（ＬＣ－ＣＤＲ）１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含む軽鎖可変ドメイン（V_L）とを含む、抗ＧＰＣ３コンストラクトを提供する。いくつかの実施形態では、抗体部分は、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び

配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【００２１】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、抗体部分は、ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列又は配列番号３０７～３３７のいずれか１つに対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列又は配列番号３５８～３８８のいずれか１つに対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗体部分は、ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。

【００２２】

本出願は、別の態様では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、当該抗体部分が、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトの配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む、抗ＧＰＣ３コンストラクトを提供する。

【００２３】

本出願は、別の態様では、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトであって、当該抗体部分が、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトを提供する。いくつかの実施形態では、抗体部分は、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【００２４】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、抗体部分は、ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列又は配列番号３３８～３５７のいずれか１つに対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列又は配列番号３８９～４０８のいずれか１つに対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗体部分は、ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。

【００２５】

本出願は、別の態様では、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、当該抗体部分が、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトの配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸

配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む、抗ＧＰＣ３コンストラクトを提供する。

【００２６】

本出願は、別の態様では、上記の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つの単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトと競合的にＧＰＣ３に特異的に結合する抗体部分を含む、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を提供する。

【００２７】

本出願は、別の態様では、上記の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つの単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトと競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗体部分を含む、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を提供する。

【００２８】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。

【００２９】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分は、完全長抗体、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又は単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）である。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。

【００３０】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分は、場合によりリンカーを介してＦｃ断片に融合している。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ＩｇＧ１　Ｆｃ断片である。

【００３１】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトは、完全長抗体である。

【００３２】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトは、単一特異性である。

【００３３】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトは、二重特異性などの多重特異性である。いくつかの実施形態では、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトは、タンデムｓｃＦｖ、ダイアボディ（Ｄｂ）、単鎖ダイアボディ（ｓｃＤｂ）、二重親和性リターゲティング（ＤＡＲＴ）抗体、Ｆ（ａｂ’）２、二重可変ドメイン（ＤＶＤ）抗体、ノブ・インツー・ホール（ＫｉＨ）抗体、ドック・アンド・ロック（ＤＮＬ）抗体、化学的に架橋された抗体、ヘテロ多量体抗体、又はヘテロコンジュゲート抗体である。いくつかの実施形態では、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ペプチドリンカーによって連結された２つのｓｃＦｖを含むタンデムｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、ＴＳＧＧＧＧＳ（配列番号４７４）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトは、第２の抗原を特異的に認識する第２の抗体部分を更に含む。いくつかの実施形態では、第２の抗原は、細胞傷害性Ｔ細胞、ヘルパーＴ細胞、又はナチュラルキラーＴ細胞などのＴ細胞の表面上の抗原である。いくつかの実施形態では、第２の抗原は、Ｂ細胞、ナチュラルキラー細胞、樹状

細胞、マクロファージ、単球、又は好中球の表面上の抗原である。いくつかの実施形態では、第２の抗原は、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、ＣＤ３ε、ＣＤ３ζ、ＣＤ２８、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＣＤ１３７、ＣＤ２７、ＣＤ４０Ｌ、及びＨＶＥＭからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、第２の抗原は、ＣＤ３εである。いくつかの実施形態では、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ＧＰＣ３を特異的に認識するＮ末端ｓｃＦｖと、ＣＤ３εを特異的に認識するＣ末端ｓｃＦｖとを含むタンデムｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトの発現は、遺伝子操作されたＴ細胞の活性化によって誘導される。いくつかの実施形態では、遺伝子操作されたＴ細胞は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を含むＴ細胞である。いくつかの実施形態では、遺伝子操作されたＴ細胞は、キメラ抗体－Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）コンストラクト（ｃａＴＣＲ）を含むＴ細胞である。

【００３４】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトは、（ａ）抗体部分を含む細胞外ドメインと、（ｂ）膜貫通ドメインと、（ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含むキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）である。いくつかの実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む。

【００３５】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトは、（ａ）抗体部分を含む細胞外ドメインと、（ｂ）第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子の動員を促進する、キメラ抗体－Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）コンストラクト（ｃａＴＣＲ）である。いくつかの実施形態では、第１のＴＣＲ－ＴＭは、第１の天然に生じるＴＣＲの膜貫通ドメインのうちの１つに由来し、第２のＴＣＲ－ＴＭは、第１の天然に生じるＴＣＲの他の膜貫通ドメインに由来する。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ－ＴＭのうちの少なくとも１つは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、第１の天然に生じるＴ細胞受容体膜貫通ドメインを含むＴＣＲＭと比較して、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子の動員を増強させる。いくつかの実施形態では、第１の天然に生じるＴＣＲは、γ／δＴＣＲである。いくつかの実施形態では、第１の天然に生じるＴＣＲは、α／βＴＣＲである。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ会合シグナル伝達分子は、ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及びζζ（ＣＤ３ζ又はＣＤ３ζζとしても知られている）からなる群から選択される。

【００３６】

上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれかによるいくつかの実施形態では、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトは、抗体部分及びエフェクタ分子を含む免疫複合体である。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は、薬物、毒素、放射性同位体、タンパク質、ペプチド、及び核酸からなる群から選択される治療薬である。いくつかの実施形態では、治療薬は、薬物又は毒素である。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は、標識である。

【００３７】

本出願は、別の態様では、上記の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つのポリペプチド構成要素をコードしている単離された核酸を提供する。

【００３８】

本出願は、別の態様では、上記の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つのポリペプチド構成要素をコードしている単離された核酸を含むベクターを提供する。

【００３９】

本出願は、別の態様では、上記の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つを含む単離

された宿主細胞を提供する。

【００４０】

本出願は、別の態様では、上記の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つのポリペプチド構成要素をコードしている単離された核酸を含む単離された宿主細胞を提供する。

【００４１】

本出願は、別の態様では、上記の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つのポリペプチド構成要素をコードしている単離された核酸を含むベクターを含む単離された宿主細胞を提供する。

【００４２】

本出願は、別の態様では、上記の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つを発現するエフェクタ細胞を提供する。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞はＴ細胞である。

【００４３】

本出願は、別の態様では、上記の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）のいずれか１つと、医薬的に許容される担体と、を含む医薬組成物を提供する。

【００４４】

また、上記の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つ、上記の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つのポリペプチド構成要素をコードしている単離された核酸、上記の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つのポリペプチド構成要素をコードしている核酸を含むベクター、上記の単離された細胞のいずれか１つ、又は上記のエフェクタ細胞のいずれか１つを含むキットも提供される。

【００４５】

本出願は、別の態様では、サンプル中のＧＰＣ３を検出する方法であって、当該サンプルを、抗体部分及び標識を含む上記の単離された抗ＧＰＣ３免疫複合体のいずれか１つと接触させることと、当該標識の存在を検出することと、を含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、サンプルは、細胞表面結合ＧＰＣ３を有する細胞を含む。いくつかの実施形態では、サンプルは、可溶性ＧＰＣ３を含む。

【００４６】

本出願は、別の態様では、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を治療する方法であって、ａ）有効量の上記の医薬組成物のいずれか１つ又はｂ）有効量の上記のエフェクタ細胞のいずれか１つを当該個体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、投与は、静脈内又は腫瘍内の経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、第１の疾患部位に対して遠位の注入部位に行われる。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を治療する方法は、付加療法を個体に投与することを更に含む。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患は、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫などの癌である。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣなどのＨＣＣである。

【００４７】

本出願は、別の態様では、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を診断する方法であって、ａ）有効量の、抗体部分及び標識を含む上記の単離された抗ＧＰＣ３免疫複合体のいずれか１つを投与することと、ｂ）当該個体における当該標識のレベルを決定することであって、閾値レベルを上回る当該標識のレベルが、当該個体が当該ＧＰＣ３陽性疾患を有することを示す、決定することと、を含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患は、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫などの癌である。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣなどのＨＣＣである。

【００４８】

本出願は、別の態様では、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を診断する方法であって、ａ）当該個体に由来するサンプルを、抗体部分及び標識を含む上記の単離された抗ＧＰＣ３免疫複合体のいずれか１つと接触させることと、ｂ）当該サンプル中の当該単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトに結合している細胞の数を決定することであって、閾値レベルを上回る、当該単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトに結合している細胞の数の値が、当該個体が当該ＧＰＣ３陽性疾患を有することを示す、決定することと、を含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患は、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫などの癌である。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣなどのＨＣＣである。

【００４９】

また、本明細書に記載のコンストラクトのいずれかを作製する方法、製品、及び本明細書に記載の方法に好適なキットも提供される。

【図面の簡単な説明】

【００５０】

【図１Ａ】１４個の例示的なＧＰＣ３Ａファージクローンの ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合のＦＡＣＳ分析を示す。ヘルパーファージのＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合を対照として使用した。

【図１Ｂ】１４個の例示的なＧＰＣ３Ａファージクローンの ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合のＦＡＣＳ分析を示す。ヘルパーファージのＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合を対照として使用した。

【図１Ｃ】１４個の例示的なＧＰＣ３Ａファージクローンの ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合のＦＡＣＳ分析を示す。ヘルパーファージのＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合を対照として使用した。

【図１Ｄ】１４個の例示的なＧＰＣ３Ａファージクローンの ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合のＦＡＣＳ分析を示す。ヘルパーファージのＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合を対照として使用した。

【図１Ｅ】１４個の例示的なＧＰＣ３Ａファージクローンの ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合のＦＡＣＳ分析を示す。ヘルパーファージのＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合を対照として使用した。

【図１Ｆ】１４個の例示的なＧＰＣ３Ａファージクローンの ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合のＦＡＣＳ分析を示す。ヘルパーファージのＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合を対照として使用した。

【図１Ｇ】１４個の例示的なＧＰＣ３Ａファージクローンの ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合のＦＡＣＳ分析を示す。ヘルパーファージのＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合を対照として使用した。

【００５１】

【図２Ａ】５個の例示的なＧＰＣ３Ａファージクローンの ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞株及びＨｅｐＧ２　ＧＰＣ３ノックアウト細胞株（ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－３）への結合のＦＡＣＳ分析を示す。ヘルパーファージを陰性対照として使用した。

【図２Ｂ】５個の例示的なＧＰＣ３Ａファージクローンの ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞株及びＨｅｐＧ２　ＧＰＣ３ノックアウト細胞株（ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－３）への結合のＦＡＣＳ分析を示す。ヘルパーファージを陰性対照として使用した。

【図２Ｃ】５個の例示的なＧＰＣ３Ａファージクローンの ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞株及びＨｅｐＧ２　ＧＰＣ３ノックアウト細胞株（ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－３）への結合のＦＡＣＳ分析を示す。ヘルパーファージを陰性対照として使用した。

【図２Ｄ】５個の例示的なＧＰＣ３Ａファージクローンの ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞株及

びＨｅｐＧ２　ＧＰＣ３ノックアウト細胞株（ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－３）への結合のＦＡＣＳ分析を示す。ヘルパーファージを陰性対照として使用した。
【図２Ｅ】５個の例示的なＧＰＣ３Ａファージクローンの ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞株及びＨｅｐＧ２　ＧＰＣ３ノックアウト細胞株（ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－３）への結合のＦＡＣＳ分析を示す。ヘルパーファージを陰性対照として使用した。
【００５２】
【図３Ａ】４個の例示的なＧＰＣ３Ｂファージクローンの ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞株及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２細胞株への結合のＦＡＣＳ分析を示す。ヘルパーファージを陰性対照として使用した。
【図３Ｂ】４個の例示的なＧＰＣ３Ｂファージクローンの ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞株及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２細胞株への結合のＦＡＣＳ分析を示す。ヘルパーファージを陰性対照として使用した。
【図３Ｃ】４個の例示的なＧＰＣ３Ｂファージクローンの ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞株及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２細胞株への結合のＦＡＣＳ分析を示す。ヘルパーファージを陰性対照として使用した。
【図３Ｄ】４個の例示的なＧＰＣ３Ｂファージクローンの ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞株及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２細胞株への結合のＦＡＣＳ分析を示す。ヘルパーファージを陰性対照として使用した。
【００５３】
【図４Ａ】例示的なＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体（ＧＰＣ３Ａスクリーニングから得られた抗ＧＰＣ３×ＣＤ３ジ－ｓｃＦｖ）のＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞及びＧＰＣ３陰性ＳＫ－Ｈｅｐ１細胞への結合のＦＡＣＳ分析を示す。Ｙ軸は、中央蛍光強度（ＭＦＩ）を示す。
【図４Ｂ】例示的なＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体（ＧＰＣ３Ａスクリーニングから得られた抗ＧＰＣ３×ＣＤ３ジ－ｓｃＦｖ）のＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞及びＧＰＣ３陰性ＳＫ－Ｈｅｐ１細胞への結合のＦＡＣＳ分析を示す。Ｙ軸は、中央蛍光強度（ＭＦＩ）を示す。
【００５４】
【図５Ａ】例示的なＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体（ＧＰＣ３Ａスクリーニングから得られた抗ＧＰＣ３×ＣＤ３ジ－ｓｃＦｖ）のＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合のＦＡＣＳ分析を示す。対照Ｌ２Ｋ二重特異性抗体のＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合を陰性対照として使用した。
【図５Ｂ】例示的なＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体（ＧＰＣ３Ａスクリーニングから得られた抗ＧＰＣ３×ＣＤ３ジ－ｓｃＦｖ）のＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合のＦＡＣＳ分析を示す。対照Ｌ２Ｋ二重特異性抗体のＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合を陰性対照として使用した。
【００５５】
【図６】可溶性ＧＰＣ３抗原の有り又は無しで提供される、競合アッセイにおけるＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体のＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合のＦＡＣＳ分析を示す。陰性対照Ｌ２Ｋ二重特異性抗体及び市販の抗ＧＰＣ３（１Ｇ１２）抗体を比較目的で使用した。
【００５６】
【図７Ａ】ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞、ＧＰＣ３陰性ＳＫ－Ｈｅｐ１細胞、ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞、ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞（＃２及び＃１１）で試験した、ＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体によるＴ細胞媒介性標的細胞の殺傷を示す。
【図７Ｂ】ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞、ＧＰＣ３陰性ＳＫ－Ｈｅｐ１細胞、ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞、及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２細胞で試験した、ＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体によるＴ細胞媒介性標的細胞の殺傷を示す。

【００５７】
【図８】ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞株の生成に成功したことを示す、市販のマウス抗ヒトＧＰＣ３抗体（１Ｇ１２）を使用したＨｅｐＧ２　ＧＰＣ３ノックアウト細胞株のＦＡＣＳ分析を示す。
【００５８】
【図９Ａ】マウス定常ドメイン／Ｆｃ領域（ｍＩｇＧ１）を有する抗ヒトＧＰＣ３（ｈＧＰＣ３）単一特異性ＩｇＧ抗体のＧＰＣ３陽性ＨｅｐＧ２細胞への結合のＦＡＣＳ分析を示す。
【図９Ｂ】抗ｈＧＰＣ３　ｍＩｇＧ１のＧＰＣ３陰性ＳＫ－Ｈｅｐ１細胞への結合のＦＡＣＳ分析を示す。
【００５９】
【図１０】可溶性ＧＰＣ３によるＧＰＣ３　Ｌ２Ｋ抗体（ＧＰＣ３Ｂ－８７　Ｌ２Ｋ又はＧＣ３３　Ｌ２Ｋ）のＨｅｐＧ２結合についての競合を示すＦＡＣＳ蛍光強度曲線を示す。
【００６０】
【図１１】ＧＰＣ３　ＬＫ２クローンのＨｅｐＧ２細胞に対する結合親和性を示すＦＡＣＳ蛍光強度曲線を示す。
【００６１】
【図１２】ＧＰＣ３　ｍＩｇＧ１クローンのラットＧＰＣ３及びヒトＧＰＣ３（ｈＧＰＣ３）に対する反応性のＥＬＩＳＡ分析を示す。
【００６２】
【図１３】線形フォーマットのエピトープビニングを使用した、ＧＣ３３－ｍＩｇＧ、ＧＰＣ３Ａ－３７ｍＩｇＧ、及びＧＰＣ３Ａ－５５ｍＩｇＧのＧＰＣ３エピトープビニング分析を示す。
【００６３】
【図１４】サンドイッチフォーマットのエピトープビニングを使用した、ＧＣ３３－ｍＩｇＧ、ＧＰＣ３Ａ－３７ｍＩｇＧ、及びＧＰＣ３Ａ－５５ｍＩｇＧのＧＰＣ３エピトープビニング分析を示す。
【００６４】
【図１５Ａ】ＧＰＣ３Ａ　Ｌ２ＫクローンとＧＰＣ３抗原との間の結合の単一サイクル反応速度分析からプロットされたデータを示す。
【図１５Ｂ】ＧＰＣ３Ａ　Ｌ２ＫクローンとＧＰＣ３抗原との間の結合の単一サイクル反応速度分析からプロットされたデータを示す。
【００６５】
【図１６】ＧＰＣ３Ａ又はＧＰＣ３Ｂ　ＣＡＲ－Ｔ細胞及びＧＣ３３　ＣＡＲ－Ｔ細胞によって処理された、ＧＰＣ３陽性ＨｅｐＧ２細胞、ＧＰＣ３陰性ＳＫ－Ｈｅｐ１細胞、ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞、及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞におけるＬＤＨ細胞傷害性分析を示す。
【００６６】
【図１７Ａ】ＧＰＣ３Ａ又はＧＰＣ３Ｂ　ＣＡＲ－Ｔ細胞及びＧＣ３３　ＣＡＲ－Ｔ細胞によって処理された、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞、ＧＰＣ３陰性ＳＫ－Ｈｅｐ１細胞、ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞、及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞におけるＬＤＨ細胞傷害性分析を示す。
【図１７Ｂ】ＧＰＣ３Ａ又はＧＰＣ３Ｂ　ＣＡＲ－Ｔ細胞及びＧＣ３３　ＣＡＲ－Ｔ細胞によって処理された、ＧＰＣ３陽性ＪＨＨ５細胞、ＧＰＣ３陰性Ａ－４９８細胞、及びＧＰＣ３陰性ＰＡＮＣ－１細胞におけるＬＤＨ細胞傷害性分析を示す。
【００６７】
【図１８】指定のｃａＴＣＲ陽性率（５％～４０％）における抗ＡＦＰ１５８／ＨＬＡ－Ａ＊２：０１　ｃａＴＣＲ単独、又は抗ＡＦＰ１５８／ＨＬＡ－Ａ＊２：０１　ｃａＴＣＲ＋抗ＣＤ３／抗ＧＰＣ３　ＢｓＡｂのいずれかで形質導入されたＴ細胞によって媒介される、癌細胞株ＨｅｐＧ２（ＡＦＰ$^{+}$／ＧＰＣ３$^{+}$）及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ（Ａ

ＦＰ$^{+}$／ＧＰＣ３$^{-}$）の殺傷による特異的溶解率（％）を示す。
【００６８】
【図１９】指定のｃａＴＣＲ陽性率（５％～４０％）における抗ＡＦＰ１５８／ＨＬＡ－Ａ＊２：０１　ｃａＴＣＲ単独、又は抗ＡＦＰ１５８／ＨＬＡ－Ａ＊２：０１　ｃａＴＣＲ＋抗ＣＤ３／抗ＧＰＣ３　ＢｓＡｂのいずれかで形質導入されたＴ細胞によって媒介される、癌細胞株ＨｅｐＧ２及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯのインビトロにおける殺傷後の上清中にみられるサイトカイン（ＩＬ－２、ＩＦＮ－γ、及びＴＮＦ－α）の濃度を示す。
【００６９】
【図２０】活性化された抗ＡＦＰ１５８／ＨＬＡ－Ａ＊２：０１　ｃａＴＣＲ＋抗ＣＤ３／抗ＧＰＣ３　ＢｓＡｂ　Ｔ細胞から放出された抗ＣＤ３／抗ＧＰＣ３　ＢｓＡｂによって媒介される、標的特異的癌細胞株の殺傷の増強を示す。指定された形質導入Ｔ細胞及び標的細胞を一緒にインキュベートし、ＢｓＡｂに対しては透過性であるがＴ細胞に対しては透過性ではない膜によって、指定の標的細胞及びモックＴ細胞から分離した。
【００７０】
【図２１】抗ＡＦＰ１５８／ＨＬＡ－Ａ＊２：０１　ｃａＴＣＲ－１－０単独、抗ＧＰＣ３　ＣＳＲ単独、又は抗ＡＦＰ１５８／ＨＬＡ－Ａ＊２：０１　ｃａＴＣＲ（１－０及び１－ＴＭ５）＋抗ＧＰＣ３　ＣＳＲで形質導入されたＴ細胞によって媒介される、癌細胞株ＨｅｐＧ２（ＡＦＰ$^{+}$／ＧＰＣ３$^{+}$）及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３．ｋｏ（ＡＦＰ$^{+}$／ＧＰＣ３$^{-}$）の殺傷による特異的溶解率（％）を示す。
【００７１】
【図２２】抗ＡＦＰ１５８／ＨＬＡ－Ａ＊２：０１　ｃａＴＣＲ－１－０単独、抗ＧＰＣ３　ＣＳＲ単独、又は抗ＡＦＰ１５８／ＨＬＡ－Ａ＊２：０１　ｃａＴＣＲ（１－０及び１－ＴＭ５）＋抗ＧＰＣ３　ＣＳＲで形質導入されたＴ細胞によって媒介される、癌細胞株ＨｅｐＧ２及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯのインビトロにおける殺傷後の上清中にみられるサイトカイン（ＩＬ－２、ＩＦＮ－γ、及びＴＮＦ－α）の濃度を示す。
【００７２】
【図２３】癌細胞株ＨｅｐＧ２で刺激した後、抗ＡＦＰ１５８／ＨＬＡ－Ａ＊２：０１　ｃａＴＣＲ－１－０単独、抗ＧＰＣ３　ＣＳＲ単独、又は抗ＡＦＰ１５８／ＨＬＡ－Ａ＊２：０１　ｃａＴＣＲ（１－０及び１－ＴＭ５）＋抗ＧＰＣ３　ＣＳＲで形質導入されたＴ細胞における（ＣＤ１０７ａの発現によって決定した）脱顆粒活性を示す。
【００７３】
【図２４】癌細胞株ＨｅｐＧ２で刺激した後、抗ＡＦＰ１５８／ＨＬＡ－Ａ＊２：０１　ｃａＴＣＲ－１－０単独、抗ＧＰＣ３　ＣＳＲ単独、又は抗ＡＦＰ１５８／ＨＬＡ－Ａ＊２：０１　ｃａＴＣＲ（１－０及び１－ＴＭ５）＋抗ＧＰＣ３　ＣＳＲで形質導入されたＴ細胞の（ＣＦＳＥ色素希釈によって決定した）増殖を示す。
【００７４】
【図２５】擬似治療を用いた、又は抗ＡＦＰ　ＣＡＲ、若しくは抗ＧＰＣ３　ＣＳＲと組み合わせた抗ＡＦＰ　ＣＡＲで形質導入されたＴ細胞を単回腫瘍内注射した、ＨｅｐＧ２の皮下マウスモデルにおける腫瘍成長を示す。
【発明を実施するための形態】
【００７５】
本出願は、一態様では、細胞表面結合ＧＰＣ３（本明細書では「ネイティブフォーマットＧＰＣ３」又は「ネイティブＧＰＣ３（ｎＧＰＣ３）」と称される）を特異的に認識する抗体部分（本明細書では「抗ＧＰＣ３抗体部分」と称される）を含むコンストラクト（本明細書では、「抗ＧＰＣ３コンストラクト」と称される）（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を提供する。これらの抗ＧＰＣ３コンストラクトは、循環ＧＰＣ３タンパク質又は血清中の遊離ＧＰＣ３ペプチドなどの非細胞表面結合ＧＰＣ３（本明細書では「可溶性ＧＰＣ３（ｓＧＰＣ３）」又は「非ネイティブＧＰＣ３」と称される）とは対照的に、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。
【００７６】

抗ＣＤ３二重特異性抗体としてアームされる（armed）か又はＴ細胞によって発現されるキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）中に存在する場合、抗ＣＤ３抗体部分は、ＧＰＣ３発現標的細胞（ＧＰＣ３発現癌細胞など）を殺傷するように、ヒトＴ細胞を特異的にリダイレクトした。このストラテジーは、任意のフォーマットのＧＰＣ３（特に可溶性ＧＰＣ３）に対する抗体を使用するよりも大きな技術的利点を提供するが、その理由は、腫瘍部位に対するＴ細胞のターゲティングが、はるかにより効率的かつ正確になり得、その結果、正常組織を損傷することなく、有効なＴ細胞媒介性癌細胞殺傷を行うことができるためである。更に、検出可能部分に融合したとき、抗ＧＰＣ３抗体部分は、循環ＧＰＣ３レベルよりも潜在的に関連性の高い疾患進行の尺度である、細胞表面（ＧＰＣ３陽性腫瘍細胞など）上でＧＰＣ３を発現している細胞の数及び分布の変化に対する感度の高い、ＧＰＣ３陽性疾患又は障害の診断及び予後を可能にする。

【００７７】

本出願は、また、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）も提供する。これらのコンストラクトはまた、抗ＣＤ３二重特異性抗体としてアームされてもよく、又はＴ細胞によって発現されるＣＡＲ中に存在していてもよい。ＧＰＣ３は、細胞表面上で発現する場合もあり、又は癌患者（ＨＣＣ患者など）では様々な形態で細胞表面から細胞外環境へと放出される場合もある。したがって、これらの抗ＧＰＣ３コンストラクトを検出可能部分に融合させ、診断及び予後の目的で使用することもできる。

【００７８】

ファージディスプレイ技術を使用して、本発明者らは、細胞表面結合ヒトＧＰＣ３に対して特異的でありかつ高い親和性を示す複数のモノクローナル抗体を生成した。フローサイトメトリー及びＴ細胞媒介性細胞傷害アッセイによって、これらの抗体が、ネイティブフォーマットのＧＰＣ３に限定的に、ＧＰＣ３発現癌細胞株を認識することが実証された。抗ＣＤ３二重特異性抗体又はＣＡＲ－Ｔ細胞としてアームされたとき、抗体は、ＧＰＣ３陽性標的癌細胞を殺傷するようにヒトＴ細胞をリダイレクトした。本明細書に提示されるデータは、本明細書に記載の細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクトが、固形腫瘍適応症（例えば、ＨＣＣ）などの癌適応症のための有効な治療薬となり得ることを実証する。

【００７９】

ファージディスプレイ技術を使用して、本発明者らはまた、ヒトＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に対して特異的かつ高親和性である複数のモノクローナル抗体も生成した。フローサイトメトリー及びＴ細胞媒介性細胞傷害アッセイによって、これらの抗体がＧＰＣ３を特異的に認識することが実証された。

【００８０】

したがって、本出願は、細胞表面結合ＧＰＣ３などのＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含むコンストラクト（単離コンストラクトなど）を提供する。コンストラクトは、例えば、抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖ、抗ＧＰＣ３　Ｆｃ融合タンパク質、完全長抗ＧＰＣ３抗体、多重特異性（二重特異性など）抗ＧＰＣ３分子（例えば、タンデムジｓｃＦｖ二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）、抗ＧＰＣ３キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、抗ＧＰＣ３キメラ抗体－Ｔ細胞受容体（ｃａＴＣＲ）、及び抗ＧＰＣ３免疫複合体であってよい。

【００８１】

別の態様では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）又はコンストラクトの抗ＧＰＣ３抗体部分の部分（細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識するものなど）をコードしている核酸が提供される。

【００８２】

別の態様では、ＧＰＣ３（細胞表面結合ＧＰＣ３など）を特異的に認識する抗体部分を含む、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む組成物（医薬組成物など）が提供される。本組成物は、抗ＧＰＣ３コンストラクト（細胞表面結合ＧＰＣ３など）、又は抗ＧＰＣ３コンストラクトを発現するか若しくは会合するエ

フェクタ細胞（例えば、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現するＴ細胞、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識するＣＡＲ）を含む医薬組成物であってよい。

【００８３】

また、治療又は診断目的で抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、又は抗ＧＰＣ３コンストラクトを発現するか若しくは会合する細胞など）を作製及び使用する方法、並びにこのような方法に有用なキット及び製品も提供される。

定義

【００８４】

本明細書で使用するとき、「治療」又は「治療する」は、臨床結果を含む有益な又は所望の結果を得るためのアプローチである。本発明の目的で、有益な又は所望の臨床結果としては、以下のうちの１つ以上が挙げられるが、これらに限定されない：疾患から生じる１つ以上の症状を軽減する、疾患の程度を減弱する、疾患を安定化する（例えば、疾患の悪化を防止する若しくは遅らせる）、疾患の拡散（例えば、転移）を防止する若しくは遅らせる、疾患の再発を防止する若しくは遅らせる、疾患の進行を遅らせる若しくは減速させる、疾患状態を回復させる、疾患の（部分又は完全）寛解をもたらす、疾患を治療するために必要な１つ以上の他の薬物療法の用量を減らす、疾患の進行を遅らせる、生活の質を増大若しくは改善する、体重を増加させる、及び／又は生存期間を延長する。また「治療」には、癌の病理学的帰結（例えば、腫瘍体積）の低減も包含される。本発明の方法は、治療のこれらの態様のうちのいずれか１つ以上を企図する。

【００８５】

「活性化」は、Ｔ細胞に関して本明細書で使用するとき、検出可能な細胞増殖を誘導するために十分に刺激されたＴ細胞の状態を指す。また、活性化は、誘導されたサイトカイン産生、及び検出可能なエフェクタ機能と関連付けることもできる。

【００８６】

用語「抗体部分」は、完全長抗体及びその抗原結合断片を含む。完全長抗体は、２本の重鎖及び２本の軽鎖を含む。軽鎖及び重鎖の可変領域は、抗原結合に関与している。両鎖における可変領域は、一般に、相補性決定領域（ＣＤＲ）と呼ばれる３つの高度に可変性のループ（ＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、及びＬＣ－ＣＤＲ３を含む軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ、ＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、及びＨＣ－ＣＤＲ３を含む重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ）を含有する。本明細書に開示される抗体及び抗原結合断片のＣＤＲ境界は、Ｋａｂａｔ、Ｃｈｏｔｈｉａ、又はＡｌ－Ｌａｚｉｋａｎｉの慣行によって定義又は同定してよい（Ａｌ－Ｌａｚｉｋａｎｉ　１９９７；Ｃｈｏｔｈｉａ　１９８５；Ｃｈｏｔｈｉａ　１９８７；Ｃｈｏｔｈｉａ　１９８９；Ｋａｂａｔ　１９８７；Ｋａｂａｔ　１９９１）。重鎖又は軽鎖の３つのＣＤＲは、ＣＤＲよりも高度に保存され、超可変ループを支持するためのスキャフォールドを形成する、フレームワーク領域（ＦＲ）として知られているフランキング伸長の間に介在する。重鎖及び軽鎖の定常領域は、抗原結合には関与しないが、様々なエフェクタ機能を示す。抗体は、その重鎖の定常領域のアミノ酸配列に基づいてクラスに割り当てられる。抗体の５つの主要なクラス又はアイソタイプは、それぞれα、δ、ε、γ、及びμ重鎖の存在を特徴とするＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、及びＩｇＭである。主な抗体クラスのうちのいくつかは、ｌｇＧ１（γ１重鎖）、ｌｇＧ２（γ２重鎖）、ｌｇＧ３（γ３重鎖）、ｌｇＧ４（γ４重鎖）、ｌｇＡ１（α１重鎖）、又はｌｇＡ２（α２重鎖）などのサブクラスに分類される。

【００８７】

用語「抗原結合断片」は、本明細書で使用するとき、例えば、ダイアボディ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ断片、ジスルフィド安定化Ｆｖ断片（ｄｓＦｖ）、（ｄｓＦｖ）２、二重特異性ｄｓＦｖ（ｄｓＦｖ－ｄｓＦｖ’）、ジスルフィド安定化ダイアボディ（ｄｓダイアボディ）、単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、ｓｃＦｖ二量体（二価ダイアボディ）、１つ以上のＣＤＲを含む抗体の一部から形成された多重特異性抗体、ラクダ化単一ドメイン抗体、ナノボディ、ドメイン抗体、二価ドメイン抗体、又は抗原には結合するが完全な抗体構造を構成しない任意の他の抗体断片を含む抗体断片を指す。抗原結合断片は、親

抗体又は親抗体断片（例えば、親ｓｃＦｖ）が結合するのと同じ抗原に結合することができる。いくつかの実施形態では、抗原結合断片は、１つ以上の異なるヒト抗体由来のフレームワーク領域に移植された特定のヒト抗体由来の１つ以上のＣＤＲを含み得る。

【００８８】

用語「エピトープ」は、本明細書で使用するとき、抗体又は抗体部分が結合する抗原上の特定の原子又はアミノ酸の群を指す。２つの抗体又は抗体部分は、抗原に対して競合的結合を示す場合、抗原内の同じエピトープに結合し得る。

【００８９】

本明細書で使用するとき、等モル濃度の第１の抗体部分の存在下で、第１の抗体部分が第２の抗体部分の標的ＧＰＣ３結合を少なくとも約５０％（少なくとも約５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％又は９９％のいずれかなど）阻害するとき、第１の抗体部分は、標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に対する結合について第２の抗体部分と「競合」し、逆もまた同様である。これらの交差競合に基づいて抗体を「ビニング」するためのハイスループットプロセスは、国際公開第０３／４８７３１号に記載されている。

【００９０】

本明細書で使用するとき、用語「特異的に結合する」、「特異的に認識する」、又は「に特異的である」は、生物学的分子を含む分子の異種集団の存在下で標的の存在を判定する、標的と抗体又は抗体部分との間の結合などの測定可能かつ再現可能な相互作用を指す。例えば、標的（エピトープであり得る）を特異的に認識する抗体又は抗体部分は、他の標的に対する結合よりも高い親和性、より強い結合活性で、より容易に、及び／又はより長時間、この標的に結合する抗体又は抗体部分である。いくつかの実施形態では、抗原を特異的に認識する抗体又は抗体部分は、他の標的（可溶性ＧＰＣ３など）に対する結合親和性の少なくとも約１０倍の結合親和性で、当該抗原（ネイティブフォーマットＧＰＣ３など）の１つ以上の抗原決定基と反応する。

【００９１】

「単離された」抗ＧＰＣ３コンストラクトは、本明細書で使用するとき、（１）天然にみられるタンパク質には会合しない、（２）同じ起源由来の他のタンパク質を含まない、（３）異なる種由来の細胞によって発現される、又は（４）天然には生じない、抗ＧＰＣ３コンストラクトを指す。

【００９２】

用語「単離された核酸」は、本明細書で使用するとき、ゲノム、ｃＤＮＡ、若しくは合成起源の核酸、又はこれらのいくつかの組み合わせを意味することを意図し、その起源に基づいて、「単離された核酸」は、（１）「単離された核酸」が天然にみられるポリヌクレオチドの全て又は一部に会合しない、（２）天然では連結されていないポリヌクレオチドに動作可能に連結されている、又は（３）より大きな配列の一部として天然では存在していない。

【００９３】

本明細書で使用するとき、用語「ＣＤＲ」又は「相補性決定領域」は、重鎖及び軽鎖のポリペプチドの両方の可変領域内にみられる非連続抗原結合部位を意味することを意図する。これらの特定の領域は、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２５２：６６０９－６６１６（１９７７）；Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐｔ．ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，「Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ ｉｎｔｅｒｅｓｔ」（１９９１）；Ｃｈｏｔｈｉａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７（１９８７）；Ａｌ－Ｌａｚｉｋａｎｉ Ｂ．ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２７３：９２７－９４８（１９９７）；ＭａｃＣａｌｌｕｍ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２６２：７３２－７４５（１９９６）；Ａｂｈｉｎａｎｄａｎ ａｎｄ Ｍａｒｔｉｎ，Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，４５：３８３２－３８３９（２００８）；Ｌｅｆｒａｎｃ Ｍ．Ｐ．ｅｔ ａｌ．，Ｄｅｖ．Ｃｏｍｐ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，２７：５５－７７（２００

３）；及びＨｏｎｅｇｇｅｒ ａｎｄ Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，３０９：６５７－６７０（２００１）によって記載されており、これら定義は、互いに比較したときにアミノ酸残基の重複又はサブセットを含む。それにもかかわらず、抗体若しくはグラフト化抗体又はこれらの変異型のＣＤＲを参照するためのいずれかの定義の適用は、本明細書で定義及び使用される用語の範囲内であることを意図する。上に引用した参照文献のそれぞれによって定義されるＣＤＲを包含するアミノ酸残基を、比較として以下の表１に記載する。ＣＤＲ予測アルゴリズム及びインターフェースは、例えば、Ａｂｈｉｎａｎｄａｎ ａｎｄ Ｍａｒｔｉｎ，Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，４５：３８３２－３８３９（２００８）；Ｅｈｒｅｎｍａｎｎ Ｆ．ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，３８：Ｄ３０１－Ｄ３０７（２０１０）；及びＡｄｏｌｆ－Ｂｒｙｆｏｇｌｅ Ｊ．ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，４３：Ｄ４３２－Ｄ４３８（２０１５）を含む、当該技術分野において既知である。この段落で引用される参考文献の内容は、本発明で使用するため、及び本明細書の１つ以上の特許請求の範囲に包含できるようにするためにその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【表１】

表１：ＣＤＲの定義

	Kabat[1]	Chothia[2]	MacCallum[3]	IMGT[4]	AHo[5]
V_HCDR1	31～35	26～32	30～35	27～38	25～40
V_HCDR2	50～65	53～55	47～58	56～65	58～77
V_HCDR3	95～102	96～101	93～101	105～117	109～137
V_LCDR1	24～34	26～32	30～36	27～38	25～40
V_LCDR2	50～56	50～52	46～55	56～65	58～77
V_LCDR3	89～97	91～96	89～96	105～117	109～137

[1]残基の付番は、上掲のＫａｂａｔらの命名法に従う。
[2]残基の付番は、上掲のＣｈｏｔｈｉａらの命名法に従う。
[3]残基の付番は、上掲のＭａｃＣａｌｌｕｍらの命名法に従う。
[4]残基の付番は、上掲のＬｅｆｒａｎｃらの命名法に従う。
[5]残基の付番は、上掲のＨｏｎｅｇｇｅｒ及びＰｌｕｃｋｔｈｕｎの命名法に従う。

【００９４】

用語「キメラ」抗体は、本発明の生物活性を示す限り、重鎖及び／又は軽鎖の一部が、特定の種に由来するか又は特定の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一又は相同であり、一方、当該鎖の残部は、別の種に由来するか又は別の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一又は相同である抗体、並びにこのような抗体の断片を指す（米国特許第４，８１６，５６７号、及びＭｏｒｒｉｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８１：６８５１－６８５５（１９８４）を参照）。

【００９５】

抗体又は抗体部分に関連する用語「半合成」は、当該抗体又は抗体部分が、１つ以上の天然に生じる配列及び１つ以上の天然には生じない（すなわち、合成の）配列を有することを意味する。

【００９６】

「Ｆｖ」は、完全な抗原認識かつ抗原結合部位を含む最小抗体断片である。この断片は、強く非共有結合的に会合している、１本の重鎖及び１本の軽鎖可変領域ドメインの二量体からなる。これら２つのドメインが折り畳まれると、抗原結合のためのアミノ酸残基を与え、抗体に抗原結合特異性を付与する６つの超可変ループ（それぞれ重鎖及び軽鎖に由来する３つのループ）が広がる。しかし、結合部位全体よりも親和性は低いものの、単一可変ドメイン（すなわち、抗原に特異的なＣＤＲを３つだけを含むＦｖの半分）であっても抗原を認識し、結合する能力を有する。

【００９７】
「ｓＦｖ」又は「ｓｃＦｖ」とも略される「単鎖Ｆｖ」は、接続されて単一のポリペプチド鎖内になるV_H及びV_L抗体ドメインを含む、抗体断片である。いくつかの実施形態では、ｓｃＦｖポリペプチドは、V_HドメインとV_Lドメインとの間のポリペプチドリンカーを更に含み、これによって、ｓｃＦｖが抗原結合のための所望の構造を形成することが可能になる。ｓｃＦｖに関する総説については、Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ｖｏｌ．１１３，Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ ａｎｄ Ｍｏｏｒｅ ｅｄｓ．，Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ｐｐ．２６９－３１５（１９９４）におけるＰｌｕｃｋｔｈｕｎを参照されたい。

【００９８】
用語「ダイアボディ」は、Ｖドメインが鎖内対合ではなく鎖間対合し、その結果、二価断片、すなわち、２つの抗原結合部位を有する断片が得られるように、典型的にはV_HドメインとV_Lドメインとの間に短いリンカー（約５～約１０残基など）を有するｓｃＦｖ断片（上記段落を参照されたい）を構築することによって調製される小さな抗体断片を指す。二重特異性ダイアボディは、２つの抗体のV_H及びV_Lドメインが異なるポリペプチド鎖に存在する、２つの「クロスオーバー」ｓｃＦｖ断片のヘテロ二量体である。ダイアボディについては、例えば、欧州特許第４０４，０９７号、国際公開第９３／１１１６１号、及びＨｏｌｌｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９０：６４４４－６４４８（１９９３）により詳しく記載されている。

【００９９】
非ヒト（例えば、げっ歯類）抗体の「ヒト化」型は、非ヒト抗体に由来する最小配列を含有するキメラ抗体である。ヒト化抗体は、大部分がヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）であるが、レシピエントの超可変領域（ＨＶＲ）由来の残基が、所望の抗体特異性、親和性及び／又は能力を有するマウス、ラット、ウサギ、又は非ヒト霊長類などの非ヒト種（ドナー抗体）の超可変領域由来の残基によって置換されている。場合によっては、ヒト免疫グロブリンのフレームワーク領域（ＦＲ）残基が、対応する非ヒト残基によって置換されている。更に、ヒト化抗体は、レシピエント抗体又はドナー抗体にはみられない残基を含んでいてもよい。これらの改変は、抗体性能を更に改良するために行われる。一般に、ヒト化抗体は、超可変ループの全て又は実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、ＦＲの全て又は実質的に全てがヒト免疫グロブリン配列のものである、少なくとも１つ、典型的には２つの可変ドメインの実質的に全てを含むであろう。ヒト化抗体はまた、場合により、典型的にはヒト免疫グロブリンのものである、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）の少なくとも一部も含むであろう。更なる詳細については、Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３２１：５２２－５２５（１９８６）；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３－３２９（１９８８）；及びＰｒｅｓｔａ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．２：５９３－５９６（１９９２）を参照されたい。

【０１００】
本明細書で同定されるポリペプチド及び抗体配列に関する「アミノ酸配列同一性パーセント（％）」又は「相同性」は、配列同一性の一部として任意の保存的置換を考慮して配列をアラインメントした後、比較されるポリペプチド中のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基の百分率として定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的でのアライメントは、当該技術分野における技能の範囲内の様々な方法、例えば、ＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、ＡＬＩＧＮ、Ｍｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）、又はＭＵＳＣＬＥソフトウェアなどの公的に入手可能なコンピュータソフトウェアを用いて達成することができる。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大のアライメントを得るのに必要な任意のアルゴリズムを含む、アライメント測定用の適切なパラメータを決定することができる。しかしながら、本明細書の目的で、配列比較コンピュータプログラムＭＵＳＣＬＥ（Ｅｄｇａｒ，Ｒ．Ｃ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ３２（５）：１７９２－１７９７，２００４；Ｅｄｇａｒ，Ｒ．Ｃ．，ＢＭＣ Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ ５（１）：１１３，２００４）を使用して、アミノ酸配列同一

性％の値が得られる。

【０１０１】

用語「Ｆｃ受容体」又は「ＦｃＲ」は、抗体のＦｃ領域に結合する受容体を説明するために使用される。いくつかの実施形態では、本発明のＦｃＲは、ＩｇＧ抗体（γ受容体）に結合し、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、及びＦｃγＲＩＩＩサブクラスの受容体を含むものであり、これらの受容体の対立遺伝子変異型及び選択的にスプライシングされた形態を含む。ＦｃγＲＩＩ受容体としては、ＦｃγＲＩＩＡ（「活性化受容体」）及びＦｃγＲＩＩＢ（「阻害受容体」）が挙げられ、これらは、主にその細胞質ドメインが異なる、類似のアミノ酸配列を有する。活性化受容体ＦｃγＲＩＩＡは、細胞質ドメインに免疫受容体チロシン系活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）を含む。阻害受容体ＦｃγＲＩＩＢは、細胞質ドメインに免疫受容体チロシン系阻害モチーフ（ＩＴＩＭ）を含有する（概説についてはＭ．ｉｎ Ｄａｅｒｏｎ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５：２０３－２３４（１９９７）を参照されたい）。この用語は、ＦｃγＲＩＩＩＡアロタイプ：ＦｃγＲＩＩＩＡ－Ｐｈｅ１５８、ＦｃγＲＩＩＩＡ－Ｖａｌ１５８、ＦｃγＲＩＩＡ－Ｒ１３１、及び／又はＦｃγＲＩＩＡ－Ｈ１３１などのアロタイプを含む。ＦｃＲは、Ｒａｖｅｔｃｈ ａｎｄ Ｋｉｎｅｔ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ ９：４５７－９２（１９９１）；Ｃａｐｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｍｅｔｈｏｄｓ ４：２５－３４（１９９４）；及びｄｅ Ｈａａｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｌａｂ．Ｃｌｉｎ．Ｍｅｄ．１２６：３３０－４１（１９９５）に概説されている。他のＦｃＲ（将来同定されるものを含む）は、本明細書の用語「ＦｃＲ」に包含される。また、この用語は、胎児への母体ＩｇＧの伝達に関与する新生児受容体ＦｃＲｎも含む（Ｇｕｙｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１１７：５８７（１９７６）及びＫｉｍ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４：２４９（１９９４））。

【０１０２】

用語「ＦｃＲｎ」は、新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）を指す。ＦｃＲｎは、主要組織適合遺伝子複合体（ＭＨＣ）と構造的に類似しており、β２－ミクログロブリンに非共有結合的に結合しているα鎖からなる。新生児Ｆｃ受容体ＦｃＲｎの複数の機能については、Ｇｈｅｔｉｅ ａｎｄ Ｗａｒｄ（２０００）Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８，７３９－７６６に概説されている。ＦｃＲｎは、母親から子供への免疫グロブリンＩｇＧの受動的送達、及び血清ＩｇＧレベルの調節において役割を果たす。ＦｃＲｎは、細胞内で及び細胞を越えてインタクトな形態の飲作用されたＩｇＧに結合及び輸送し、それらをデフォルトの分解経路から救済するサルベージ受容体として作用することができる。

【０１０３】

ヒトＩｇＧ Ｆｃ領域の「ＣＨ１ドメイン」（「Ｈ１」ドメインの「Ｃ１」とも称される）は、通常、およそアミノ酸１１８からおよそアミノ酸２１５（ＥＵ付番システム）に及ぶ。

【０１０４】

「ヒンジ領域」は、一般に、ヒトＩｇＧ１のＧｌｕ２１６からＰｒｏ２３０までの伸長として定義される（Ｂｕｒｔｏｎ，Ｍｏｌｅｃ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２２：１６１－２０６（１９８５））。他のＩｇＧアイソタイプのヒンジ領域は、同じ位置に重鎖間Ｓ－Ｓ結合を形成する最初及び最後のシステイン残基を配置することによって、ＩｇＧ１配列と整列させることができる。

【０１０５】

ヒトＩｇＧ Ｆｃ領域の「ＣＨ２ドメイン」（「Ｈ２」ドメインの「Ｃ２」とも称される）は、通常、およそアミノ酸２３１からおよそアミノ酸３４０に及ぶ。ＣＨ２ドメインは、別のドメインと密接に対合していないという点で独特である。むしろ、２本のＮ－結合分枝状炭水化物鎖が、インタクトなネイティブＩｇＧ分子の２つのＣＨ２ドメインの間に介在している。炭水化物は、ドメイン－ドメイン対合の代用品を提供し、ＣＨ２ドメインを安定化させるのに役立つことができると推測されている。Ｂｕｒｔｏｎ，Ｍｏｌｅｃ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２２：１６１－２０６（１９８５）。

【０１０６】
「ＣＨ３ドメイン」（「Ｃ２」又は「Ｈ３」ドメインとも称される）は、Ｆｃ領域内のＣＨ２ドメインに対してＣ末端側の残基の伸長（すなわち、およそアミノ酸残基３４１から抗体配列のＣ末端、典型的にはＩｇＧのアミノ酸残基４４６又は４４７まで）を含む。
【０１０７】
「機能性Ｆｃ断片」は、ネイティブ配列Ｆｃ領域の「エフェクタ機能」を有する。例示的な「エフェクタ機能」は、Ｃ１ｑ結合、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）、Ｆｃ受容体結合、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）、食作用、細胞表面受容体（例えば、Ｂ細胞受容体；ＢＣＲ）のダウンレギュレーションなどを含む。このようなエフェクタ機能は、一般に、Ｆｃ領域を結合ドメイン（例えば、抗体可変ドメイン）と組み合わせることを必要とし、当該技術分野において既知の様々なアッセイを使用して評価することができる。
【０１０８】
「変化した」ＦｃＲ結合親和性又はＡＤＣＣ活性を有する変異型ＩｇＧ　Ｆｃを有する抗体は、親ポリペプチド又はネイティブ配列のＦｃ領域を含むポリペプチドと比較して、ＦｃＲ結合活性（例えば、ＦｃγＲ又はＦｃＲｎ）及び／又はＡＤＣＣ活性が増強又は減弱しているものである。ＦｃＲに対する「結合の増加を示す」変異型Ｆｃは、親ポリペプチド又はネイティブ配列ＩｇＧ　Ｆｃよりも高い親和性（例えば、より低い見かけのＫｄ又は$ＩＣ_{50}$値）で少なくとも１つのＦｃＲに結合する。いくつかの実施形態によれば、親ポリペプチドと比較した結合の改善は、約３倍、例えば、約５、１０、２５、５０、６０、１００、１５０、２００、若しくは最大５００倍のいずれか、又は約２５％～１０００％の結合の改善である。ＦｃＲに対する「結合の減少を示す」ポリペプチド変異体は、親ポリペプチドよりも低い親和性（例えば、より高い見かけのＫｄ又はより高い$ＩＣ_{50}$値）で少なくとも１つのＦｃＲに結合する。親ポリペプチドと比較した結合の減少は、約４０％以上の結合の減少であり得る。
【０１０９】
「抗体依存性細胞媒介性細胞傷害」又は「ＡＤＣＣ」は、特定の細胞傷害性細胞（例えば、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、好中球、及びマクロファージ）上に存在するＦｃ受容体（ＦｃＲ）に結合している、分泌されたＩｇが、これらの細胞傷害性エフェクタ細胞が抗原担持標的細胞に特異的に結合し、続いて、当該標的細胞を細胞毒で殺傷することを可能にする、細胞傷害の形態を指す。抗体は、細胞傷害性細胞を「アーム」し、このような殺傷には絶対に必要である。ＡＤＣＣを媒介する主要な細胞であるＮＫ細胞は、ＦｃγＲＩＩＩのみを発現するが、単球は、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、及びＦｃγＲＩＩＩを発現する。造血細胞におけるＦｃＲ発現は、Ｒａｖｅｔｃｈ　ａｎｄ　Ｋｉｎｅｔ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．９：４５７－９２（１９９１）の４６４ページの表３にまとめられている。対象となる分子のＡＤＣＣ活性を評価するために、米国特許第５，５００，３６２号又は同第５，８２１，３３７号に記載されているものなどのインビトロＡＤＣＣアッセイを実施してよい。このようなアッセイに有用なエフェクタ細胞としては、末梢血単核球（ＰＢＭＣ）及びナチュラルキラー（ＮＫ）細胞が挙げられる。あるいは又は更に、対象となる分子のＡＤＣＣ活性を、インビボ、例えば、Ｃｌｙｎｅｓ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＮＡＳ（ＵＳＡ）９５：６５２－６５６（１９９８）に開示されているものなどの動物モデルで評価してもよい。
【０１１０】
野生型ＩｇＧ　Ｆｃ又は親ポリペプチドを有するポリペプチドよりも有効にヒトエフェクタ細胞の存在下で「ＡＤＣＣの増加を示す」か又はＡＤＣＣを媒介する変異型Ｆｃ領域を含むポリペプチドは、アッセイにおける変異型Ｆｃ領域を有するポリペプチドの量と野生型Ｆｃ領域を有するポリペプチド（又は親ポリペプチド）の量とが本質的に同じであるとき、インビトロ又はインビボで、ＡＤＣＣの媒介において実質的により有効なものである。一般に、このような変異型は、例えば動物モデルなどにおいて、ＡＤＣＣ活性を判定するアッセイ又は方法など、当該技術分野において既知の任意のインビトロＡＤＣＣアッ

セイを使用して同定される。いくつかの実施形態では、変異型は、野生型Ｆｃ（又は親ポリペプチド）よりもＡＤＣＣの媒介において、約５倍～約１００倍、例えば約２５～約５０倍有効である。

【０１１１】

「補体依存性細胞傷害」又は「ＣＤＣ」は、補体の存在下で標的細胞を溶解することを指す。従来の補体経路の活性化は、補体系の第１の要素（Ｃ１ｑ）の、その同種抗原に結合する（適切なサブクラスの）抗体への結合によって開始される。補体活性化を評価するために、例えば、Ｇａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔｏｒｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２０２：１６３（１９９６）に記載されているようなＣＤＣアッセイを実施してよい。Ｆｃ領域のアミノ酸配列が変化しており、Ｃ１ｑ結合能が増加又は低下しているポリペプチド変異型は、米国特許第６，１９４，５５１（Ｂ１）号及び国際公開第９９／５１６４２号に記載されている。これらの特許公報の内容は、具体的に参照することにより本明細書に組み込まれる。Ｉｄｕｓｏｇｉｅ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６４：４１７８－４１８４（２０００）も参照されたい。

【０１１２】

特に指定しない限り、「アミノ酸配列をコードしているヌクレオチド配列」は、互いの縮重バージョンであり、同じアミノ酸配列をコードしている全てのヌクレオチド配列を含む。また、タンパク質又はＲＮＡをコードしているヌクレオチド配列という語句は、タンパク質をコードしているヌクレオチド配列がいくつかのバージョンにおいてイントロンを含有し得る程度までイントロンを含んでいてもよい。

【０１１３】

用語「動作可能に連結された」は、調節配列と異種核酸配列との間の機能的連結であって、その結果、後者を発現させる連結を指す。例えば、第１の核酸配列が第２の核酸配列と機能的関係で配置されているとき、第１の核酸配列は、第２の核酸配列と動作可能に連結されている。例えば、プロモータがコード配列の転写又は発現に影響を及ぼす場合、プロモータは、コード配列に動作可能に連結されている。一般的に、動作可能に連結されたＤＮＡ配列は隣接しており、２つのタンパク質コード領域を接合するのに必要である場合、同じリーディングフレームである。

【０１１４】

「相同」とは、２つのポリペプチド間又は２つの核酸分子間の配列類似性又は配列同一性を指す。２つの比較される配列の両方におけるある位置が、同じ塩基又はアミノ酸モノマーサブユニットによって占有されている場合、例えば、２つのＤＮＡ分子のそれぞれにおけるある位置がアデニンによって占有されている場合、当該分子はその位置で相同である。２つの配列間の相同性パーセントは、２つの配列によって共有されている一致又は相同位置の数を、比較した位置の数で除し、１００を乗じた関数である。例えば、２つの配列中の１０個の位置のうちの６個が一致しているか又は相同である場合、２つの配列は６０％相同である。例として、ＤＮＡ配列ＡＴＴＧＣＣ及びＴＡＴＧＧＣは、５０％相同性を共有している。一般に、相同性が最大になるように２つの配列がアライメントされたときに比較を行う。

【０１１５】

本明細書に開示される抗ＧＰＣ３コンストラクト又は組成物の「有効量」は、具体的に記載された目的を実行するのに十分な量である。「有効量」は、経験的に、及び記載された目的に関連する既知の方法によって決定することができる。

【０１１６】

用語「治療的に有効な量」は、個体における疾患又は障害を「治療する」のに有効な、本明細書に開示される抗ＧＰＣ３コンストラクト又は組成物の量を指す。癌の場合、本明細書に開示される抗ＧＰＣ３コンストラクト又は組成物の治療的に有効な量は、癌細胞の数を低減することができる、腫瘍のサイズ若しくは重量を低減することができる、末梢器官への癌細胞の浸潤を阻害する（すなわち、ある程度遅らせ、好ましくは停止させる）ことができる、腫瘍の転移を阻害する（すなわち、ある程度遅らせ、好ましくは停止させる

）ことができる、腫瘍の成長をある程度阻害することができる、及び／又は癌に関連する症状のうちの１つ以上をある程度緩和することができる。本明細書に開示される抗ＧＰＣ３コンストラクト又は組成物が既存の癌細胞を、成長阻止及び／又は殺傷することができる程度に、当該コンストラクト又は組成物は、細胞増殖抑制性及び／又は細胞傷害性であり得る。いくつかの実施形態では、治療的に有効な量は、成長を抑制する量である。いくつかの実施形態では、治療的に有効な量は、患者の生存期間を延長する量である。いくつかの実施形態では、治療的に有効な量は、患者の無増悪生存期間を改善する量である。

【０１１７】

本明細書で使用されるとき、「医薬的に許容される」又は「薬理的に適合される」は、生物学的又は非生物学的に望ましくないものではない物質を意味し、例えば、その物質を、望まれない生物学的影響をほとんど起こさずに、又は、それが含有される組成物の別の任意の構成成分と悪い相互作用をせずに、患者に投与される医薬組成物中に組み込むことができる。医薬的に許容される担体又は賦形剤は、好ましくは、必要な毒性学的及び製造的検査基準を満たしており、並びに／又は、Ｕ．Ｓ．Ｆｏｏｄ ａｎｄ Ｄｒｕｇ ａｄｍｉｎｉｓｔｒａｔｉｏｎが作成したＩｎａｃｔｉｖｅ Ｉｎｇｒｅｄｉｅｎｔ Ｇｕｉｄｅに記載されている。

【０１１８】

用語「標識」は、本明細書で使用するとき、抗ＧＰＣ３抗体部分に直接的又は間接的に複合体化（conjugated）され得る、検出可能な化合物又は組成物を指す。標識は、単独で検出可能であってもよく（例えば、放射性同位体標識又は蛍光標識）、又は酵素標識の場合、検出可能な基質化合物又は組成物の化学的変化を触媒してもよい。

【０１１９】

本明細書に記載の本発明の実施形態は、実施形態「からなる」及び／又は「から本質的になる」を含むことを理解されたい。

【０１２０】

本明細書における「約」のついた値又はパラメータへの言及は、その値又はパラメータ自体に対するばらつきを含む（及び記載する）。例えば、「約Ｘ」に言及する説明は、「Ｘ」の説明を含む。

【０１２１】

本明細書で使用するとき、ある値又はパラメータ「ではない」への言及は、一般的に、その値又はパラメータ「以外」を意味し、記載する。例えば、「方法は、タイプＸの癌を治療するのに使用されない」は、「方法は、Ｘ以外のタイプの癌を治療するのに使用される」を意味する。

【０１２２】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用するとき、単数形の「ａ」、「ｏｒ」、及び「ｔｈｅ」は、特に文脈から明確に指定されていない限り、複数の参照対象を含む。

抗ＧＰＣ３コンストラクト

【０１２３】

一態様では、本発明は、ＧＰＣ３に特異的に結合する抗体部分を含むＧＰＣ３特異的コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を提供する。抗ＧＰＣ３コンストラクトの特異性は、ＧＰＣ３に特異的に結合する完全長抗体又はその抗原結合断片などの抗ＧＰＣ３抗体部分に由来する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３に特異的に結合する部分（抗体部分など）への言及は、当該部分が、非標的に対するその結合親和性の少なくとも約１０倍（例えば、少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍のいずれかを含む）の親和性でＧＰＣ３に結合することを意味する。いくつかの実施形態では、非標的は、ＧＰＣ３ではない抗原である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分については、非標的は、可溶性ＧＰＣ３である。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分については、非標的は、細胞表面結合ＧＰＣ３である。結合親和性は、ＥＬＩＳＡ、蛍光活性化細胞選別（ＦＡＣＳ）分析、又は放射性免疫沈降アッセイ（ＲＩＡ）などの当該技術分野において既知の方法によって決定することができ

る。K_dは、例えばＢＩＡＣＯＲＥ（商標）機器を使用する表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）アッセイ、又は例えばＳａｐｉｄｙｎｅ機器を利用する結合平衡除外アッセイ（ＫｉｎＥｘＡ）などの、当該技術分野において既知の方法によって決定することができる。

【０１２４】

想到される抗ＧＰＣ３コンストラクトとしては、例えば、抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖ、抗ＧＰＣ３　Ｆｃ融合タンパク質、完全長抗ＧＰＣ３抗体、多重特異性（二重特異性など）抗ＧＰＣ３分子（例えば、タンデムジｓｃＦｖ二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）、抗ＧＰＣ３キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、抗ＧＰＣ３キメラ抗体－Ｔ細胞受容体（ｃａＴＣＲ）、及び抗ＧＰＣ３免疫複合体が挙げられる。

【０１２５】

異なる態様は、以下の様々な章で更に詳細に論じられる。

【０１２６】

ヒト配列（すなわち、ヒトＣＤＲ配列を含むヒト重鎖及び軽鎖可変領域配列）を含有する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクトを使用する実施形態が本明細書で広範囲にわたり論じられるが、本発明はまた、非ヒト抗ＧＰＣ３コンストラクトも提供する。いくつかの実施形態では、非ヒト抗体剤は、本明細書に記載の抗体剤由来のヒトＣＤＲ配列及び非ヒトフレームワーク配列を含む。いくつかの実施形態では、非ヒトフレームワーク配列としては、例えば、哺乳類、例えば、マウス、ラット、ウサギ、ブタ、ウシ（例えば、雌ウシ、雄ウシ、バッファロー）、シカ、ヒツジ、ヤギ、ニワトリ、ネコ、イヌ、フェレット、霊長類（例えば、マーモセット、アカゲザル）などを含む、本明細書に記載の１つ以上のヒトＣＤＲ配列を使用して合成重鎖及び／又は軽鎖可変領域を生成するために使用することができる任意の配列が挙げられる。いくつかの実施形態では、提供される抗体剤としては、本明細書に記載の１つ以上のヒトＣＤＲ配列を、非ヒトフレームワーク配列（例えば、マウス又はニワトリのフレームワーク配列）に移植することによって生成される抗体剤が挙げられる。いくつかの実施形態では、提供される抗体剤は、ヒト抗体剤（例えば、ヒトモノクローナル抗体又はその断片、ヒト抗原結合タンパク質又はポリペプチド、ヒト多重特異性結合剤［例えば、ヒト二重特異性抗体］、ヒト免疫グロブリンポリペプチドの１つ以上の構造的構成要素を有するヒトポリペプチド）である。

抗ＧＰＣ３抗体部分

【０１２７】

抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）は、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する（本明細書では「抗ｎＧＰＣ３抗体部分」と称される）。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分のｎＧＰＣ３に対する結合親和性は、ｓＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の結合親和性は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、その表面上でＧＰＣ３を発現する細胞は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、又は２９３である。いくつかの実施形態では、細胞は、その表面上に、異常に高レベルのＧＰＣ３を提示する。いくつかの実施形態では、細胞は、癌細胞である。いくつかの実施形態では、癌細胞は、固形腫瘍（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌）に存在する。いくつかの実施形態では、癌細胞は、転移性癌細胞（転移性ＨＣＣなど）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する（本明細書では、「抗ｓＧＰＣ３抗体部分」と称される）。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｎＧＰＣ３及びｓＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。

グリピカン３（ＧＰＣ３）

【０１２８】

グリピカン３（ＧＰＣ３）は、細胞－細胞外マトリックス界面における細胞シグナル伝達に関与する、細胞の表面上に存在するヘパリン硫酸プロテオグリカンファミリーに属する癌胎児性抗原である。ＧＰＣ３は、発生中に胎児の肝臓及び胎盤で発現し、正常成体組

織ではダウンレギュレーション又はサイレンシングされる。この発生段階及び組織特異的な発現方式は、ＧＰＣ３が形態形成に関与している可能性があることを示唆する。

【０１２９】

ＧＰＣ３遺伝子は、５８０アミノ酸の７０ｋＤａの前駆体タンパク質をコードしている。小胞体への移行時に、Ｎ末端シグナルペプチド（ＳＳ；残基１～２４）及びＣ末端グリコシルホスファチジルイノシトール（ＧＰＩ）アンカー付加シグナル（予測切断部位：S^{560}）が除去され、後者はＧＰＩアンカーで置換される。ＧＰＣ３前駆体タンパク質は、Arg^{358}とSer^{359}との間でフューリンによって切断されて、ジスルフィド結合によって連結された４０ｋＤａのＮ末端サブユニット（Q^{25}～R^{358}）及び３０ｋＤａのＣ末端サブユニット（S^{359}から始まる）を生成することができる。ＧＰＣ３のＣ末端は、ＧＰＩアンカーを介して膜に連結し、細胞表面に近接する２本のＯ－結合ヘパリン硫酸（ＨＳ）側鎖で翻訳後修飾される。一次アミノ酸配列に基づいて、Ｎ末端サブユニット、Ｃ末端サブユニット、及び２本のＨＳグリカン鎖は、ＧＰＣ３の３つの機能ドメインを形成する。Ｎ末端及びＣ末端サブユニットは、ＧＰＣ３のコアタンパク質を形成する。

【０１３０】

ＧＰＣ３における負に帯電したＨＳ鎖は、機能的に重要なグリコサミノグリカンである。これらは、ＨＧＦ、線維芽細胞成長因子（ＦＧＦ）、Ｗｎｔ、ヘッジホッグ、及び骨形成タンパク質などの、正に帯電した成長因子に結合することができる。したがって、ＨＳ鎖は、細胞の状況に応じて、これらの成長因子の「ドッキング部位」として機能し得る。

【０１３１】

ＧＰＣ３のＮ末端サブユニットは、ＧＰＣ３のＮ末端ペプチドであり、約４０ｋＤａであり、ＧＰＣ３コアタンパク質の可溶性形態でみられる。いくつかの実施形態では、Ｎ末端サブユニットは、Met^{1}～Arg^{358}を含むアミノ酸配列のペプチドである。いくつかの実施形態では、Ｎ末端サブユニットは、Gln^{25}～Arg^{358}を含むアミノ酸配列のペプチドである。本発明によれば、本明細書ではＧＰＣ３　Ｎ末端断片と称される、このようなＮ末端ペプチドの断片を使用してもよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３タンパク質のＮ末端サブユニット上に存在するエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のＧＰＣ３タンパク質のＮ末端サブユニット（又はその断片）を特異的に認識する抗体部分は、ＧＰＣ３の可溶性フォーマットに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３タンパク質のＮ末端サブユニット（又はその断片）を特異的に認識する抗体部分は、ＧＰＣ３のネイティブフォーマットに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３タンパク質のＮ末端サブユニット（又はその断片）を特異的に認識する抗体部分は、ｎＧＰＣ３及びｓＧＰＣ３の両方に結合することができる。

【０１３２】

ＧＰＣ３のＣ末端サブユニットは、ＧＰＣ３のＣ末端ペプチドであり、約３０ｋＤａである。上述の切断部位に基づいて、いくつかの実施形態では、Ｃ末端サブユニットは、Ser^{359}～His^{580}を含むアミノ酸配列のペプチドである。いくつかの実施形態では、Ｃ末端サブユニットは、Ser^{359}～Ser^{560}を含むアミノ酸配列のペプチドである。本発明によれば、本明細書ではＧＰＣ３　Ｃ末端断片と称される、このようなＣ末端ペプチドの断片を使用してもよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３タンパク質のＣ末端サブユニット上に存在するエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のＧＰＣ３タンパク質のＣ末端サブユニット（又はその断片）を特異的に認識する抗体部分は、ＧＰＣ３の可溶性フォーマットに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３タンパク質のＣ末端サブユニット（又はその断片）を特異的に認識する抗体部分は、ＧＰＣ３のネイティブフォーマットに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３タンパク質のＣ末端サブユニット（又はその断片）を特異的に認識する抗体部分は、ｎＧＰＣ３及びｓＧＰＣ３の両方に結合することができる。

【０１３３】

本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ＧＣ３３（Ｉｓｈｉｇｕｒｏ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ２００８；６８：９８３２－９８３８）（例えば、配列番号５１０）など、当該技術分野において知られているのと同じＧＰＣ３上のエピトープには結合しない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ＧＣ３３と競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合しない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号５３６のアミノ酸配列内のエピトープには結合しない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号５３６のアミノ酸配列を含む断片には結合しない。

【０１３４】

ＧＰＣ３は、様々な癌、特に、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、及び脂肪肉腫で発現することが報告されている。したがって、ＧＰＣ３は、潜在的に、抗体及び細胞ベースの免疫療法の両方の治療標的として機能し得る。特に、ＧＰＣ３がＨＣＣで高度に発現し、ＨＣＣ腫瘍の７０％超で発現するが、正常肝組織では発現しないことに鑑みて、ＧＰＣ３は肝臓癌療法の有望な候補であり得る。ＧＰＣ３陽性癌を有する一部の患者では、ＧＰＣ３の可溶性フォーマットを血液中で検出することができる。したがって、ＧＰＣ３の可溶性及びネイティブフォーマットは両方とも、ＨＣＣ診断などの癌診断に有用なバイオマーカーとして機能することができる。ＧＰＣ３陽性ＨＣＣ患者は、ＧＰＣ３陰性ＨＣＣ患者よりも著しく低い５年生存率を有することが見出された。したがって、ＧＰＣ３発現は、ＨＣＣにおける予後不良と相関している。

【０１３５】

ＧＰＣ３の細胞表面局在化は、ＨＣＣにおける細胞成長及びＷｎｔ活性化にとって重要である。ＧＰＣ３は、そのコアタンパク質を介してＷｎｔに結合する。ＧＰＣ３は、Ｗｎｔとそのシグナル伝達受容体であるＦｒｉｚｚｌｅｄ（Ｆｚ）との相互作用を促進及び／又は安定化することによって、Ｗｎｔシグナル伝達を刺激すると仮定した。興味深いことに、ＨＣＣ患者の約５０％が血清中にＧＰＣ３を分泌することに留意した。しかしながら、ＧＰＣ３のどの形態が癌患者の循環血液中に存在しているかは不明である。細胞外リパーゼであるＮｏｔｕｍが、腫瘍細胞から細胞外環境へのＧＰＣ３の切断に関与している可能性がある。

【０１３６】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３抗体部分（ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３に対する）は、ヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。例示的なヒトＧＰＣ３の完全なアミノ酸配列は、ＵｎｉＰｒｏｔ番号Ｐ５１６５４（配列番号４６０）を有する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸１～５６０（配列番号４６１）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸２５～５８０（配列番号４６２）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０（配列番号４６３）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸１～３５８（配列番号４６８）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８（配列番号４６４）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０（配列番号４６５）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５８０（配列番号４６６）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３

内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸塩側鎖を有しているＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸R^{358}／S^{359}におけるフューリン切断部位にまたがるエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、完全長成熟ヒトＧＰＣ３（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０又は２５～５８０）に特異的に結合することができるが、ヒトＧＰＣ３のＮ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８）又はヒトＧＰＣ３のＣ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０又は３５９～５８０）には結合しない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、組み換えヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３は、配列番号４６０又は配列番号４６２のアミノ酸配列を含む（いくつかの実施形態では、これらからなる又はこれらから本質的になる）。いくつかの実施形態では、可溶性ＧＰＣ３は、循環ＧＰＣ３タンパク質又は血清中の遊離ＧＰＣ３ペプチドである。いくつかの実施形態では、可溶性ＧＰＣ３は、溶液中に存在するＧＰＣ３タンパク質又はペプチドである。いくつかの実施形態では、可溶性ＧＰＣ３は、配列番号４６１又は配列番号４６３のアミノ酸配列を含む（いくつかの実施形態では、これらからなる又はこれらから本質的になる）。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ヒト以外の種由来のＧＰＣ３と交差反応し得る。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、１つ以上のヒトＧＰＣ３タンパク質に対して完全に特異的であってよく、種間又は他の種類の非ヒト交差反応性を示さなくてもよい。

【０１３７】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３タンパク質（又はその断片）の少なくとも１つの対立遺伝子変異型と交差反応する。いくつかの実施形態では、対立遺伝子変異型は、天然に生じるＧＰＣ３（又はその断片）と比較して、最大約３０個（約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、又は３０個のいずれかなど）のアミノ酸置換（保存的置換など）を有する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３タンパク質（又はその断片）の任意の対立遺伝子変異型とは交差反応しない。

【０１３８】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３タンパク質の少なくとも１つの種間変異型と交差反応する。いくつかの実施形態では、例えば、ＧＰＣ３タンパク質（又はその断片）は、ヒトＧＰＣ３であり、ＧＰＣ３タンパク質（又はその断片）の種間変異型は、そのマウス又はラット変異型である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３タンパク質の任意の種間変異型とは交差反応しない。

【０１３９】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、又は２９３細胞の細胞表面上で発現しているＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、癌細胞（固形腫瘍など）の細胞表面上で発現しているＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、肝臓癌（ＨＣＣなど）、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、肝芽細胞腫、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫の細胞表面上で発現しているＧＰＣ３を特異的に認識する。

結合親和性

【０１４０】

結合親和性は、K_d、K_{off}、K_{on}、又はK_aによって示すことができる。用語「Ｋ

ｏｆｆ」は、本明細書で使用するとき、速度選択設定（kinetic selection set up）から決定される、抗体部分／抗原複合体からの抗体部分の解離についてのオフ速度定数を指すことを意図する。用語「K_{on}」は、本明細書で使用するとき、抗体部分／抗原複合体を形成するための、抗体部分の抗原への会合についてのオン速度定数を指すことを意図する。平衡解離定数「K_d」という用語は、本明細書で使用するとき、特定の抗体部分－抗原相互作用の解離定数を指し、平衡状態で抗体分子の溶液中に存在する全ての抗体結合ドメインの半分を占有するのに必要な抗原の濃度を説明し、K_{off}/K_{on}に等しい。K_dの測定は、全ての結合剤が溶液中に存在することを前提とする。例えば酵母発現系のように、抗体部分が細胞壁に繋ぎ止められている場合、対応する平衡速度定数はEC_{50}として表され、これはK_dの優れた近似値を与える。親和定数K_aは、解離定数K_dの逆数である。

【０１４１】

解離定数（K_d）は、抗体部分の抗原に対する親和性を示す指標として使用される。例えば、様々なマーカー剤でマークされた抗体を使用するＳｃａｔｃｈａｒｄ法によって、並びにＢＩＡＣＯＲＥ（商標）（Ａｍｅｒｓｈａｍ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ製）を使用して、ユーザーマニュアル及び添付のキットに従って、表面プラズモン共鳴による生体分子相互作用を分析することによって容易に分析可能である。これらの方法を使用して導き出すことができるK_d値は、Ｍ（モル）単位で表される。標的に特異的に結合する抗体部分は、例えば、$\leqq 10^{-7}$Ｍ、$\leqq 10^{-8}$Ｍ、$\leqq 10^{-9}$Ｍ、$\leqq 10^{-10}$Ｍ、$\leqq 10^{-11}$Ｍ、$\leqq 10^{-12}$Ｍ、又は$\leqq 10^{-13}$ＭのK_dを有し得る。

【０１４２】

抗体部分の結合特異性は、当該技術分野において既知の方法によって実験的に決定することができる。このような方法は、ウエスタンブロット、ＥＬＩＳＡ、ＲＩＡ、ＥＣＬ、ＩＲＭＡ、ＥＩＡ、ＢＩＡＣＯＲＥ（商標）の試験、及びペプチドスキャンを含むが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分の結合親和性は、抗ＧＰＣ３抗体部分の、表面上でＧＰＣ３を発現している細胞（例えば、ＨｅｐＧ２細胞）に対する結合親和性を試験することによって測定される。

【０１４３】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する（例えば、抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い）。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、例えばフローサイトメトリーを使用する、可溶性ＧＰＣ３抗原との競合結合アッセイにおいて、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、競合結合アッセイにおいて抗ｎＧＰＣ３抗体部分を可溶性ＧＰＣ３抗原と共にプレインキュベートしたとき、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する。例えば、いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクトを、様々な濃度の可溶性ＧＰＣ３抗原（例えば、組み換えＧＰＣ３断片）と共にプレインキュベートしてよく、次いで、$GPC3^+$細胞（例えば、ＨｅｐＧ２細胞）を抗体／抗原混合物に添加し、インキュベートしてよく、次いで、細胞表面結合抗ＧＰＣ３コンストラクトを検出してよい：可溶性ＧＰＣ３とプレインキュベートされた抗ＧＰＣ３コンストラクトのＧＰＣ３＋細胞への結合は、可溶性ＧＰＣ３とプレインキュベートしなかった抗ＧＰＣ３コンストラクトのＧＰＣ３＋細胞への結合と比べて有意差を示さない場合があり、このことは、抗ＧＰＣ３抗体部分が、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識することができるか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合することを示す。

【０１４４】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約１

０－７Ｍ～約１０－１３Ｍ、約１０－９Ｍ～約１０－１３Ｍ、又は約１０－１０Ｍ～約１０－１２Ｍなど）のＫｄで、標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する。したがって、いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のＫｄ、抗ｓＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のＫｄ、又は抗ＧＰＣ３抗体部分とＧＰＣ３（任意のフォーマット）との間の結合のＫｄは、約１０－７Ｍ～約１０－１３Ｍ、約１×１０－７Ｍ～約５×１０－１３Ｍ、約１０－７Ｍ～約１０－１２Ｍ、約１０－７Ｍ～約１０－１１Ｍ、約１０－７Ｍ～約１０－１０Ｍ、約１０－７Ｍ～約１０－９Ｍ、約１０－８Ｍ～約１０－１３Ｍ、約１×１０－８Ｍ～約５×１０－１３Ｍ、約１０－８Ｍ～約１０－１２Ｍ、約１０－８Ｍ～約１０－１１Ｍ、約１０－８Ｍ～約１０－１０Ｍ、約１０－８Ｍ～約１０－９Ｍ、約５×１０－９Ｍ～約１×１０－１３Ｍ、約５×１０－９Ｍ～約１×１０－１２Ｍ、約５×１０－９Ｍ～約１×１０－１１Ｍ、約５×１０－９Ｍ～約１×１０－１０Ｍ、約１０－９Ｍ～約１０－１３Ｍ、約１０－９Ｍ～約１０－１２Ｍ、約１０－９Ｍ～約１０－１１Ｍ、約１０－９Ｍ～約１０－１０Ｍ、約５×１０－１０Ｍ～約１×１０－１３Ｍ、約５×１０－１０Ｍ～約１×１０－１２Ｍ、約５×１０－１０Ｍ～約１×１０－１１Ｍ、約１０－１０Ｍ～約１０－１３Ｍ、約１×１０－１０Ｍ～約５×１０－１３Ｍ、約１×１０－１０Ｍ～約１×１０－１２Ｍ、約１×１０－１０Ｍ～約５×１０－１２Ｍ、約１×１０－１０Ｍ～約１×１０－１１Ｍ、約１０－１１Ｍ～約１０－１３Ｍ、約１×１０－１１Ｍ～約５×１０－１３Ｍ、約１０－１１Ｍ～約１０－１２Ｍ、又は約１０－１２Ｍ～約１０－１３Ｍである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のＫｄは、約１０－７Ｍ～約１０－１３Ｍである。

【０１４５】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のＫｄは、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的との間の結合のＫｄよりも高く、本明細書では、いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分の標的（例えば、細胞表面結合ＧＰＣ３）に対する結合親和性は、非標的（例えば、可溶性ＧＰＣ３）に対する結合親和性よりも高いと称される。いくつかの実施形態では、非標的は、ＧＰＣ３ではない抗原である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分については、非標的は、可溶性ＧＰＣ３である。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分については、非標的は、細胞表面結合ＧＰＣ３である。例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分と可溶性ＧＰＣ３との間の結合のＫｄは、抗ｎＧＰＣ３抗体部分と細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合のＫｄの少なくとも約１０倍、例えば、約１０～１００倍、約１００～１０００倍、約10^3～10^4倍、約10^4～10^5倍、約10^5～10^6倍、約10^6～10^7倍、約10^7～10^8倍、約10^8～10^9倍、約10^9～10^{10}倍、約10^{10}～10^{11}倍、又は約10^{11}～10^{12}倍であってよい。また、例えば、抗ｓＧＰＣ３抗体部分と細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合のＫｄは、抗ｓＧＰＣ３抗体部分と可溶性ＧＰＣ３との間の結合のＫｄの少なくとも約１０倍、例えば、約１０～１００倍、約１００～１０００倍、約10^3～10^4倍、約10^4～10^5倍、約10^5～10^6倍、約10^6～10^7倍、約10^7～10^8倍、約10^8～10^9倍、約10^9～10^{10}倍、約10^{10}～10^{11}倍、又は約10^{11}～10^{12}倍であってよい。いくつかの実施形態では、（ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３に対する）抗ＧＰＣ３抗体部分と非ＧＰＣ３標的との間の結合のＫｄは、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的ＧＰＣ３との間の結合のＫｄの少なくとも約１０倍、例えば、約１０～１００倍、約１００～１０００倍、約10^3～10^4倍、約10^4～10^5倍、約10^5～10^6倍、約10^6～10^7倍、約10^7～10^8倍、約10^8～10^9倍、約10^9～10^{10}倍、約10^{10}～10^{11}倍、又は約10^{11}～10^{12}倍であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分と可溶性ＧＰＣ３との間の結合のＫｄは、抗ｎＧＰＣ３抗体部分と細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合のＫｄの少なくとも約１０倍である。

【０１４６】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、約１０－１Ｍ～約１０－６Ｍ（約１０－１Ｍ～約１０－６Ｍ、約１０－１Ｍ～約１０－５Ｍ、又は約１０－２Ｍ～約１０－４Ｍなど）のＫｄで、非標的に結合する。いくつかの実施形態では、非標的は、ＧＰＣ３ではない

抗原である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分については、非標的は、可溶性ＧＰＣ３である。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分については、非標的は、細胞表面結合ＧＰＣ３である。したがって、いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非ＧＰＣ３標的との間の結合のK_d、抗ｎＧＰＣ３抗体部分と可溶性ＧＰＣ３との間の結合のK_d、又は抗ｓＧＰＣ３抗体部分と細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約1×10^{-1}Ｍ～約5×10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、約1×10^{-1}Ｍ～約5×10^{-5}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-4}Ｍ、約1×10^{-1}Ｍ～約5×10^{-4}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-3}Ｍ、約1×10^{-1}Ｍ～約5×10^{-3}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-2}Ｍ、約10^{-2}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約1×10^{-2}Ｍ～約5×10^{-6}Ｍ、約10^{-2}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、約1×10^{-2}Ｍ～約5×10^{-5}Ｍ、約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍ、約1×10^{-2}Ｍ～約5×10^{-4}Ｍ、約10^{-2}Ｍ～約10^{-3}Ｍ、約10^{-3}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約1×10^{-3}Ｍ～約5×10^{-6}Ｍ、約10^{-3}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、約1×10^{-3}Ｍ～約5×10^{-5}Ｍ、約10^{-3}Ｍ～約10^{-4}Ｍ、約10^{-4}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約1×10^{-4}Ｍ～約5×10^{-6}Ｍ、約10^{-4}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-5}Ｍ～約10^{-6}Ｍである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分と可溶性ｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍである。いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３には結合しない。

【０１４７】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で標的ＧＰＣ３（例えば、細胞表面結合ＧＰＣ３）を特異的に認識し、低い結合親和性で非標的（例えば、可溶性ＧＰＣ３）に結合すると称されるとき、抗ＧＰＣ３抗体部分は、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）のK_dで標的ＧＰＣ３（例えば、細胞表面結合ＧＰＣ３）に結合し、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）のK_dで非標的（例えば、可溶性ＧＰＣ３）に結合する。

【０１４８】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分が、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する（例えば、抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い）と称されるとき、又は抗ＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識するが、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合すると称されるとき、抗ＧＰＣ３抗体部分の結合親和性を、モノクローナル抗体ＧＣ３３などの対照抗ＧＰＣ３抗体と比較する。いくつかの実施形態では、ＧＣ３３（例えば、配列番号５１０）と細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合のK_dは、本明細書に記載の抗ｎＧＰＣ３抗体部分と細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約２倍、例えば、約２倍、約３倍、約４倍、約５倍、約６倍、約７倍、約８倍、約９倍、約１０倍、約１０～１００倍、約１００～１０００倍、約10^{3}～10^{4}倍、約10^{4}～10^{5}倍、約10^{5}～10^{6}倍、約10^{6}～10^{7}倍、約10^{7}～10^{8}倍、約10^{8}～10^{9}倍、約10^{9}～10^{10}倍、約10^{10}～10^{11}倍、又は約10^{11}～10^{12}倍であってよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトの細胞表面結合ＧＰＣ３に対するK_dは、約０．１ｎＭ～約２ｎＭ、例えば、約０．１ｎＭ～約０．５ｎＭ、約０．５ｎＭ～約１ｎＭ、又は約１．５～約２ｎＭである。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ｎＧＰＣ３抗体部分と可溶性ＧＰＣ３との間の結合のK_dは、ＧＣ３３（例えば、配列番号５１０）と可溶性ＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約２倍、例えば、約２倍、約３倍、約４倍、約５倍、約６倍、約７倍、約８倍、約９倍、約１０倍、約１０～１００倍、約１００～１０００倍、約10^{3}～10^{4}倍、約10^{4}～10^{5}倍、約10^{5}～10^{6}倍、約10^{6}～10^{7}倍、約10^{7}～10^{8}倍、約10^{8}～10^{9}倍、約10^{9}～10^{10}倍、約10^{10}～10^{11}倍、又は約10^{11}～10^{12}倍であってよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトの細胞表面結合ＧＰＣ３に対するK_dは、約１

０ｎＭ～約１００ｎＭ、例えば、約１０ｎＭ～約２０ｎＭ、約２０ｎＭ～約４０ｎＭ、約４０ｎＭ～約８０ｎＭ、又は約８０ｎＭ～約１００ｎＭである。いくつかの実施形態では、対照抗ＧＰＣ３抗体と細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合のK_dは、本明細書に記載の抗ｎＧＰＣ３抗体部分と細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約２倍、例えば、約２倍、約３倍、約４倍、約５倍、約６倍、約７倍、約８倍、約９倍、約１０倍、約１０～１００倍、約１００～１０００倍、約10^3～10^4倍、約10^4～10^5倍、約10^5～10^6倍、約10^6～10^7倍、約10^7～10^8倍、約10^8～10^9倍、約10^9～10^{10}倍、約10^{10}～10^{11}倍、又は約10^{11}～10^{12}倍であってよく、当該対照抗体は、ｉ）配列番号５０３のアミノ酸配列、又は配列番号５０３に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号５０４のアミノ酸配列、又は配列番号５０４に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ｎＧＰＣ３抗体部分と可溶性ＧＰＣ３との間の結合のK_dは、対照抗ＧＰＣ３抗体と可溶性ＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約２倍、例えば、約２倍、約３倍、約４倍、約５倍、約６倍、約７倍、約８倍、約９倍、約１０倍、約１０～１００倍、約１００～１０００倍、約10^3～10^4倍、約10^4～10^5倍、約10^5～10^6倍、約10^6～10^7倍、約10^7～10^8倍、約10^8～10^9倍、約10^9～10^{10}倍、約10^{10}～10^{11}倍、又は約10^{11}～10^{12}倍であってよく、当該対照抗体は、ｉ）配列番号５０３のアミノ酸配列、又は配列番号５０３に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号５０４のアミノ酸配列、又は配列番号５０４に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、対照抗ＧＰＣ３抗体と細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合のK_dは、本明細書に記載の抗ｎＧＰＣ３抗体部分と細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約２倍、例えば、約２倍、約３倍、約４倍、約５倍、約６倍、約７倍、約８倍、約９倍、約１０倍、約１０～１００倍、約１００～１０００倍、約10^3～10^4倍、約10^4～10^5倍、約10^5～10^6倍、約10^6～10^7倍、約10^7～10^8倍、約10^8～10^9倍、約10^9～10^{10}倍、約10^{10}～10^{11}倍、又は約10^{11}～10^{12}倍であってよく、当該対照抗体は、ｉ）配列番号４９７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号４９８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号４９９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号５００のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号５０１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号５０２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ｎＧＰＣ３抗体部分と可溶性ＧＰＣ３との間の結合のK_dは、対照抗ＧＰＣ３抗体と可溶性ＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約２倍、例えば、約２倍、約３倍、約４倍、約５倍、約６倍、約７倍、約８倍、約９倍、約１０倍、約１０～１００倍、約１００～１０００倍、約10^3～10^4倍、約10^4～10^5倍、約10^5～10^6倍、約10^6～10^7倍、約10^7～10^8倍、約10^8～10^9倍、約10^9～10^{10}倍、約10^{10}～10^{11}倍、又は約10^{11}～10^{12}倍であってよく、当該対照抗体は、ｉ）配列番号４９７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号４９８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号４９９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号５００のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号５０１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号５０２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１４９】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトと細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合に競合する可溶性ＧＰＣ３のＩＣ５０は、約１μｇ／ｍＬ～約１００μｇ／ｍＬ、例えば、約１μｇ／ｍＬ～約５μｇ／ｍＬ、１μｇ／ｍＬ～約１０μｇ／ｍＬ、約１０μｇ／ｍＬ～約２０μｇ／ｍＬ、約２０μｇ／ｍＬ～約５０μｇ／ｍＬ、又は５０μｇ／ｍＬ～約１００μｇ／ｍＬである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトと細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合に競合する可溶性ＧＰＣ３のＩＣ５０は、対照抗ＧＰＣ

３抗体（ＧＣ３３など）と細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合に競合する可溶性ＧＰＣ３のＩＣ５０の少なくとも約２倍、３倍、４倍、５倍、１０倍、２０倍、５０倍、１００倍又はそれ以上のいずれか１つである。

抗ＧＰＣ３抗体部分フォーマット

【０１５０】

本明細書に記載の（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３に対する）抗ＧＰＣ３抗体部分は、任意の抗体又は抗原結合断片フォーマットであってよい。

【０１５１】

いくつかの実施形態では、（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３に対する）抗ＧＰＣ３抗体部分は、完全長抗体又は免疫グロブリン誘導体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、抗原結合断片、例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ断片、ジスルフィド安定化Ｆｖ断片（ｄｓＦｖ）、又は単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）からなる群から選択される抗原結合断片である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。

【０１５２】

いくつかの実施形態では、（ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３に対する）抗ＧＰＣ３抗体部分は、完全ヒト配列及び１つ以上の合成領域を含む半合成抗体部分である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、完全ヒト軽鎖可変ドメインと、完全ヒトＦＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＨＣ－ＣＤＲ２、ＦＲ３、及びＦＲ４領域、並びに合成ＨＣ－ＣＤＲ３を含む半合成重鎖可変ドメインとを含む半合成抗体部分である。いくつかの実施形態では、半合成重鎖可変ドメインは、約５～約２５（約５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、又は２５のいずれかなど）アミノ酸長の配列を有する完全合成ＨＣ－ＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態では、半合成重鎖可変ドメイン又は合成ＨＣ－ＣＤＲ３は、約５～約２５（約５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、又は２５のいずれかなど）アミノ酸長の配列を有する完全合成ＨＣ－ＣＤＲ３を含む半合成ライブラリ（半合成ヒトライブラリなど）から得られ、配列中の各アミノ酸は、システインを除いた標準的なヒトアミノ酸からランダムに選択される。いくつかの実施形態では、合成ＨＣ－ＣＤＲ３は、約５～約１９（約５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８又は１９のいずれかなど）アミノ酸長である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ヒトＣＤＲ及び非ヒトフレームワーク配列を含む半合成抗体部分である。非ヒトフレームワーク配列としては、いくつかの実施形態では、本明細書に記載の１つ以上のヒトＣＤＲ配列を使用して合成重鎖及び／又は軽鎖可変領域を生成するために使用することができる任意の配列を含み、例えば、哺乳類、例えば、マウス、ラット、ウサギ、ブタ、ウシ（例えば、雌ウシ、雄ウシ、バッファロー）、シカ、ヒツジ、ヤギ、ニワトリ、ネコ、イヌ、フェレット、霊長類（例えば、マーモセット、アカゲザル）などを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、本明細書に記載の１つ以上のヒトＣＤＲ配列を、非ヒトフレームワーク配列（例えば、マウス又はニワトリのフレームワーク配列）に移植することによって生成される。

抗ＧＰＣ３抗体部分の配列

【０１５３】

抗ＧＰＣ３抗体部分は、いくつかの実施形態では、特定の配列又はそのような配列の特定の変異型を含む。いくつかの実施形態では、変異型配列におけるアミノ酸置換は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ｎＧＰＣ３抗体部分の能力、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ｓＧＰＣ３抗体部分の能力、又は標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分の能力を実質的に低下させない。例えば、標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）結合親和性を

実質的に低下させない変更を行うことができる。標的ＧＰＣ３結合親和性を実質的に改善するか、又は特異性及び／若しくは標的ＧＰＣ３の関連変異型との交差反応性などのいくつかの他の特性に影響を及ぼす変更も想到される。

【０１５４】

例示的な抗体配列を表６～表９に示す。表６及び表８の例示的なＣＤＲ配列は、ＩｇＢＬＡＳＴアルゴリズムを使用して予測される。例えば、開示全体が参照により本明細書に組み込まれるＹｅ Ｊ．ｅｔ ａｌ．Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，４１：Ｗ３４－Ｗ４０（２０１３）を参照されたい。当業者であれば、抗体重鎖及び軽鎖可変領域におけるＣＤＲ位置を予測するための多くのアルゴリズムが知られており、本明細書に記載されている抗体由来であるが、ＩｇＢＬＡＳＴ以外の予測アルゴリズムに基づくＣＤＲを含む抗体剤も本発明の範囲内であることを認識するであろう。

【０１５５】

表７及び表９の例示的な抗体重鎖及び軽鎖可変領域配列は、ＩＮＴＥＲＮＡＴＩＯＮＡＬ ＩＭＭＵＮＯＧＥＮＥＴＩＣＳ ＩＮＦＯＲＭＡＴＩＯＮ ＳＹＳＴＥＭ（登録商標）（ＩＭＧＴ）に従って区切られる。例えば、開示全体が参照により本明細書に組み込まれるＬｅｆｒａｎｃ，Ｍ．－Ｐ．ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，４３：Ｄ４１３－４２２（２０１５）を参照されたい。当業者であれば、本明細書に記載の抗体由来であるが、ＩＭＧＴ以外のアルゴリズムに基づくV_H又はV_L配列を含む抗体剤も本発明の範囲内であることを認識するであろう。

細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分

【０１５６】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３（抗ｎＧＰＣ３抗体部分）を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。

【０１５７】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列、又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含む重鎖可変ドメイン（V_H）と、ｉｉ）配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列、又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含む軽鎖可変ドメイン（V_L）とを含む。

【０１５８】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１５９】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約

１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１６０】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１６１】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。

【０１６２】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含み、当該アミノ酸置換がＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在するV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含み、当該アミノ酸置換がＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在するV_Lとを含む。

【０１６３】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１６４】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１

８４のいずれか１つのアミノ酸配列、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。

【０１６５】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つの１、２、又は３個のＣＤＲを含むV_Hと、ｂ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つの１、２、又は３個のＣＤＲを含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つの重鎖可変ドメインのＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、及びＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｂ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのＣＤＲの軽鎖可変ドメインのＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、及びＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶＬとを含む。

【０１６６】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列、又は配列番号３０７～３３７のいずれか１つに対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列、又は配列番号３５８～３８８のいずれか１つに対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。

【０１６７】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。

【０１６８】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０１６９】

重鎖及び軽鎖可変ドメインは、多数の抗ｎＧＰＣ３抗体部分を生成するために、様々な対の組み合わせで組み合わせてよい。例示的な抗ｎＧＰＣ３抗体を表６及び表７に記載する。

【表６】

表６　細胞表面結合ＧＰＣ３のＣＤＲ配列を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分

クローン番号	配列番号	HCDR1	配列番号	HCDR2	配列番号	HCDR3	配列番号	LCDR1	配列番号	LCDR2	配列番号	LCDR3
GPC3A-034	1	GGSFSGYY	52	INHSGST	103	ARGYGGRFDY	154	SSNIGSNN	205	SNH	256	AAWDDSLDGYL
GPC3A-035	2	GYTFTGYY	53	INPNSGGT	104	ARSWTSGFDY	155	SSNIGSNY	206	KNF	257	AAWDDALSGYV
GPC3A-037	3	GFTFSSYA	54	IYSGGSST	105	ARTSYLNHGDY	156	RSNIGSDY	207	GDN	258	GTWDYTLNGVV
GPC3A-038	4	GYTFTSYY	55	INPSGGST	106	ARKVTGYDS	157	NIGSKS	208	YDS	259	QVWDSSSDHVV
GPC3A-039	5	GFTFSSYA	56	IGTGGGT	107	ARYGRKSIDA	158	NIGSKS	209	YDS	260	QVWDSSSDHWV
GPC3A-040	6	GYTFTGYY	57	INPNSGGT	108	ARRGYYGYDS	159	SSNIGSNY	210	SNN	261	AAWDDSLSGYV
GPC3A-041	7	GYTFTGYY	58	INPNSGGT	109	ARSGKYYGDK	160	SSNIGSNY	211	KNF	262	AAWDDALSGYV
GPC3A-042	8	GYSFTGYY	59	MNPRSGGT	110	ARSSYYWADS	161	SSDIGSNS	212	STQ	263	ATWDDSLNGYV
GPC3A-043	9	GYTFTDYY	60	VDPEDGET	111	ARELRDVAYYPWGVEDF	162	SSNIGTNY	213	RNN	264	AVWDDSLSGVV
GPC3A-044	10	GGSFSGYY	61	INHSGST	112	ARYYVPYLSD	163	NIGYKG	214	DDS	265	QVWDSSSDHVV
GPC3A-045	11	GFTFSDYY	62	ISSSGSTI	113	ARASDLYGD	164	TSNIGTNT	215	SNN	266	AAWDDSLNGVV
GPC3A-046	12	GYRFSNYG	63	ISGSNGNT	114	ARGNRRYYSPIIDP	165	SSNFGSNT	216	SNT	267	AAWDDSLTGVV
GPC3A-047	13	GYTFTGYY	64	INPNSGGT	115	ARSDYGSLYDK	166	RSNIASND	217	KKN	268	AAWDDNLSGYV
GPC3A-048	14	GFTFSSYA	65	ISYDGSNK	116	ARSSFVAIDY	167	NIGSKS	218	YDS	269	QVWDSSSDRGV
GPC3A-049	15	GYTFTGYY	66	INPNSGGT	117	ARHGGIGSMRSFDQ	168	SSNIGSNY	219	RNN	270	AAWDDSLSG
GPC3A-050	16	GYSFTGYY	67	MNPRSGGT	118	ARSGYRWLDV	169	SSNIGSNT	220	SNN	271	AAWDDSLNGPV
GPC3A-051	17	GGAFSSYA	68	IIPIFGTA	119	ARMLYLSGRYYWDS	170	SSNIGAGYD	221	GNS	272	QSYDSSLSGYV
GPC3A-052	18	GYTFTGYY	69	INPNSGGT	120	ARSHSSGYDK	171	SSNIGSNY	222	RNN	273	AAWDDSLSGYV
GPC3A-053	19	GGSISSSSYY	70	IYYSGST	121	ARWWSGSYDT	172	SSNIGSNY	223	GNS	274	QSYDSSLSGSNV
GPC3A-054	20	GYTFTSYG	71	ISAYNGNT	122	ARIPMYSGSSDY	173	SSNIGSNY	224	RNN	275	AAWDDSLSGYV
GPC3A-055	21	GYTFTSYY	72	INPSGGST	123	ARWHGGPYDY	174	NIGSKS	225	YDS	276	QVWDSSSDHYV
GPC3A-056	22	GYSFNDYY	73	INPNNGDT	124	ARFSTHNWWWPTYDY	175	QSISSY	226	AAS	277	QQSYSTPIT
GPC3A-057	23	GFTFSSYA	74	ISGSGGST	125	ARYNYMSSGFYDR	176	NIGSKS	227	YDS	278	QVWDSSSDHVV
GPC3A-058	24	GYTFASHG	75	ISPYTGNT	126	ARGKRTLASCFDY	177	NIGSKS	228	DDS	279	QVWDSSSDHV
GPC3A-059	25	GYTFTRYG	76	ISAYSDKT	127	ARSRWSYMDV	178	NIGSKS	229	YDS	280	QVWDSSSDHV
GPC3A-060	26	GYTFNSYA	77	ISAYNGNT	128	AREGYGSWAMDQ	179	NIGSES	230	DDD	281	QTWDSSTAI
GPC3A-061	27	GYTFTSYG	78	ISAYNGNT	129	ARKGSSQFDQ	180	NIGSKS	231	YDS	282	QVWDSSSDHYV
GPC3A-062	28	GGTFSSYA	79	IIPKIGTA	130	ARMYMDMGWGWGYWDW	181	SSNIGAGYD	232	GNS	283	QSYDSSLSGSYV
GPC3A-063	29	GYTFTSYY	80	INPSGGSA	131	ARDRLASDAFDI	182	WSNIGSYT	233	GNN	284	AAWDDNLNGVV
GPC3A-064	30	GYTFTIYG	81	ISPYNDNT	132	ARMGVGWGYAQDS	183	NIGSKS	234	DDT	285	QVWDRSSAHWV
GPC3A-067	31	GGTFSSYA	82	IIPIFGIT	133	ARGAEMSDY	184	NIGSKS	235	YDS	286	QVWDSSSDHVV

【表７－１】

表７　細胞表面結合ＧＰＣ３のV_H／V_L配列を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分
（ＣＤＲ配列には下線を引く）

クローン番号	配列番号	V_H	配列番号	V_L
GPC3A-034	307	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGY YWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLELSSVTAADTAVYYCARGY GGRFDYWGQGTLVTVSS	358	QPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGS NNVIWYQQLPGAAPKLLIYSNHRRPSGVPD RFSGSRSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAA WDDSLDGYLFGTGTKVTVLG
GPC3A-035	308	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGY YMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYY CARSWTSGFDYWGQGTLVTVSS	359	QAVLTQPPSASQTPGQMVTISCSGTSSNIG SNYVFWYQQLPGTAPKLLIYKNFQRPSGVP GRFSGSKSGTAASLAISGLRSEDEADYFCA AWDDALSGYVFGAGTKVTVLG
GPC3A-037	309	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSSTYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RTSYLNHGDYWGQGTLVTVSS	360	QSVLTQPPSVSAAPGQRVTISCSGTRSNIGS DYVSWYQHLPGTAPKLLVYGDNLRPSGIPD RFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGT WDYTLNGVVFGGGTKLTVLG
GPC3A-038	310	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY YMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKF QGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCA RKVTGYDSWGQGTLVTVSS	361	QSVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKS VHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERF SGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWD SSSDHVVFGGGTKLTVLG
GPC3A-039	311	QVQLVQSGGGLVHPGGSLRLSCAGSGFTFSSY AMHWVRQAPGKGLEWVSAIGTGGGTYYADSVK GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR YGRKSIDAWGQGTLVTVSS	362	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKS VHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERF SGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWD SSSDHWVFGGGTKLTVLG
GPC3A-040	312	QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYTFTGY YMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYY CARRGYYGYDSWGQGTLVTVSS	363	LPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGS NYVYWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPD RFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAA WDDSLSGYVFGTGTKVTVLG
GPC3A-041	313	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGY YMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAMYY CARSGKYYGDKWGQGTLVTVSS	364	QAVLTQPPSASQTPGQMVTISCSGTSSNIG SNYVFWYQQLPGTAPKLLIYKNFQRPSGVP GRFSGSKSGTAASLAISGLRSEDEADYFCA AWDDALSGYVFGAGTKVTVLG
GPC3A-042	314	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGY YVYWMRQAPGKGLEWMGWMNPRSGGTNYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLTSDDTAVYY CARSSYYWADSWGQGTLVTVSS	365	SYVLTQPPSASGTPGQRVTISCFGSSSDIGS NSVFWYQQLPGAAPKLLIYSTQYRPSGVPD RFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEAEYHCAT WDDSLNGYVFGSGTKVTVLG
GPC3A-043	315	EVQLVQSGAEVKKPGATVKVSCKVSGYTFTDYY MHWVQQAPGKGLEWMGLVDPEDGETIYAEKF QGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RELRDVAYYPWGVEDFWGQGTLVTVSS	366	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGT NYVYWYQQLPGTAPKLIIYRNNQRPSGVPD RFSGSESGTSASLAISGLRSEDEADYYCAV WDDSLSGVVFGGGTKLTVLG
GPC3A-044	316	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGY YWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYY VPYLSDWGQGTLVTVSS	367	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGDNIGYKG VHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPER FSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVW DSSSDHVVFGGGTKLTVLG
GPC3A-045	317	QMQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDY YMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVK GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ASDLYGDWGQGTLVTVSS	368	QSVLTQPPSVSGTPGQRVIISCPGSTSNIGT NTVNWYQQFPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPD RFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAA WDDSLNGVVFGGGTKLTVLG
GPC3A-046	318	QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYRFSNY GVSWVRQAPGQGLEWMGWISGSNGNTNYAQK FLGRVTMTTDTSTTTAYMELSSLRSDDTAVYYC ARGNRRYYSPIIDPWGQGTLVTVSS	369	QAVLTQPPSVSGTPGQRVTISCSGSSSNFG SNTVHWYQQVPGTAPKLLIFSNTQRPSEIPD RFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAA WDDSLTGVVFGGGTKLTVLG
GPC3A-047	319	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAPGYTFTGY YMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYY CARSDYGSLYDKWGQGTLVTVSS	370	LPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSRSNIAS NDVYWYQQLPGTAPKRLIYKKNQRPSGVPD RFSASKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAA WDDNLSGYVFGTGTKVTVLG
GPC3A-048	320	EVQLVESGGGEVQPGRSLRLSCAASGFTFSSY AMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RSSFVATDYWGQGTLVTVSS	371	QPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKS VHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERF SGSNSGNTATLTISRVEAGDEADFYCQVWD SSSDRGVFGGGTKLTVLG
GPC3A-049	321	QVQLVQSGAEVKEPGASVKVSCKASGYTFTGY YMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYY CARHGGIGSMRSFDQWGQGTLVTVSS	372	QAVLTQPSSASGTPGQRVTISCSGGSSNIG SNYVYWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVP DRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCA AWDDSLSGWVFGGRTKLTVLG

【表７－２】

（表７の続き）

クローン番号	配列番号	V_H	配列番号	V_L
GPC3A-050	322	QITLKESGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYY VYWMRQAPGKGLEWMGWMNPRSGGTNYAQK FQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLTSDDTATYYC ARSGYRWLDVWGQGTLVTVSS	373	QAVLTQPSSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGS NTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPD RFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAA WDDSLNGPVFGTGTKVTVLG
GPC3A-051	323	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGAFSSY AISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQ GRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR MLYLSGRYYWDSWGQGTLVTVSS	374	QAVLTQPSSASGAPGQRVTISCTGGSSNIG AGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYC QSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLG
GPC3A-052	324	EVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYY MHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKF QGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCA RSHSSGYDKWGQGTLVTVSS	375	QAVLTQPSSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGS NYVYWYQQLSGTAPKLLIYRNNQRPSGVPD RFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAA WDDSLSGYVFGTGTKVTVLG
GPC3A-053	325	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSY YWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARW WSGSYDTWGQGTLVTVSS	376	QSVLTQPPSASAAPGQRVTISCSGTSSNIGS NYVWWYQQLPGAAPRLLIYGNSNRPSGVP DRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQ SYDSSLSGSNVFGTGTKVTVLG
GPC3A-054	326	QMQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY GISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKL QGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCA RIPMYSGSSDYWGQGTLVTVSS	377	SYELTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGS NYVYWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPD RFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAA WDDSLSGYVFGTGTKVTVLG
GPC3A-055	327	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY YMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKF QGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCA RWHGGPYDYWGQGTLVTVSS	378	QPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKS VHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERF SGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWD SSSDHYVFGTGTKVTVLG
GPC3A-056	328	QVQLQQSGAEVKKFGASVKVSCKASGYSFNDY YIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNNGDTKYEKK WQGRVTMTRDTSITTAYMELSSLRSDDTAVYYC ARFSTHNWWWPTYDYWGQGTLVTVSS	379	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSY LNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYS TPITFGQGTRLEIKR
GPC3A-057	329	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR YNYMSSGFYDRWGQGTLVTVSS	380	EIVLTQSPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKS VHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERF SGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWD SSSDHVVFGGGTKVEIKR
GPC3A-058	330	QVQLVQSGADVRKPGASVKVSCKASGYTFASH GISWVRQAPGQGLEWLGWISPYTGNTNYAQKF QGRVTMATDTSTSTAYMELRSLRSDDTAIYYCA RGKRTLASCFDYWGQGTLVTVSS	381	QSVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKS VHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPER FSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVW DSSSDHVFGTGTKVTVLG
GPC3A-059	331	QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYTFTRY GITWVRQAPGQGLEWMGWISAYSDKTNYAQKL QGRVTMTTDISTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RSRWSYMDVWGQGTLVTVSS	382	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKS VYWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERF SGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWD SSSDHVFGTGTKVTVLG
GPC3A-060	332	QVQLVQSGGEVKKPGASVKVSCKASGYTFNSY AISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKL QGRVTMTTDTSTNTAFMELRSLRSDDTAVYYCA REGYGSWAMDQWGQGTLVTVSS	383	SYVLTQPPSVSVAPGKTARLTCGGNNIGSE SVHWYQQKPGQAPLLVVYDDDDRPSGIPE RFSGSNSEDTATLTISGTQALDEAEYYCQT WDSSTAIFGTGTKLTVLG
GPC3A-061	333	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY GISWVRQTPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKL QGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RKGSSQFDQWGQGTLVTVSS	384	QPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKS VHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERF SGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWD SSSDHYVFGTGTKVTVLG
GPC3A-062	334	QMQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGGTFSSY AISWVRQAPGQGLEWMGGIIPKIGTANYAQKFQ GRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAMYYCAR MYMDMGWGWGYWDWWGQGTLVTVSS	385	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGA GYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNWPSGV PDRFSGSKSGTSASLAITGLRAEDEADYYC QSYDSSLSGSYVFGTGTKVTVLG
GPC3A-063	335	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY YMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSASYAQKF QGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCA RDRLASDAFDIWGQGTMVTVSS	386	QTVVTQPPSASGTPGQRVTISCSGSWSNIG SYTVNWYQHLPGTAPKLLISGNNQRPSGVP GRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYHCA AWDDNLNGVVFGGGTKLTVLG
GPC3A-064	336	QMQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTIYG ISWVRQAPGQGLEWMGWISPYNDNTIYAQKVQ GRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR MGVGWGYAQDSWGQGTLVTVSS	387	LPVLTQPPSLSVAPGKTARLTCGGNNIGSKS VHWYHQKPGQAPVLVVYDDTDRPSGIPERF SGSNSGNTAALTISRVEVGDEADYYCQVWD RSSAHWVFGGGTKLTVLG
GPC3A-067	337	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSY AISWVRQAPGQGLEWMGRIIPIFGITNYAQKFQG RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGA EMSDYWGQGTLVTVSS	388	QSVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKS VHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERF SGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWD SSSDHVVFGGGTKLTVLG

【０１７０】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤ

Ｒ１、配列番号２０５のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１７１】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０６のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１７２】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含

むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０７のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１７３】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０８のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０６

のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１７４】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０９のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１７５】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１０のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤ

ＲＳ、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１７６】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１１のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１７７】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１２のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実

施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１７８】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１３のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１７９】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤ

Ｒ３を含むＶ$_{H}$と、ｉｉ）配列番号１６３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１４のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{L}$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_{H}$と、ｉｉ）配列番号１６３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_{L}$とを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{H}$と、ｉｉ）配列番号１６３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{L}$とを含む。

【０１８０】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{H}$と、ｉｉ）配列番号１６４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１５のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{L}$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_{H}$と、ｉｉ）配列番号１６４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_{L}$とを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{H}$と、ｉｉ）配列番号１６４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{L}$とを含む。

【０１８１】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１６のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１８２】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１７のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１８３】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１８のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２６９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１８４】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１６８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１９のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含

むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１６８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１６８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２１９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$とを含む。

【０１８５】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１６９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２０のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１６９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１６９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$とを含む。

【０１８６】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１７０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２１のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７

２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１８７】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２２のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号１８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号６９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１８８】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含

むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２３のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号１９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１８９】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２４のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、

及び配列番号２７５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１９０】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２５のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１９１】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２６のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実

施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１９２】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２７のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１９３】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２８のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号２４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２

６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１７７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１７７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２７９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$とを含む。

【０１９４】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１７８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２９のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１７８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１７８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２２９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$とを含む。

【０１９５】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１７９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－Ｃ

ＤＲ１、配列番号２３０のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号２６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１７９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１９６】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３１のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１２９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１９７】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を

含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３２のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号２８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号７９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１９８】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３３のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号

１３１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０１９９】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３４のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２００】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３５のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８６のアミノ酸配列を含むＬＣ－

ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２０１】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３０７のアミノ酸配列、又は配列番号３０７に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３５８のアミノ酸配列、又は配列番号３５８に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３０７のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３５８のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３０７のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３５８のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２０２】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３０８のアミノ酸配列、又は配列番号３０８に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３５９のアミノ酸配列、又は配列番号３５９に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３０８のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３５９のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３０８のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３５９のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２０３】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３０９のアミノ酸配列、又は配列番号３０９に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３６０のアミノ酸配列、又は配列番号３６０に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３０９のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３６０のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３０９のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３６０のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２０４】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１０のアミノ酸配列、又は配列番号３１０に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３６１のアミノ酸配列、又は配列

番号３６１に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１０のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３６１のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３１０のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３６１のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２０５】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１１のアミノ酸配列、又は配列番号３１１に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３６２のアミノ酸配列、又は配列番号３６２に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１１のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３６２のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３１１のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３６２のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２０６】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１２のアミノ酸配列、又は配列番号３１２に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３６３のアミノ酸配列、又は配列番号３６３に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１２のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３６３のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３１２のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３６３のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２０７】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１３のアミノ酸配列、又は配列番号３１３に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３６４のアミノ酸配列、又は配列番号３６４に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１３のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３６４のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３１３のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３６４のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２０８】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１４のアミノ酸配列、又は配列番号３１４に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３６５のアミノ酸配列、又は配列番号３６５に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有す

るその変異型を含むＶＬとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１４のアミノ酸配列を含むＶＨと、ｂ）配列番号３６５のアミノ酸配列を含むＶＬとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３１４のアミノ酸配列を含むＶＨのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３６５のアミノ酸配列を含むＶＬのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２０９】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１５のアミノ酸配列、又は配列番号３１５に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶＨと、ｂ）配列番号３６６のアミノ酸配列、又は配列番号３６６に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶＬとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１５のアミノ酸配列を含むＶＨと、ｂ）配列番号３６６のアミノ酸配列を含むＶＬとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３１５のアミノ酸配列を含むＶＨのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３６６のアミノ酸配列を含むＶＬのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２１０】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１６のアミノ酸配列、又は配列番号３１６に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶＨと、ｂ）配列番号３６７のアミノ酸配列、又は配列番号３６７に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶＬとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１６のアミノ酸配列を含むＶＨと、ｂ）配列番号３６７のアミノ酸配列を含むＶＬとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３１６のアミノ酸配列を含むＶＨのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３６７のアミノ酸配列を含むＶＬのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２１１】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１７のアミノ酸配列、又は配列番号３１７に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶＨと、ｂ）配列番号３６８のアミノ酸配列、又は配列番号３６８に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶＬとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１７のアミノ酸配列を含むＶＨと、ｂ）配列番号３６８のアミノ酸配列を含むＶＬとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３１７のアミノ酸配列を含むＶＨのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３６８のアミノ酸配列を含むＶＬのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２１２】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１８のアミノ酸配列、又は配列番号３１８に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶＨと、ｂ）配列番号３６９のアミノ酸配列、又は配列番号３６９に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶＬとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１８のアミノ酸配列を含むＶＨと、ｂ）配列番号３６９のアミノ酸配列を

含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３１８のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３６９のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２１３】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１９のアミノ酸配列、又は配列番号３１９に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３７０のアミノ酸配列、又は配列番号３７０に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３１９のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３７０のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３１９のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３７０のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２１４】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２０のアミノ酸配列、又は配列番号３２０に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３７１のアミノ酸配列、又は配列番号３７１に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２０のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３７１のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３２０のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３７１のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２１５】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２１のアミノ酸配列、又は配列番号３２１に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３７２のアミノ酸配列、又は配列番号３７２に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２１のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３７２のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３２１のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３７２のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２１６】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２２のアミノ酸配列、又は配列番号３２２に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３７３のアミノ酸配列、又は配列番号３７３に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２２のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３７３のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３２２のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３７３のアミノ酸配列を含むＶ$_L$

のＬＣ－ＣＤＲとを含む。
【０２１７】
いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２３のアミノ酸配列、又は配列番号３２３に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３７４のアミノ酸配列、又は配列番号３７４に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２３のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３７４のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３２３のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３７４のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。
【０２１８】
いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２４のアミノ酸配列、又は配列番号３２４に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３７５のアミノ酸配列、又は配列番号３７５に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２４のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３７５のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３２４のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３７５のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。
【０２１９】
いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２５のアミノ酸配列、又は配列番号３２５に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３７６のアミノ酸配列、又は配列番号３７６に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２５のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３７６のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３２５のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３７６のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。
【０２２０】
いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２６のアミノ酸配列、又は配列番号３２６に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３７７のアミノ酸配列、又は配列番号３７７に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２６のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３７７のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３２６のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３７７のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。
【０２２１】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２７のアミノ酸配列、又は配列番号３２７に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３７８のアミノ酸配列、又は配列番号３７８に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２７のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３７８のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３２７のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３７８のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２２２】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２８のアミノ酸配列、又は配列番号３２８に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３７９のアミノ酸配列、又は配列番号３７９に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２８のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３７９のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３２８のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３７９のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２２３】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２９のアミノ酸配列、又は配列番号３２９に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３８０のアミノ酸配列、又は配列番号３８０に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２９のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３８０のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３２９のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３８０のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２２４】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３０のアミノ酸配列、又は配列番号３３０に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３８１のアミノ酸配列、又は配列番号３８１に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３０のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３８１のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３３０のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３８１のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２２５】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３１のアミノ酸配列、又は配列番号３３１に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８

５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３８２のアミノ酸配列、又は配列番号３８２に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３１のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３８２のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３３１のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３８２のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２２６】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３２のアミノ酸配列、又は配列番号３３２に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３８３のアミノ酸配列、又は配列番号３８３に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３２のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３８３のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３３２のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３８３のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２２７】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３３のアミノ酸配列、又は配列番号３３３に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３８４のアミノ酸配列、又は配列番号３８４に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３３のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３８４のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３３３のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３８４のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２２８】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３４のアミノ酸配列、又は配列番号３３４に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３８５のアミノ酸配列、又は配列番号３８５に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３４のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３８５のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３３４のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３８５のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２２９】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３５のアミノ酸配列、又は配列番号３３５に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３８６のアミノ酸配列、又は配列

番号３８６に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３５のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３８６のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３３５のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３８６のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２３０】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３６のアミノ酸配列、又は配列番号３３６に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３８７のアミノ酸配列、又は配列番号３８７に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３６のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３８７のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３３６のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３８７のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２３１】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３７のアミノ酸配列、又は配列番号３３７に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３８８のアミノ酸配列、又は配列番号３８８に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３７のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３８８のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３３７のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３８８のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２３２】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３への結合について、本明細書に記載の抗ｎＧＰＣ３抗体部分のいずれかによる第２の抗ｎＧＰＣ３抗体部分と競合する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、第２の抗ｎＧＰＣ３抗体部分と同じ又は実質的に同じエピトープに結合する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３への結合は、第２の抗ｎＧＰＣ３抗体部分の同じ細胞表面結合ＧＰＣ３への結合を少なくとも約７０％（少なくとも約７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％又は９９％のいずれかなど）阻害し、逆もまた同様である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分及び第２の抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３への結合について交差競合し、すなわち、抗ｎＧＰＣ３抗体部分のそれぞれが、細胞表面結合ＧＰＣ３への結合について他と競合する。

【０２３３】

ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分

【０２３４】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗

ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。

【０２３５】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列、又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含む重鎖可変ドメイン（V_H）と、ｉｉ）配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列、又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含む軽鎖可変ドメイン（V_L）とを含む。

【０２３６】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２３７】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含む$HC-CDR3$を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２３８】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２３９】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉ

ｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。

【０２４０】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含み、当該アミノ酸置換がＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在するV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含み、当該アミノ酸置換がＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在するV_Lとを含む。

【０２４１】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２４２】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。

【０２４３】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つの、１つ、２つ、又は３つのＣＤＲを含むV_Hと、ｂ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つの、１つ、２つ、又は３つのＣＤＲを含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つの重鎖可変ドメインのＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、及びＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｂ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのＣＤＲの軽鎖可変ドメインのＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、及びＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２４４】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列、又は配列番号３３８～３５７のいずれか１つに対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列、又は配列番号３８９～４０８のいずれか１つに対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。

【０２４５】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３８～３５７のいず

れか１つのアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。

【０２４６】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２４７】

重鎖及び軽鎖可変ドメインは、多数の抗ＧＰＣ３抗体部分を生成するために、様々な対の組み合わせで組み合わせてよい。例示的な抗ＧＰＣ３抗体部分を表８及び表９に記載する。

【表８】

表８　抗ＧＰＣ３抗体部分のＣＤＲ配列

クローン番号	配列番号	HCDR1	配列番号	HCDR2	配列番号	HCDR3	配列番号	LCDR1	配列番号	LCDR2	配列番号	LCDR3
GPC3B-54	32	GYTFIDYY	83	IIPIFGTA	134	ARERRYSSSPSDH	185	NSNIGSDT	236	RDN	287	TTWDDSLNGLV
GPC3B-60	33	GYTFTSYY	84	INPSGGST	135	ARSLYSQPYIDG	186	NLENKF	237	EDN	288	QTWDSPTGLFV
GPC3B-63	34	GYTFTSYY	85	INPSGGST	136	ARSLHAMRWSQTMDS	187	QSLLHSNGYNY	238	LGS	289	MQALQTPFT
GPC3B-66	35	GYTFIGQY	86	INPMTGVT	137	ARFSSGYSRDT	188	NIGSKS	239	YDS	290	QVWDSSSDHLYV
GPC3B-68	36	GGTFSSYA	87	IIPILGIA	138	ARYGYEGHDT	189	SSNIGNNY	240	DNI	291	GTWDSSLSAGV
GPC3B-71	37	GFTFSRYT	88	ISSSGSYI	139	ARQGHMWYVPVDA	190	NIGSKS	241	YDS	292	QVWDSSSDHYV
GPC3B-76	38	GYTFTDYY	89	INPNSGGT	140	ARNYD	191	SSNIGNNY	242	DNN	293	GTWDSSLSAGV
GPC3B-78	39	GYTFTSYY	90	INPSGGST	141	ARGYSSFFDS	192	KLGDKY	243	QDN	294	QTWDRSTYV
GPC3B-80	40	GGTLSRFA	91	IIPIFRTA	142	ARMSKYYGSYSSYDE	193	SSNIGSNT	244	SNN	295	AAWDDSLNG
GPC3B-81	41	GYTFTGYY	92	INPNSGGT	143	ARGLWDS	194	NIGSKS	245	YDS	296	QVWDSSSDLLYV
GPC3B-82	42	GYSFTSYY	93	INPSGGST	144	ARYPVYMETSDFDS	195	SSNIGAGFD	246	DNN	297	QSFDSSLSGWV
GPC3B-85	43	GYTFTSYA	94	INTNTGNP	145	ARSSLYWMGSKWSRQTDM	196	SSNIGSNT	247	SNN	298	AAWDDSLNGYV
GPC3B-87	44	GGTFGSYA	95	IIPVLGRT	146	ARTNDS	197	QSLLHSNGYNY	248	LGS	299	MQALQTPWT
GPC3B-92	45	GYTFSNYY	96	INPSGGTT	147	ARPSMWTSSMGDV	198	TLAKRY	249	RDT	300	QSADNSRTFV
GPC3B-93	46	GYTFTSYY	97	INPSGGST	148	ARYTALKPRGIYSVDS	199	SGSIASNY	250	EDN	301	QSYDSSNWV
GPC3B-110	47	GGTFTTYS	98	IIPTFGTT	149	ARYYWRGGSGQGSVTSDY	200	SSNIGSNT	251	SSN	302	AAWDDSLNGPV
GPC3B-113	48	GYTLTELS	99	FDPEDGET	150	ARYSGDY	201	SSNIGSNS	252	SNN	303	AAWDDSLNGVL
GPC3B-115	49	GYTFTAYY	100	INANTGGT	151	ARISGYHSSGWDY	202	NIGSKS	253	DDS	304	QVWDSSSDPLYV
GPC3B-119	50	GYTFTSYA	101	INTNTGNP	152	ARGYYGKYDK	203	SSNIGNNY	254	DNN	305	ATWDNSLSALI
GPC3B-125	51	GYTFTSYA	102	INTNTGNP	153	ARQSHDE	204	SSDVGGYNY	255	EVS	306	SSYTSSTTVI

【表９－１】

表９　抗ＧＰＣ３抗体部分のV_H／V_L配列

（ＣＤＲ配列には下線を引く）

クローン番号	配列番号	VH	配列番号	VL
GPC3B-54	338	EVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKTSGYTFIDYYVYWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLGSEDTAVYYCARERRYSSSPSDHWGQGTLVTVSS	389	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSNSNIGSDTVNWYQQLPGTAPKLLIYRDNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCTTWDDSLNGLVFGGGTKVTVLG
GPC3B-60	339	EVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLYSQPYIDGWSQGTLVTVSS	390	SYVLTQPPSVSVSPGQTATIACSGDNLENKFVYWYHQKPGQSPVLVMYEDNKRPSGIPERFSGSNSGNTAALTISGAQPMDEADYYCQTWDSPTGLFVFGTGTKVTVLG
GPC3B-63	340	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLHAMRWSQTMDSWGQGTLVTVSS	391	EIVLTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPPTFGQGTKVEIKR
GPC3B-66	341	QVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFIGQYLHWVRQAPGQGLEWMGRINPMTGVTNYAPKFQGRVTMTRDTSISTGYMEISRLRSDDTAVYYCARFSSGYSRDTWGQGTLVTVSS	392	QAVLTQPPSVSVAPGKTASITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHLYVFGTGTKVTVLG
GPC3B-68	342	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYGYEGHDTWGQGTLVTVSS	393	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNIKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSAGVFGGGTKLTVLG
GPC3B-71	343	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYTMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSGSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMDSLRAEDTAVYYCARQGHMWYVPVDAWGQGTLVTVSS	394	SYVLTQPPSVSVAPGKTARVTCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVMYYDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISSVEAGDEADYYCQVWDSSSDHYVFGTGTKVTVLG
GPC3B-76	344	QMQLVQSGAEVKEPGASVKVSCKASGYTFTDYYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARNYDWGQGTLVTVSS	395	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEAAYYCGTWDSSLSAGVFGTGTKVTVLG
GPC3B-78	345	QMQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGYSSFFDSWGQGTLVTVSS	396	LPVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYAYWYQQKPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDAADYYCQTWDRSTYVFGTGTKVTVLG
GPC3B-80	346	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTLSRFAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFRTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARMSKYYGSYSSYDEWGQGTLVTVSS	397	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSAYLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGWGVFGGGTKLTVLG
GPC3B-81	347	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGRINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGLWDSWGQGTLVTVSS	398	SYELTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDLLYVFGTGTKVTVLG

【表９－２】

（表９の続き）

クローン番号	配列番号	VH	配列番号	VL
GPC3B-82	348	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEMSSLRSEDTAVYYCARYPVYMETSDFDSWGSRYSGDRLL	399	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGFDVHWYQQLPGTAPKLLIYDNNNRPSGVPDRFSGSKSDTSASLAITGLQAEDEADYYCQSFDSSLSGWVFGGGTKLTVLG
GPC3B-85	349	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARSSLYWMGSKWSRQTDMWGQGTLVTVSS	400	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLG
GPC3B-87	350	EVQLVQSGAEVRKPGSSVKVSCQASGGTFGSYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPVLGRTKYAQKFQGRVTVTADTSTSTVYMELTSLTSEDTAVYYCARTNDSWGQGTLVTVSS	401	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASVSCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR
GPC3B-92	351	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGTTTYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARPSMWTSSMGDVWGQGTLVTVSS	402	QSVLTQPPSVSVSPGQTARITCSGETLAKRYAHWYQQKPGQAPVLLIYRDTERPSGIPERFSGSSSGTTITLTITGVQAEDEADYYCQSADNSRTFVFGPGTKVTVLG
GPC3B-93	352	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTRYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARYTALKPRGIYSVDSWGQGTLVTVSS	403	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTGSSGSISASNYVQWYQQRPGSAPTTVIYEDNQRPSGVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSNWVFGGGTKLTVLG
GPC3B-110	353	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCQASGGTFTTYSINWVRQAPGQGLEWMGGIIPTFGTTNYAQNFQDRVTISADESTNTAYMELTSLRSEDTAVYYCARYYWRGGSGQGSVTSDYWGQGTLVTVSS	404	QSVLTQPPSASGTPGQRVTVSCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLLYSSNQRPSGVPDRFSGSRSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVLG
GPC3B-113	354	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGLEWMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYSGDYWGQGTLVTVSS	405	SYELTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNSVSWYQHLPGVAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKTGTSASLAISGLQSEDEGDYYCAAWDDSLNGVLFGGGTKLTVLG
GPC3B-115	355	QVQLVQSGAEVKRPGATIKVSCKTSGYTFTAYYTHWVRQAPGQGLEWVGRINANTGGTDYAPKFRDRVIMTRDTSISTAYMELGRLTSEDTAVYYCARISGYHSSGWDYWGQGTLVTVSS	406	SYELTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDPLYVFGTGTKVTVLG
GPC3B-119	356	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARGYYGKYDKWGQGTLVTVSS	407	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQIPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSRSGTSATLGITGLQTGDEAHYYCATWDNSLSALIFGGGTKVTVLG
GPC3B-125	357	QMQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARQSHDEWGQGTLVTVSS	408	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWFQQHPGKAPKLIIYEVSNRPSGVSDRFSGSKSGSTASLTISGLQAEDEANYYCSSYTSSTTVIFGGGTKLTVLG

【０２４８】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６のア

ミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２４９】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３７のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号３３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２５０】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３８のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）の

アミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号３４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２５１】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３９のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号３５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２５２】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４

、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４０のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号３６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２５３】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４１のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号３７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２５４】
いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４２のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号３８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２５５】
いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４３のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号３９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの

実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号３９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２５６】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４４のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号４０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２５７】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４５のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号４１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、

３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１９４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１９４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$とを含む。

【０２５８】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１９５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４６のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号４２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１９５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１９５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$とを含む。

【０２５９】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１９６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４７のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいず

れかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号４３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２６０】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４８のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号４４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４４のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９７のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２９９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２６１】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１

、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４９のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３００のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号４５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３００のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４５のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９８のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２４９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３００のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２６２】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５０のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９９のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１９９のアミノ酸配

列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５０のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２６３】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４７のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号２００のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５１のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号２００のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１４９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号２００のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。

【０２６４】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４８のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１５０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号２０１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５２のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１５０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号２０１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいず

れかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶＬとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号９９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１５０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶＨと、ｉｉ）配列番号２０１のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶＬとを含む。

【０２６５】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４９のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号１００のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１５１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶＨと、ｉｉ）配列番号２０２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５３のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶＬとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号４９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号１００のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１５１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶＨと、ｉｉ）配列番号２０２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶＬとを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号４９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号１００のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１５１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶＨと、ｉｉ）配列番号２０２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶＬとを含む。

【０２６６】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号５０のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号１０１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１５２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶＨと、ｉｉ）配列番号２０３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５４のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０５のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶＬとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＨ

Ｃ－ＣＤＲ１、配列番号１０１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１５２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号２０３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号１０１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１５２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号２０３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$とを含む。

【０２６７】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号５１のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号１０２のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１５３のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号２０４のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５５のアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０６のアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、（１）ｉ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１５３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号２０４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｉ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１５３のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号２０４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２５５のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号３０６のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$とを含む。

【０２６８】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３８のアミノ酸配列、又は配列番号３３８に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３８９のアミノ酸配列、又は配列番号３８９に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）

配列番号３３８のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３８９のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３３８のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３８９のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２６９】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３９のアミノ酸配列、又は配列番号３３９に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３９０のアミノ酸配列、又は配列番号３９０に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３３９のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３９０のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３３９のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３９０のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２７０】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４０のアミノ酸配列、又は配列番号３４０に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３９１のアミノ酸配列、又は配列番号３９１に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４０のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３９１のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３４０のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３９１のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２７１】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４１のアミノ酸配列、又は配列番号３４１に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３９２のアミノ酸配列、又は配列番号３９２に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４１のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３９２のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３４１のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３９２のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２７２】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４２のアミノ酸配列、又は配列番号３４２に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３９３のアミノ酸配列、又は配列番号３９３に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４２のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３９３のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３４２のアミ

ノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３９３のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２７３】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４３のアミノ酸配列、又は配列番号３４３に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３９４のアミノ酸配列、又は配列番号３９４に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４３のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３９４のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３４３のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３９４のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２７４】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４４のアミノ酸配列、又は配列番号３４４に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３９５のアミノ酸配列、又は配列番号３９５に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４４のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３９５のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３４４のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３９５のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２７５】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４５のアミノ酸配列、又は配列番号３４５に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３９６のアミノ酸配列、又は配列番号３９６に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４５のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３９６のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３４５のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３９６のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２７６】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４６のアミノ酸配列、又は配列番号３４６に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３９７のアミノ酸配列、又は配列番号３９７に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４６のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号３９７のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３４６のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３９７のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２７７】
いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４７のアミノ酸配列、又は配列番号３４７に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３９８のアミノ酸配列、又は配列番号３９８に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４７のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３９８のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３４７のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３９８のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。
【０２７８】
いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４８のアミノ酸配列、又は配列番号３４８に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号３９９のアミノ酸配列、又は配列番号３９９に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４８のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号３９９のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３４８のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３９９のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。
【０２７９】
いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４９のアミノ酸配列、又は配列番号３４９に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号４００のアミノ酸配列、又は配列番号４００に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３４９のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号４００のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３４９のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号４００のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。
【０２８０】
いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３５０のアミノ酸配列、又は配列番号３５０に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｂ）配列番号４０１のアミノ酸配列、又は配列番号４０１に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３５０のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｂ）配列番号４０１のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３５０のアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号４０１のアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む。
【０２８１】
いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３５１のアミノ酸配列

、又は配列番号３５１に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号４０２のアミノ酸配列、又は配列番号４０２に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３５１のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号４０２のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３５１のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号４０２のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２８２】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３５２のアミノ酸配列、又は配列番号３５２に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号４０３のアミノ酸配列、又は配列番号４０３に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３５２のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号４０３のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３５２のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号４０３のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２８３】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３５３のアミノ酸配列、又は配列番号３５３に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号４０４のアミノ酸配列、又は配列番号４０４に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３５３のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号４０４のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３５３のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号４０４のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２８４】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３５４のアミノ酸配列、又は配列番号３５４に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号４０５のアミノ酸配列、又は配列番号４０５に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３５４のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号４０５のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３５４のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号４０５のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２８５】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３５５のアミノ酸配列、又は配列番号３５５に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同

一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号４０６のアミノ酸配列、又は配列番号４０６に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３５５のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号４０６のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３５５のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号４０６のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２８６】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３５６のアミノ酸配列、又は配列番号３５６に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号４０７のアミノ酸配列、又は配列番号４０７に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３５６のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号４０７のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３５６のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号４０７のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２８７】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３５７のアミノ酸配列、又は配列番号３５７に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号４０８のアミノ酸配列、又は配列番号４０８に対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ａ）配列番号３５７のアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｂ）配列番号４０８のアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号３５７のアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号４０８のアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む。

【０２８８】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）への結合について、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３抗体部分のいずれかによる第２の抗ＧＰＣ３抗体部分と競合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、第２の抗ＧＰＣ３抗体部分と同じ又は実質的に同じエピトープに結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分の標的ＧＰＣ３への結合は、第２の抗ＧＰＣ３抗体部分の標的ＧＰＣ３への結合を少なくとも約７０％（少なくとも約７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％又は９９％のいずれかなど）阻害し、逆もまた同様である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分及び第２の抗ＧＰＣ３抗体部分は、標的ＧＰＣ３への結合について交差競合する、すなわち、抗ＧＰＣ３抗体部分のそれぞれが、標的ＧＰＣ３への結合について他方と競合する。

【０２８９】

いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、本明細書に記載の抗ｎＧＰＣ３抗体部分のいずれか１つであってよいコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、抗ＧＰＣ３

抗体部分が、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３抗体部分のいずれか１つであってよいコンストラクトが提供される。

【０２９０】

例えば、いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（本明細書では「抗ｎＧＰＣ３抗体部分」と称される、例えば、当該抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は当該抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６２のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６３のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸１～３５８（配列番号４６８）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６４のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０（配列番号４６５）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５８０（配列番号４６６）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸Ｒ^{３５８}／Ｓ^{３５９}におけるフューリン切断部位にまたがるエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、完全長成熟ヒトＧＰＣ３（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０又は２５～５８０）に特異的に結合することができるが、ヒトＧＰＣ３のＮ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８）又はヒトＧＰＣ３のＣ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０又は３５９～５８０）には結合しない。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、場合によりリンカーを介してＦｃ断片（例えば、ＩｇＧ１　Ｆｃ断片）に融合している抗ＧＰＣ３抗体部分を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３

コンストラクトは、完全長抗体（例えば、モノクローナル抗体）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、多重特異性（二重特異性など）分子、例えば、タンデムジｓｃＦｖ抗ＧＰＣ３　Ｔ細胞エンゲージャ（タンデムジｓｃＦｖ抗ＧＰＣ３×ＣＤ３ε）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ＣＡＲである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ｃａＴＣＲである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、免疫複合体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、単一特異性である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、多重特異性（例えば、二重特異性）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。

【０２９１】

いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１

つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列、又は配列番号３０７～３３７のいずれか１つに対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列、又は配列番号３５８～３８８のいずれか１つに対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lとを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、場合によりリンカーを介してＦｃ断片（例えば、ＩｇＧ１　Ｆｃ断片）に融合している抗ＧＰＣ３抗体部分を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、完全長抗体（例えば、モノクローナル抗体）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、多重特異性（二重特異性など）分子、例えば、タンデムジｓｃＦｖ抗ＧＰＣ３　Ｔ細胞エンゲージャ（タンデムジｓｃＦｖ抗ＧＰＣ３×ＣＤ３ε）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ＣＡＲである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ｃａＴＣＲである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、免疫複合体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、単一特異性である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、多重特異性（例えば、二重特異性）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３と

の間の結合のＫｄは、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のＫｄの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のＫｄは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。

【０２９２】

いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３、又はＨＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３、又はＬＣ－ＣＤＲ配列中に最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むこれらの変異型を含むV_Lとを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、ＬＣ－ＣＤＲ１又はＬＣ－ＣＤＲ２中に存在する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列、又は配列番号３３８～３５７のいずれか１

つに対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列、又は配列番号３８９～４０８のいずれか１つに対して少なくとも約８０％（例えば、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のいずれかを含む）の配列同一性を有するその変異型を含むＶ$_L$とを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）への結合について本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、場合によりリンカーを介してＦｃ断片（例えば、ＩｇＧ１　Ｆｃ断片）に融合している抗ＧＰＣ３抗体部分を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、完全長抗体（例えば、モノクローナル抗体）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、多重特異性（二重特異性など）分子、例えば、タンデムジｓｃＦｖ抗ＧＰＣ３　Ｔ細胞エンゲージャ（タンデムジｓｃＦｖ抗ＧＰＣ３×ＣＤ３ε）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ＣＡＲである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ｃａＴＣＲである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、免疫複合体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、単一特異性である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、多重特異性（例えば、二重特異性）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と標

的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）との間の結合のＫｄは、約１０－７Ｍ～約１０－１３Ｍ（約１０－７Ｍ～約１０－１３Ｍ、約１０－９Ｍ～約１０－１３Ｍ、又は約１０－１０Ｍ～約１０－１２Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のＫｄは、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的ＧＰＣ３との間の結合のＫｄの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、１０２、１０３、１０４、１０５、１０６、又は１０７倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のＫｄは、約１０－１Ｍ～約１０－６Ｍ（約１０－１Ｍ～約１０－６Ｍ、約１０－１Ｍ～約１０－５Ｍ、又は約１０－２Ｍ～約１０－４Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。

抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖ

【０２９３】

抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）は、いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３を標的とする）を含むｓｃＦｖ（以後「抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖ」と称される）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３抗体部分のいずれか１つを含んでいてよい（「抗ＧＰＣ３抗体部分」の章を参照されたい）。抗ＧＰＣ３ｓｃＦｖ（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３を標的とする）は、（Ｎ末端からＣ末端に向かって）V_L（ＧＰＣ３）－Ｌ－V_H（ＧＰＣ３）又はV_H（ＧＰＣ３）－Ｌ－V_L（ＧＰＣ３）（式中、Ｌは、リンカー（ペプチドリンカーなど）である）の構成を有していてよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。例示的な抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖの配列を表１０及び表１１に示す。

【表１０－１】

表１０　細胞表面結合ＧＰＣ３　ｓｃＦｖ配列を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分

（ＣＤＲ配列には下線を引き、リンカー配列は太字で示す）

クローン番号	配列番号	scFv
GPC3A-034	409	QPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNNVIWYQQLPGAAPKLLIYSNHRRPSGVPDRFSGSRS GTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLDGYLFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QV QLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLELSSVTAADTAVYYCARGYGGRFDYWGQGTLVTVSS
GPC3A-035	410	QAVLTQPPSASQTPGQMVTISCSGTSSNIGSNYVFWYQQLPGTAPKLLIYKNFQRPSGVPGRFSGSKS GTAASLAISGLRSEDEADYFCAAWDDALSGYVFGAGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QV QLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGR VTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSWTSGFDYWGQGTLVTVSS
GPC3A-037	411	QSVLTQPPSVSAAPGQRVTISCSGTRSNIGSDYVSWYQHLPGTAPKLLVYGDNLRPSGIPDRFSASKS GTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDYTLNGVVFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QV QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSSTYYADSVKGRFT ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTSYLNHGDYWGQGTLVTVSS
GPC3A-038	412	QSVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQL VQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARKVTGYDSWGQGTLVTVSS
GPC3A-039	413	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHWVFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQ LVQSGGGLVHPGGSLRLSCAGSGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAIGTGGGTYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGRKSIDAWGQGTLVTVSS
GPC3A-040	414	LPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGYVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QV QLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGR VTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARRGYYGYDSWGQGTLVTVSS
GPC3A-041	415	QAVLTQPPSASQTPGQMVTISCSGTSSNIGSNYVFWYQQLPGTAPKLLIYKNFQRPSGVPGRFSGSKS GTAASLAISGLRSEDEADYFCAAWDDALSGYVFGAGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**EV QLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGR VTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAMYYCARSGKYYGDKWGQGTLVTVSS
GPC3A-042	416	SYVLTQPPSASGTPGQRVTISCFGSSSDIGSNSVFWYQQLPGAAPKLLIYSTQYRPSGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLQSEDEAEYHCATWDDSLNGYVFGSGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QV QLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYVYWMRQAPGKGLEWMGWMNPRSGGTNYAQKFQG RVTMTRDTSISTAYMELSRLTSDDTAVYYCARSSYYWADSWGQGTLVTVSS
GPC3A-043	417	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGTNYVYWYQQLPGTAPKLIIYRNNQRPSGVPDRFSGSES GTSASLAISGLRSEDEADYYCAVWDDSLSGVVFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**EV QLVQSGAEVKKPGATVKVSCKVSGYTFTDYYMHWVQQAPGKGLEWMGLVDPEDGETIYAEKFQGRV TITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARELRDVAYYPWGVEDFWGQGTLVTVSS
GPC3A-044	418	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGDNIGYKGVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQL QQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKSRVTISVD TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYYVPYLSDWGQGTLVTVSS
GPC3A-045	419	QSVLTQPPSVSGTPGQRVIISCPGSTSNIGTNTVNWYQQFPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSG TSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGVVFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QM QLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARASDLYGDWGQGTLVTVSS
GPC3A-046	420	QAVLTQPPSVSGTPGQRVTISCSGSSSNFGSNTVHWYQQVPGTAPKLLIFSNTQRPSEIPDRFSGSKS GTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLTGVVFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QV QLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYRFSNYGVSWVRQAPGQGLEWMGWISGSNGNTNYAQKFLGR VTMTTDTSTTTAYMELSSLRSDDTAVYYCARGNRRYYSPIIDPWGQGTLVTVSS
GPC3A-047	421	LPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSRSNIASNDVYWYQQLPGTAPKRLIYKKNQRPSGVPDRFSASKS GTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDNLSGYVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QV QLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAPGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGR VTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSDYGSLYDKWGQGTLVTVSS
GPC3A-048	422	QPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEADFYCQVWDSSSDRGVFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**EVQL VESGGGEVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSFVATDYWGQGTLVTVSS
GPC3A-049	423	QAVLTQPSSASGTPGQRVTISCSGGSSNIGSNYVYWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGWVFGGRTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QV QLVQSGAEVKEPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGR VTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARHGGIGSMRSFDQWGQGTLVTVSS
GPC3A-050	424	QAVLTQPSSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QI TLKESGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYVYWMRQAPGKGLEWMGWMNPRSGGTNYAQKFQGR VTMTRDTSISTAYMELSRLTSDDTATYYCARSGYRWLDVWGQGTLVTVSS

【表１０－２】

（表１０の続き）

クローン番号	配列番号	scFv
GPC3A-051	425	QAVLTQPSSASGAPGQRVTISCTGGSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSK SGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**Q VQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGAFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVT ITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARMLYLSGRYYWDSWGQGTLVTVSS
GPC3A-052	426	QAVLTQPSSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVYWYQQLSGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGYVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**EV QLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGR VTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSHSSGYDKWGQGTLVTVSS
GPC3A-053	427	QSVLTQPPSASAAPGQRVTISCSGTSSNIGSNYVWWYQQLPGAAPRLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKS GTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGSNVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**Q LQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTI SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARWWSGSYDTWGQGTLVTVSS
GPC3A-054	428	SYELTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGYVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QM QLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRV TMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARIPMYSGSSDYWGQGTLVTVSS
GPC3A-055	429	QPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHYVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQL VQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARWHGGPYDYWGQGTLVTVSS
GPC3A-056	430	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPITFGQGTRLEIKR**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQLQQS GAEVKKFGASVKVSCKASGYSFNDYYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNNGDTKYEKKWQGRVTMTR DTSITTAYMELSSLRSDDTAVYYCARFSTHNWWWPTYDYWGQGTLVTVSS
GPC3A-057	431	EIVLTQSPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGNT ATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKVEIKR**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**EVQLV ESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYNYMSSGFYDRWGQGTLVTVSS
GPC3A-058	432	QSVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQLV QSGADVRKPGASVKVSCKASGYTFASHGISWVRQAPGQGLEWLGWISPYTGNTNYAQKFQGRVTMA TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAIYYCARGKRTLASCFDYWGQGTLVTVSS
GPC3A-059	433	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVYWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGNT ATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQLVQ SGAEVKKPGASVTVSCKASGYTFTRYGITWVRQAPGQGLEWMGWISAYSDKTNYAQKLQGRVTMTTD ISTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSRWSYMDVWGQGTLVTVSS
GPC3A-060	434	SYVLTQPPSVSVAPGKTARLTCGGNNIGSESVHWYQQKPGQAPLLVVYDDDDRPSGIPERFSGSNSE DTATLTISGTQALDEAEYYCQTWDSSTAIFGTGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQLVQ SGGEVKKPGASVKVSCKASGYTFNSYAISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTT DTSTNTAFMELRSLRSDDTAVYYCAREGYGSWAMDQWGQGTLVTVSS
GPC3A-061	435	QPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHYVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQL VQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQTPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTM TTDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARKGSSQFDQWGQGTLVTVSS
GPC3A-062	436	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNWPSGVPDRFSGSK SGTSASLAITGLRAEDEADYYCQSYDSSLSGSYVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA** QMQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPKIGTANYAQKFQGR VTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAMYYCARMYMDMGWGWGYWDWWGQGTLVTVSS
GPC3A-063	437	QTVVTQPPSASGTPGQRVTISCSGSWSNIGSYTVNWYQHLPGTAPKLLISGNNQRPSGVPGRFSGSKS GTSASLAISGLQSEDEADYHCAAWDDNLNGVVFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QV QLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSASYAQKFQGRV TMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDRLASDAFDIWGQGTMVTVSS
GPC3A-064	438	LPVLTQPPSLSVAPGKTARLTCGGNNIGSKSVHWYHQKPGQAPVLVVYDDTDRPSGIPERFSGSNSGN TAALTISRVEVGDEADYYCQVWDRSSAHWVFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QMQ LVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTIYGISWVRQAPGQGLEWMGWISPYNDNTIYAQKVQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARMGVGWGYAQDSWGQGTLVTVSS
GPC3A-067	439	QSVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**EVQL VQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPIFGITNYAQKFQGRVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAEMSDYWGQGTLVTVSS

【表１１－１】

表１１　抗ＧＰＣ３抗体部分のｓｃＦｖ配列

（ＣＤＲ配列には下線を引き、リンカー配列は太字で示す）

クローン番号	配列番号	scFv
GPC3B-54	440	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSNSNIGSDTVNWYQQLPGTAPKLLIYRDNQRPSGVPDRFSGSKSGT SASLAISGLQSEDEADYYCTTWDDSLNGLVFGGGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**EVQLVQ SGAEVKKPGASVKLSCKTSGYTFIDYYVYWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTS TAYMELSSLGSEDTAVYYCARERRYSSSPSDHWGQGTLVTVSS
GPC3B-60	441	SYVLTQPPSVSVSPGQTATIACSGDNLENKFVYWYHQKPGQSPVLVMYEDNKRPSGIPERFSGSNSGNT AALTISGAQPMDEADYYCQTWDSPTGLFVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**EVQLVES GAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTS TSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLYSQPYIDGWSQGTLVTVSS
GPC3B-63	442	EIVLTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSG SGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPPTFGQGTKVEIKR**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRD TSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLHAMRWSQTMDSWGQGTLVTVSS
GPC3B-66	443	QAVLTQPPSVSVAPGKTASITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHLYVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQLVQS GAEVKRPGASVKVSCKASGYTFIGQYLHWVRQAPGQGLEWMGRINPMTGVTNYAPKFQGRVTMTRDTSI STGYMEISRLRSDDTAVYYCARFSSGYSRDTWGQGTLVTVSS
GPC3B-68	444	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNIKRPSGIPDRFSGSKSGTS ATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSAGVFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQLVQ SGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKFQGRVTITADKSTS TAYMELSSLRSEDTAVYYCARYGYEGHDTWGQGTLVTVSS
GPC3B-71	445	SYVLTQPPSVSVAPGKTARVTCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVMYYDSDRPSGIPERFSGSNSGNT ATLTISSVEAGDEADYYCQVWDSSSDHYVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**EVQLVES GGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYTMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSGSYIYYADSVKGRFTISRDNAKN SLFLQMDSLRAEDTAVYYCARQGHMWYVPVDAWGQGTLVTVSS
GPC3B-76	446	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGT SATLGITGLQTGDEAAYYCGTWDSSLSAGVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QMQLV QSGAEVKEPGASVKVSCKASGYTFTDYYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTR DTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARNYDWGQGTLVTVSS
GPC3B-78	447	LPVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYAYWYQQKPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISGTQAMDAADYYCQTWDRSTYVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QMQLVQSGA EVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTS TVYMELSSLRSEDTAVYYCARGYSSFFDSWGQGTLVTVSS
GPC3B-80	448	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGT SAYLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGWGVFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQL VQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTLSRFAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFRTANYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARMSKYYGSYSSYDEWGQGTLVTVSS
GPC3B-81	449	SYELTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDLLYVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**EVQLVQS GAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGRINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDT SISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGLWDSWGQGTLVTVSS

【表１１－２】

（表１１の続き）

クローン番号	配列番号	scFv
GPC3B-82	450	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGFDVHWYQQLPGTAPKLLIYDNNNRPSGVPDRFSGSKSD TSASLAITGLQAEDEADYYCQSFDSSLSGWVFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**EVQLV QSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRD TSTSTVYMEMSSLRSEDTAVYYCARYPVYMETSDFDSWGSRYSGDRLL
GPC3B-85	451	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGT SASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQLV QSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRFVFSLD TSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARSSLYWMGSKWSRQTDMWGQGTLVTVSS
GPC3B-87	452	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASVSCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**EVQ LVQSGAEVRKPGSSVKVSCQASGGTFGSYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPVLGRTKYAQKFQGRVTVTA DTSTSTVYMELTSLTSEDTAVYYCARTNDSWGQGTLVTVSS
GPC3B-92	453	QSVLTQPPSVSVSPGQTARITCSGETLAKRYAHWYQQKPGQAPVLLIYRDTERPSGIPERFSGSSSGTTIT LTITGVQAEDEADYYCQSADNSRTFVFGPGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**EVQLVQSGAE VKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGTTTYAQKFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCARPSMWTSSMGDVWGQGTLVTVSS
GPC3B-93	454	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTGSSGSIASNYVQWYQQRPGSAPTTVIYEDNQRPSGVPDRFSGSIDSS SNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSNWVFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**EVQLVQ SGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTRYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARYTALKPRGIYSVDSWGQGTLVTVSS
GPC3B-110	455	QSVLTQPPSASGTPGQRVTVSCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLLYSSNQRPSGVPDRFSGSRSG TSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**EVQLV QSGAEVKKPGSSVKVSCQASGGTFTTYSINWVRQAPGQGLEWMGGIIPTFGTTNYAQNFQDRVTISADES TNTAYMELTSLRSEDTAVYYCARYYWRGGSGQGSVTSDYWGQGTLVTVSS
GPC3B-113	456	SYELTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNSVSWYQHLPGVAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKTGT SASLAISGLQSEDEGDYYCAAWDDSLNGVLFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGLEWMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTED TSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYSGDYWGQGTLVTVSS
GPC3B-115	457	SYELTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDPLYVFGTGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQLVQS GAEVKRPGATIKVSCKTSGYTFTAYYTHWVRQAPGQGLEWVGRINANTGGTDYAPKFRDRVIMTRDTSIS TAYMELGRLTSEDTAVYYCARISGYHSSGWDYWGQGTLVTVSS
GPC3B-119	458	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQIPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSRSGTS ATLGITGLQTGDEAHYYCATWDNSLSALIFGGGTKVTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QVQLVQS GSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRFVFSLDTS VSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARGYYGKYDKWGQGTLVTVSS
GPC3B-125	459	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWFQQHPGKAPKLIIYEVSNRPSGVSDRFSGSKSG STASLTISGLQAEDEANYYCSSYTSSTTVIFGGGTKLTVLG**SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA**QMQLVQS GSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRFVFSLDTS VSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARQSHDEWGQGTLVTVSS

リンカー

【０２９４】

本明細書に記載の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖで使用することができる全ての適用可能なリンカーについては、以下の「抗ＧＰＣ３　Ｆｃ融合タンパク質」の章の下の「リンカー」小見出しを参照されたい。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＳＲＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥＭＡ（配列番号４７３）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、（ＧＧＧＧＳ）$_n$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）であるか、又はこれを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＴＳＧＧＧＧＳ（配列番号４７４）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＧＥＧＴＳＴＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＡＤ（配列番号４９０）のアミノ酸配列を含む。

【０２９５】

いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識するｓｃＦｖ（本明細書では「抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖ」と称される、例えば、抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖの細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖが、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト）が提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエ

ピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３　ｓｃ－Ｆｖは、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３　ｓｃ－Ｆｖは、配列番号４６２のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３　ｓｃ－Ｆｖは、配列番号４６３のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３　ｓｃ－Ｆｖは、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３　ｓｃ－Ｆｖは、配列番号４６０のアミノ酸１～３５８（配列番号４６８）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、配列番号４６４のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０（配列番号４６５）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５８０（配列番号４６６）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸Ｒ^{358}／Ｓ^{359}におけるフューリン切断部位にまたがるエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、完全長成熟ヒトＧＰＣ３（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０又は２５～５８０）に特異的に結合することができるが、ヒトＧＰＣ３のＮ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８）又はヒトＧＰＣ３のＣ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０又は３５９～５８０）には結合しない。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖ（例えば、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖの細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖが、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖ（例えば、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖの細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖが、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｎＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃ

ＦｖはＮ末端側である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖのＶ$_{H}$は、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖのＶ$_{L}$のＣ末端側である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖのＶ$_{H}$とＶ$_{L}$との間のリンカーは、ＳＲＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥＭＡのアミノ酸配列（配列番号４７３）を含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖのＶ$_{H}$とＶ$_{L}$との間のリンカーは、（ＧＧＧＧＳ）$_{n}$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）であるか、又はこれを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖのＶ$_{H}$とＶ$_{L}$との間のリンカーは、ＧＥＧＴＳＴＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＡＤのアミノ酸配列（配列番号４９０）を含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、タグ（例えば、精製目的のためのペプチドタグ）を更に含む。いくつかの実施形態では、タグは、抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖのＮ末端側である。いくつかの実施形態では、タグは、抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖのＣ末端側である。いくつかの実施形態では、タグは、Ｈｉｓ－タグ及びＨＡ－タグを含む。いくつかの実施形態では、タグは、ＴＳＧＱＡＧＱＨＨＨＨＨＨＧＡＹＰＹＤＶＰＤＹＡＳのアミノ酸配列（配列番号４７７）を含む。

【０２９６】

いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{H}$と、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{L}$とを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{H}$と、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{L}$とを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{H}$と、ｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{L}$とを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{H}$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３５８～３

８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{L}$のＬＣ－ＣＤＲとを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｎＧＰＣ３との間の結合のＫ$_{d}$は、約１０$^{-7}$Ｍ～約１０$^{-13}$Ｍ（約１０$^{-7}$Ｍ～約１０$^{-13}$Ｍ、約１０$^{-9}$Ｍ～約１０$^{-13}$Ｍ、又は約１０$^{-10}$Ｍ～約１０$^{-12}$Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｓＧＰＣ３との間の結合のＫ$_{d}$は、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のＫ$_{d}$の少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、１０^{2}、１０^{3}、１０^{4}、１０^{5}、１０^{6}、又は１０^{7}倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｓＧＰＣ３との間の結合のＫ$_{d}$は、約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-6}$Ｍ（約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-6}$Ｍ、約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-5}$Ｍ、又は約１０$^{-2}$Ｍ～約１０$^{-4}$Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖのＶ$_{H}$は、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖのＶ$_{L}$のＮ末端側である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖのＶ$_{H}$は、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖのＶ$_{L}$のＣ末端側である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖのＶ$_{H}$とＶ$_{L}$との間のリンカーは、ＳＲＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥＭＡのアミノ酸配列（配列番号４７３）を含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖのＶ$_{H}$とＶ$_{L}$との間のリンカーは、（ＧＧＧＧＳ）$_{n}$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）であるか、又はこれを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖのＶ$_{H}$とＶ$_{L}$との間のリンカーは、ＧＥＧＴＳＴＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＡＤのアミノ酸配列（配列番号４９０）を含む。いくつかの実施形態では、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖが、配列番号４０９～４３９のいずれか１つのアミノ酸配列を含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、タグ（例えば、精製目的のためのペプチドタグ）を更に含む。いくつかの実施形態では、タグは、抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖのＮ末端側である。いくつかの実施形態では、タグは、抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖのＣ末端側である。いくつかの実施形態では、タグは、Ｈｉｓ－タグ及びＨＡ－タグを含む。いくつかの実施形態では、タグは、ＴＳＧＱＡＧＱＨＨＨＨＨＨＧＡＹＰＹＤＶＰＤＹＡＳのアミノ酸配列（配列番号４７７）を含む。

【０２９７】

いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、

２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$とを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$とを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）への結合について競合する抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖの細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、高い結合親和性では細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖの可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖと標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）との間の結合のＫ$_d$は、約１０$^{-7}$Ｍ～約１０$^{-13}$Ｍ（

約１０$^{-7}$Ｍ～約１０$^{-13}$Ｍ、約１０$^{-9}$Ｍ～約１０$^{-13}$Ｍ、又は約１０$^{-10}$Ｍ～約１０$^{-12}$Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖと非標的との間の結合のK_dは、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖと標的ＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、１０^2、１０^3、１０^4、１０^5、１０^6、又は１０^{7}倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖと非標的との間の結合のK_dは、約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-6}$Ｍ（約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-6}$Ｍ、約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-5}$Ｍ、又は約１０$^{-2}$Ｍ～約１０$^{-4}$Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖのV_Hは、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖのV_LのＮ末端側である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖのV_Hは、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖのV_LのＣ末端側である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖのV_HとV_Lとの間のリンカーは、ＳＲＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥＭＡのアミノ酸配列（配列番号４７３）を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖのV_HとV_Lとの間のリンカーは、（ＧＧＧＧＳ）$_n$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）であるか、又はこれを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖのV_HとV_Lとの間のリンカーは、ＧＥＧＴＳＴＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＡＤのアミノ酸配列（配列番号４９０）を含む。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）であって、抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖが、配列番号４４０～４５９のいずれか１つのアミノ酸配列を含むコンストラクトが提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、タグ（例えば、精製目的のためのペプチドタグ）を更に含む。いくつかの実施形態では、タグは、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖのＮ末端側である。いくつかの実施形態では、タグは、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖのＣ末端側である。いくつかの実施形態では、タグは、Ｈｉｓ－タグ及びＨＡ－タグを含む。いくつかの実施形態では、タグは、ＴＳＧＱＡＧＱＨＨＨＨＨＨＧＡＹＰＹＤＶＰＤＹＡＳのアミノ酸配列（配列番号４７７）を含む。

抗ＧＰＣ３　Ｆｃ融合タンパク質

【０２９８】

抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）は、いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片（ＩｇＧ１　Ｆｃ断片など）に融合している本明細書に記載の抗ＧＰＣ３抗体部分を含むＦｃ融合タンパク質（以後「抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質」と称される）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、リンカー（ペプチドリンカーなど）を介してＦｃ断片に融合している。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質は、Ｆｃ断片を含む抗体を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質は、完全長抗体である。「抗ＧＰＣ３抗体部分の章」に記載されている抗ＧＰＣ３抗体部分のいずれかを、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質において使用してよい。

Ｆｃ断片

【０２９９】

用語「Ｆｃ領域」、「Ｆｃドメイン」、又は「Ｆｃ」は、定常領域の少なくとも一部を含有する免疫グロブリン重鎖のＣ末端非抗原結合領域を指す。この用語は、ネイティブＦｃ領域及び変異型Ｆｃ領域を含む。いくつかの実施形態では、ヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ領域は、Ｃｙｓ２２６から重鎖のカルボキシル末端まで伸びる。しかしながら、Ｆｃ領域のＣ末端リジン（Ｌｙｓ４４７）は、Ｆｃ領域の構造にも安定性にも影響を及ぼすことなく、存在していてもよく、存在していなくてもよい。本明細書で特に指定しない限り、ＩｇＧ又はＦｃ領域におけるアミノ酸残基の付番は、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ，１９９１に記載されている

、ＥＵインデックスとも呼ばれる抗体のためのＥＵ付番システムに従う。
【０３００】
いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ヒンジ領域（Ｃｙｓ２２６で始まる）、ＩｇＧＣＨ２ドメイン、及びＣＨ３ドメインを含む免疫グロブリンＩｇＧ重鎖定常領域を含む。用語「ヒンジ領域」又は「ヒンジ配列」は、本明細書で使用するとき、リンカーとＣＨ２ドメインとの間に位置するアミノ酸配列を指す。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、ヒンジ領域を含むＦｃ断片を含む。いくつかの実施形態では、ヒンジ領域は、二量体化を促進するために、ネイティブＩｇＧ１ヒンジ領域にみられる配列である、アミノ酸配列ＣＰＰＣＰ（配列番号４７８）を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質のＦｃ断片は、ヒンジ領域で始まり、ＩｇＧ重鎖のＣ末端まで伸びる。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、ヒンジ領域を含まないＦｃ断片を含む。
【０３０１】
いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＭ由来のＦｃ断片、並びにこれらの組み合わせ及びハイブリッドからなる群から選択されるＦｃ断片を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ヒトＩｇＧに由来する。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４のＦｃ領域、又は組み合わせ若しくはハイブリッドのＩｇＧを含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ＩｇＧ１　Ｆｃ断片である。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ＩｇＧ１のＣＨ２及びＣＨ３ドメインを含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ＩｇＧ４Ｆｃ断片である。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ＩｇＧ４のＣＨ２及びＣＨ３ドメインを含む。ＩｇＧ４　Ｆｃは、ＩｇＧ１　Ｆｃよりも低いエフェクタ活性を示すことが知られているので、いくつかの用途に望ましい場合がある。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、マウス免疫グロブリンに由来する。
【０３０２】
いくつかの実施形態では、ＩｇＧ　ＣＨ２ドメインは、Ａｌａ２３１で始まる。いくつかの実施形態では、ＣＨ３ドメインは、Ｇｌｙ３４１で始まる。ヒトＩｇＧのＣ末端Ｌｙｓ残基は、場合により存在しなくてもよいことが理解される。Ｆｃの所望の構造及び／又は安定性に影響を及ぼすことのないＦｃ領域の保存的アミノ酸置換が、本発明の範囲内で想到されることも理解される。
【０３０３】
更に、以下に記載されるＦｃ変異型のいずれか又はその組み合わせを含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が想到される。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、増強された抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）又は補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）エフェクタ機能を有するように変更された又は別の方法で変化した配列を含む。
【０３０４】
いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片の各鎖は、同じ実体に融合している。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質は、それぞれがＦｃ断片の１本の鎖に融合している、本明細書に記載の２つの同一の抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３を特異的に認識する）を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片の２本の鎖は同一である。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（抗体を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質を含む）は、ホモ二量体である。
【０３０５】
いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片の各鎖は、異なる実体に融合している。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、それぞれがＦｃ断片の１本の鎖に融合している、２つの異なる抗ＧＰＣ３抗体部分を含む。いくつかの実施形態では、２つの抗ＧＰＣ３抗体部分は異なるが、両方ともｎＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、２つの抗ＧＰＣ３抗体部分は異なるが、両方ともｓＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、一方の抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｎＧＰＣ３を特異的に認識し、他方の抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｓＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質は一価である、すなわち、１つの抗ＧＰＣ３抗体部分のみがＦｃ

断片の１本の鎖に融合しており、Ｆｃ断片の第２の鎖は、抗ＧＰＣ３抗体部分に融合していない。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（抗体を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質を含む）は、ヘテロ二量体である。

【０３０６】

抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質中の非同一ポリペプチドのヘテロ二量体化は、ノブ・インツー・ホール技術によるヘテロ二量体化を含むが、これらに限定されない、当該技術分野において既知の方法によって促進され得る。ノブ・インツー・ホール技術の構造及び組み立て方法は、例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第５，８２１，３３３号、同第７，６４２，２２８号、米国特許出願公開第２０１１／０２８７００９号、及び国際出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０１２／０５９８１０号に見出すことができる。この技術は、１つのＦｃのＣＨ３ドメイン内の小さなアミノ酸残基を大きなアミノ酸で置換することによって「ノブ」（又は突起）を導入し、１つ以上の大きなアミノ酸残基をより小さなもので置換することによって他のＦｃのＣＨ３ドメイン内に「ホール」（又は空洞）を導入することによって開発された。いくつかの実施形態では、融合タンパク質中のＦｃ断片の１本の鎖はノブを含み、Ｆｃ断片の第２の鎖はホールを含む。

【０３０７】

ノブの形成に好ましい残基は、一般に、天然に生じるアミノ酸残基であり、好ましくは、アルギニン（Ｒ）、フェニルアラニン（Ｆ）、チロシン（Ｙ）、及びトリプトファン（Ｗ）から選択される。最も好ましいのは、トリプトファン及びチロシンである。一実施形態では、ノブを形成するための元の残基は、小さな側鎖体積を有し、例えば、アラニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グリシン、セリン、スレオニン、又はバリンなどである。ノブを形成するためのＣＨ３ドメインにおける例示的なアミノ酸置換としては、Ｔ３６６Ｗ、Ｔ３６６Ｙ、又はＦ４０５Ｗ置換が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３０８】

ホールの形成に好ましい残基は、通常、天然に生じるアミノ酸残基であり、好ましくは、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、スレオニン（Ｔ）、及びバリン（Ｖ）から選択される。一実施形態では、ホールを形成するための元の残基は、大きな側鎖体積を有し、例えば、チロシン、アルギニン、フェニルアラニン、又はトリプトファンなどである。ホールを生成するためのＣＨ３ドメインにおける例示的なアミノ酸置換としては、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、Ｆ４０５Ａ、Ｙ４０７Ａ、Ｙ４０７Ｔ、及びＹ４０７Ｖ置換が挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態では、ノブは、Ｔ３６６Ｗ置換を含み、ホールは、Ｔ３６６Ｓ／Ｌ３６８Ａ／Ｙ４０７Ｖ置換を含む。ヘテロ二量体化を促進する当該技術分野において既知のＦｃ領域に対する他の修飾も想到され、本出願に包含されることが理解される。

【０３０９】

本明細書に記載の変異型のいずれか（例えば、Ｆｃ変異型、エフェクタ機能変異型、グリコシル化変異型、システイン改変変異型）、又はこれらの組み合わせを含む、他の抗ＧＰＣ３　Ｆｃ融合タンパク質変異型（単離された抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質の変異型、例えば、完全長抗ＧＰＣ３抗体変異型など）が想到される。抗ＧＰＣ３　Ｆｃ融合タンパク質（例えば、完全長抗ＧＰＣ３抗体）の全ての適用可能な変異については、「抗ＧＰＣ３変異型」の章を参照されたい。

リンカー

【０３１０】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質は、リンカーを介してＦｃ断片に融合している、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３抗体部分を含む。

【０３１１】

抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質において使用されるリンカーの長さ、可撓性の程度、及び／又は他の特性は、抗ＧＰＣ３抗体部分、及び／又は抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（Ｆｃ断片及び抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗体など）の１つ以上の特定の抗原若しくはエピトープについての親和性、特異性、若しくは結合活性を含むがこれらに限定されない

特性にいくらかの影響を及ぼす場合がある。例えば、２つの隣接する抗体部分が互いに立体的に干渉しないことを保証するために、より長いリンカーを選択してよい。いくつかの実施形態では、リンカー（ペプチドリンカーなど）は、隣接する抗体部分が互いに対して自由に移動するように、可撓性残基（グリシン及びセリンなど）を含む。例えば、グリシン－セリンダブレットは、好適なペプチドリンカーであり得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、非ペプチドリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、ペプチドリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、非切断可能リンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、切断可能リンカーである。

【０３１２】

他のリンカーの考慮事項としては、溶解性、親油性、親水性、疎水性、安定性（より高い又はより低い安定性、及び計画された分解）、剛性、可撓性、免疫原性、抗体部分の結合の調節、ミセル又はリポソームに組み込まれる能力などの、得られる抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質の物性又は薬物動態特性に対する影響が挙げられる。

非ペプチドリンカー

【０３１３】

本明細書に記載のリンカーのいずれか１つ又は全ては、構成要素又は断片がそのそれぞれの活性、すなわち、標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）への結合、ＦｃＲへの結合、又はＡＤＣＣ／ＣＤＣを保持している限り、２つの分子を結合させる任意の化学反応によって得ることができる。この結合は、多くの化学的機構、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、及び錯化を含んでいてよい。いくつかの実施形態では、結合は共有結合である。共有結合は、既存の側鎖の直接縮合又は外部架橋分子の組み込みのいずれかによって達成することができる。多くの二価又は多価の連結剤は、本発明の抗ＧＰＣ３抗体部分にＦｃ断片などのタンパク質分子をカップリングさせるのに有用である。例えば、代表的なカップリング剤としては、チオエステル、カルボジイミド、スクシンイミドエステル、ジイソシアネート、グルタルアルデヒド、ジアゾベンゼン、及びヘキサメチレンジアミンなどの有機化合物を挙げることができる。このリストは、当該技術分野において既知の様々な部類のカップリング剤を網羅することを意図するものではなく、むしろ、より一般的なカップリング剤の例示である（Ｋｉｌｌｅｎ ａｎｄ Ｌｉｎｄｓｔｒｏｍ，Ｊｏｕｒ．Ｉｍｍｕｎ．１３３：１３３５－２５４９（１９８４）；Ｊａｎｓｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ ６２：１８５－２１６（１９８２）；及びＶｉｔｅｔｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３８：１０９８（１９８７）を参照されたい）。

【０３１４】

本出願において適用され得るリンカーは、文献に記載されている（例えば、ＭＢＳ（Ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル）の使用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）。いくつかの実施形態では、本明細書で使用される非ペプチドリンカーとしては、ＥＤＣに複合体化している（ｉ）ＥＤＣ（１－エチル－３－（３－ジメチルアミノ－プロピル）カルボジイミド塩酸塩；（ｉｉ）ＳＭＰＴ（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－プリジル－ジチオ）－トルエン（Ｐｉｅｒｃｅ Ｃｈｅｍ．Ｃｏ．、カタログ番号（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）－プロピアナアミド］ヘキサノエート（Ｐｉｅｒｃｅ Ｃｈｅｍ．Ｃｏ．カタログ番号２１６５－Ｇ）；及び（ｖ）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）が挙げられる。

【０３１５】

上記のリンカーは、異なる属性を有する構成要素を含有しているので、異なる物理化学的特性を有する抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が得られる。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エステルよりも安定である。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。更に、リンカーＳＭＰＴは、立体障害ジスルフィド結合を含有し、安定性の増大した融合タンパク質を形成することができる。ジスルフィド結合は、一般に、ジスルフィド結合がインビトロで切断されて、利用可能な融合タンパク質が少なくなるので、他の結合よりも安定性が低い。スルホ－ＮＨＳは、特に、カルボジイミドカップリングの安定性を増強することができる。スルホ－ＮＨＳと併用した場合、カルボジイミドカップリング（ＥＤＣなど）によって、カルボジイミドカップリング反応単独よりも加水分解に対する耐性が高いエステルが形成される。

ペプチドリンカー

【０３１６】

本明細書に記載のリンカーのいずれか１つ又は全ては、ペプチドリンカーであってよい。ペプチドリンカーは、天然配列又は非天然配列を有してよい。例えば、重鎖のみの抗体のヒンジ領域由来の配列をリンカーとして使用してよい。例えば、国際公開第１９９６／３４１０３号を参照されたい。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、ネイティブＩｇＧ１ヒンジ領域にみられる配列であるＣＰＰＣＰ（配列番号４７８）のアミノ酸配列を含む。

【０３１７】

ペプチドリンカーは任意の好適な長さであってよい。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、少なくとも約１、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、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００、又はそれ以上のアミノ酸（ａａ）長のいずれかである。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、約１００、７５、５０、４０、３５、３０、２５、２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、又はそれ未満のアミノ酸長のいずれか以下である。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーの長さは、約１ａａ～約１０ａａ、約１ａａ～約２０ａａ、約１ａａ～約３０ａａ、約５ａａ～約１５ａａ、約１０ａａ～約２５ａａ、約５ａａ～約３０ａａ、約１０ａａ～約３０ａａ、約３０ａａ～約５０ａａ、約５０ａａ～約１００ａａ、又は約１ａａ～約１００ａａのいずれかである。

【０３１８】

このようなペプチドリンカーの本質的な技術的特徴は、上記ペプチドリンカーが重合活性を全く含まないことである。二次構造の促進がないことを含むペプチドリンカーの特徴は、当該技術分野において既知であり、例えば、Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ ｅｔ ａｌ．（Ｂｉｏｃｈｅｍ．（１９９８）３７，９２６６－９２７３）、Ｃｈｅａｄｌｅ ｅｔ ａｌ．（Ｍｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｌ（１９９２）２９，２１－３０）、及びＲａａｇ ａｎｄ Ｗｈｉｔｌｏｗ（ＦＡＳＥＢ（１９９５）９（１），７３－８０）に記載されている。「ペプチドリンカー」に関連して特に好ましいアミノ酸は、Ｇｌｙである。更に、二次構造をなにも促進しないペプチドリンカーが好ましい。分子の相互結合は、例えば、遺伝子工学によって提供され得る。融合及び動作可能に連結された抗体コンストラクトを調製し、それを哺乳類細胞又は細菌で発現させる方法は、当該技術分野において周知である（例えば、国際公開第９９／５４４４０号、Ａｕｓｕｂｅｌ，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｇｒｅｅｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ，Ｎ．Ｙ．１９８９ ａｎｄ １９９４、又はＳａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．，２００１）。

【０３１９】

いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは安定なリンカーであり、これはマトリッ

クスメタロプロテイナーゼ（ＭＭＰ）などのプロテアーゼによって切断可能ではない。

【０３２０】

いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、剛性三次元構造をとらず、むしろ、抗ＧＰＣ３抗体部分とＦｃ断片との間に可撓性を付与するなど、ポリペプチド（例えば、第１及び／又は第２の構成要素）に可撓性を付与する傾向がある。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは可動性リンカーである。例示的な可撓性リンカーとしては、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）$_n$（配列番号４６９）、（ＧＳＧＧＳ）$_n$（配列番号４７０）、（ＧＧＧＧＳ）$_n$（配列番号４７１）、及び（ＧＧＧＳ）$_n$（配列番号４７２）（式中、ｎは少なくとも１の整数である）を含む）、グリシン－アラニンポリマー、アラニン－セリンポリマー、及び当該技術分野において既知の他の可撓性リンカーが挙げられる。グリシン及びグリシン－セリンポリマーは、比較的構造化されておらず、したがって、構成要素間の中性テザー（tether）として機能することができる。グリシンは、アラニンよりも著しく多くのｐｈｉ－ｐｓｉ空間にアクセスし、より長い側鎖を有する残基よりもはるかに制限されない（Ｓｃｈｅｒａｇａ，Ｒｅｖ．Ｃｏｍｐｕｔａｔｉｏｎａｌ　Ｃｈｅｍ．１１　１７３－１４２（１９９２）を参照）。当業者であれば、所望の融合タンパク質構造を提供するために、リンカーが、可撓性リンカー部分に加えてより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、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質の設計が、全て又は部分的に可撓性であるリンカーを含んでいてもよいことを認識するであろう。

【０３２１】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分及びＦｃ断片は、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が、標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）及びＦｃＲに結合できるように折り畳まれるのを可能にするのに十分な長さのリンカーによって互いに連結される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＳＲＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥＭＡ（配列番号４７３）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、（ＧＧＧＧＳ）$_n$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）であるか、又はこれを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＴＳＧＧＧＧＳ（配列番号４７４）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＧＥＧＴＳＴＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＡＤ（配列番号４９０）のアミノ酸配列を含む。

【０３２２】

天然リンカーは、その機能を発揮するために、ヘリカル、β－ストランド、コイル／ベンド、及びターンなどの、様々な構成の二次構造をとる。α－ヘリックス構造中のリンカーは、タンパク質ドメインを有効に分離するための剛性スペーサとして機能することができるので、その好ましくない相互作用が減少する。プロリンリッチ配列を有する非ヘリカルリンカーは、リンカーの剛性を高め、ドメイン間干渉を低減する機能を増大させることができる。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分（具体的には、例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３を認識する）及びＦｃ断片（又はＦｃ断片を含む抗体）は、α－ヘリカルリンカーによって、Ａ（ＥＡＡＡＫ）$_4$Ａ（配列番号４７５）のアミノ酸配列と互いに連結される。

抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質配列

【０３２３】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）は、場合によりリンカー（ペプチドリンカーなど）を介してＦｃ断片（ＩｇＧ１　Ｆｃ断片など）に融合している抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では

、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３を標的とする）抗ＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆｃ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質は、完全長抗体である。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、単一特異性である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質は、一価である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は多価である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、多重特異性である。いくつかの実施形態では、リンカーは、$(GGGGS)_n$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＣＰＰＣＰ（配列番号４７８）のアミノ酸配列を含む。

【０３２４】

したがって、例えばいくつかの実施形態では、ａ）細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６２のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６３のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸１～３５８（配列番号４６８）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６４のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０（配列番号４６５）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５８０（配列番号４６６）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸R^{358}／S^{359}におけるフューリン切断部位にまたがるエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、完全長成熟ヒトＧＰＣ３（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０又は２５～５８０）に特異的に結合することができるが、ヒトＧＰＣ３のＮ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８）又はヒトＧＰＣ３のＣ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０又は３５９～５８０）には結合しない。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープ

を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分及びＦｃ断片は、リンカー（ペプチドリンカーなど）を介して接続される。いくつかの実施形態では、リンカーは、（ＧＧＧＧＳ）$_{n}$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＣＰＰＣＰ（配列番号４７８）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ＩｇＧ１　Ｆｃ配列を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ヒトＩｇＧ１　Ｆｃ配列を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、マウスＩｇＧ１　Ｆｃ配列を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質は、完全長抗体である。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、単一特異性である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質は、一価である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は多価である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、多重特異性である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_{d}は、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_{d}は、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_{d}の少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^{2}、10^{3}、10^{4}、10^{5}、10^{6}、又は10^{7}倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_{d}は、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。

【０３２５】

いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_{H}と、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２

０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$とを含む抗ｎＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_H$と、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_L$とを含む抗ｎＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_H$及びｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_L$を含む抗ｎＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_H$のＨＣ－ＣＤＲ及びｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲを含む抗ｎＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のＫ$_d$は、約１０$^{-7}$Ｍ～約１０$^{-13}$Ｍ（約１０$^{-7}$Ｍ～約１０$^{-13}$Ｍ、約１０$^{-9}$Ｍ～約１０$^{-13}$Ｍ、又は約１０$^{-10}$Ｍ～約１０$^{-12}$Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のＫ$_d$は、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のＫ$_d$の少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、１０^2、１０^3、１０^4、１０^5、１０^6、又は１０^{7}倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のＫ$_d$は、約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-6}$Ｍ（約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-6}$Ｍ、約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-5}$Ｍ、又は約１０$^{-2}$Ｍ～約１０$^{-4}$Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分及びＦｃ断片は、リンカー（ペプチドリンカーなど）を介して接続される。いくつかの実施形態では、リンカーは、（ＧＧＧＧＳ）$_n$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＣＰＰＣＰ（配列番号４７８）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ＩｇＧ１　Ｆｃ配列を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ヒトＩｇＧ１　Ｆｃ配列を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、マウスＩｇＧ１　Ｆｃ配列を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質は、完全長抗体である。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、単一特異性である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質は、一価である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は多価である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、多重特異性である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又

は半合成である。

【０３２６】

いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、細胞表面結合ＧＰＣ３への結合について、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）のいずれかによる抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む第２の抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（第２の完全長抗ＧＰＣ３抗体など）と競合する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む第２の抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（第２の完全長抗ＧＰＣ３抗体など）と同じ又は実質的に同じエピトープに結合する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）の細胞表面結合ＧＰＣ３への結合は、抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む第２の抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）の同じ細胞表面結合ＧＰＣ３への結合を、少なくとも約７０％（少なくとも約７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％又は９９％のいずれかなど）阻害し、逆もまた同様である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）及び抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む第２の抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（第２の完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、細胞表面結合ＧＰＣ３への結合について交差競合する、すなわち、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）のそれぞれが、細胞表面結合ＧＰＣ３への結合について他方と競合する。

【０３２７】

いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ

$_H$のＨＣ－ＣＤＲ及びｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）への結合について競合する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のK_dは、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的ＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分及びＦｃ断片は、リンカー（ペプチドリンカーなど）を介して接続される。いくつかの実施形態では、リンカーは、（ＧＧＧＧＳ）$_n$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＣＰＰＣＰ（配列番号４７８）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ＩｇＧ１　Ｆｃ配列を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ヒトＩｇＧ１　Ｆｃ配列を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、マウスＩｇＧ１　Ｆｃ配列を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質は、完全長抗体である。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、単一特異性である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質は、一価である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は多価である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、多重特異性である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。

【０３２８】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰ

Ｃ３）への結合について、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）のいずれかによる抗ＧＰＣ３抗体部分を含む第２の抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（第２の完全長抗ＧＰＣ３抗体など）と競合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、抗ＧＰＣ３抗体部分を含む第２の抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（第２の完全長抗ＧＰＣ３抗体）と同じ又は実質的に同じエピトープに結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）の標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）への結合は、抗ＧＰＣ３抗体部分を含む第２の抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）の同じ標的ＧＰＣ３への結合を、少なくとも約７０％（少なくとも約７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％又は９９％のいずれかなど）阻害し、逆もまた同様である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）及び抗ＧＰＣ３抗体部分を含む第２の抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（第２の完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）への結合について交差競合する、すなわち、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）のそれぞれが、標的ＧＰＣ３への結合について他方と競合する。

【０３２９】

いくつかの実施形態では、ａ）細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む完全長抗ＧＰＣ３抗体（単離された完全長抗ＧＰＣ３抗体など）が提供される。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ＩｇＧ１　Ｆｃ配列（例えば、ヒト又はマウスのＩｇＧ１　Ｆｃ配列）を含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６２のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６３のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸１～３５８（配列番号４６８）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６４のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０（配列番号４６５）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５８０（配列番号４６６）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸R^{358}／S^{359}におけるフューリン切断部位にまたがるエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、完全長成熟ヒトＧＰＣ３（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０又は２５～５８０）に特異的に結合することができるが、ヒトＧＰＣ３のＮ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８）又はヒトＧＰＣ３のＣ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０又は３５９～５８０には結合しない。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いてい

るＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む完全長抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する、抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む完全長抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、天然には生じない。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、モノクローナルである。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、単一特異性である。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、多重特異性（例えば、二重特異性）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、配列番号５０７のアミノ酸配列を含むマウスＩｇＧ１重鎖定常ドメイン（C_H）を含む。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、配列番号５０８のアミノ酸配列を含むマウスλ軽鎖定常ドメイン（C_L）を含む。例えば、いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、配列番号５０５のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号５０６のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体の重鎖及び／又は軽鎖は、場合によりＮ末端シグナルペプチドを含む。いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、配列番号５０９のアミノ酸配列を含む。

【０３３０】

いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は

５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{L}$とを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む完全長抗ＧＰＣ３抗体（単離された完全長抗ＧＰＣ３抗体など）が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{H}$と、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{L}$とを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む完全長抗ＧＰＣ３抗体（単離された完全長抗ＧＰＣ３抗体など）が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{H}$及びｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{L}$を含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む完全長抗ＧＰＣ３抗体（単離された完全長抗ＧＰＣ３抗体など）が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{H}$のＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{L}$のＬＣ－ＣＤＲを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む完全長抗ＧＰＣ３抗体（単離された完全長抗ＧＰＣ３抗体など）が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれかと競合的に細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分と、Ｆｃ断片と、を含む完全長抗ＧＰＣ３抗体（単離された完全長抗ＧＰＣ３抗体など）が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分と、ＦＣ断片と、を含む完全長抗ＧＰＣ３抗体（単離された完全長抗ＧＰＣ３抗体など）が提供される。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ＩｇＧ１　Ｆｃ配列（例えば、ヒト又はマウスのＩｇＧ１　Ｆｃ配列）を含む。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、天然には生じない。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、モノクローナルである。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、単一特異性である。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、多重特異性（例えば、二重特異性）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のＫ$_{d}$は、約１０$^{-7}$Ｍ～約１０$^{-13}$Ｍ（約１０$^{-7}$Ｍ～約１０$^{-13}$Ｍ、約１０$^{-9}$Ｍ～約１０$^{-13}$Ｍ、又は約１０$^{-10}$Ｍ～約１０$^{-12}$Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のＫ$_{d}$は、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のＫ$_{d}$の少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、１０^{2}、１０^{3}、１０^{4}、１０^{5}、１０^{6}、又は１０^{7}倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のＫ$_{d}$は、約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-6}$Ｍ（約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-6}$Ｍ、約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-5}$Ｍ、又は約１０$^{-2}$Ｍ～約１０$^{-4}$Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、配列番号５０７のアミノ酸配列を含むマウスＩｇＧ１重鎖定常ドメイン（Ｃ$_{H}$）を含む。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、配列番号５０８のアミノ酸配列を含むマウスλ軽鎖定常ドメイン（Ｃ$_{L}$）を含む。例えば、いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、配列番号５０５のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号５０６のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体の重鎖及び／又は軽鎖は、場合によりＮ末端シグナルペプチドを含む。いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、配列番

号５０９のアミノ酸配列を含む。
【０３３１】
いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む完全長抗ＧＰＣ３抗体（単離された完全長抗ＧＰＣ３抗体など）が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）Ｆｃ断片と、を含む完全長抗ＧＰＣ３抗体（単離された完全長抗ＧＰＣ３抗体など）が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む完全長抗ＧＰＣ３抗体（単離された完全長抗ＧＰＣ３抗体など）が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む完全長抗ＧＰＣ３抗体（単離された完全長抗ＧＰＣ３抗体など）が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれかと競合的に標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分と、Ｆｃ断片と、を含む完全長抗ＧＰＣ３抗体（単離された完全長抗ＧＰＣ３抗体など）が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ＦＣ断片と、を含む完全長抗ＧＰＣ３抗体（単離された完全長抗ＧＰＣ３抗体など）が提供される。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片は、ＩｇＧ１　Ｆｃ配列（例えば、ヒト又はマウスのＩｇＧ１　Ｆｃ配列）を含む。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、モノクローナルである。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、単一特異性である。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、多重特異性（例えば、二重特異性）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合

ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のK_dは、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的ＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、配列番号５０７のアミノ酸配列を含むマウスＩｇＧ１重鎖定常ドメイン（C_H）を含む。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体は、配列番号５０８のアミノ酸配列を含むマウスλ軽鎖定常ドメイン（C_L）を含む。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体の重鎖及び／又は軽鎖は、場合によりＮ末端シグナルペプチドを含む。いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、配列番号５０９のアミノ酸配列を含む。

多重特異性抗ＧＰＣ３分子

【０３３２】

抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）は、いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３抗体部分のいずれか１つによる抗ＧＰＣ３抗体部分と、第２の抗原を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分など）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性抗ＧＰＣ３分子は、抗ＧＰＣ３抗体部分と、第２の抗原を特異的に認識する第２の抗体部分とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。

【０３３３】

多重特異性分子は、少なくとも２つの異なる抗原又はエピトープに対する結合特異性を有する分子である（例えば、二重特異性抗体は、２つの抗原又はエピトープに対する結合特異性を有する）。２を超える原子価及び／又は特異性を有する多重特異性分子も想到される。例えば、三重特異性抗体を調製することができる（Ｔｕｔｔ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：６０（１９９１））。当業者は、本明細書に記載の個々の多重特異性分子の適切な特徴を選択し、互いに組み合わせて、本発明の多重特異性抗ＧＰＣ３分子

を形成できることを理解されたい。

【０３３４】

したがって、例えば、いくつかの実施形態では、ａ）標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、ｂ）第２の抗原を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分、例えば、ｓｃＦｖなど）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第２の結合部分は、抗ＧＰＣ３抗体部分と同じフォーマットのＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第２の結合部分は、抗ＧＰＣ３抗体部分と比べて異なるＧＰＣ３エピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第２の結合部分は、抗ＧＰＣ３抗体部分と比べて異なるフォーマットのＧＰＣ３を特異的に認識する。例えば、いくつかの実施形態では、第２の結合部分は、ｓＧＰＣ３（又はｓＧＰＣ３及びｎＧＰＣ３の両方）を特異的に認識するが、一方、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｎＧＰＣ３を特異的に認識する（ｓＧＰＣ３には全く又はほとんど結合しない）。いくつかの実施形態では、第２の結合部分は、ＧＰＣ３ではない第２の抗原を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第２の結合部分は、細胞、例えば細胞傷害性細胞の表面上の第２の抗原を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第２の結合部分は、Ｔ細胞、Ｂ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、好中球、単球、マクロファージ、又は樹状細胞などのリンパ球の表面上の抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第２の結合部分は、細胞傷害性Ｔ細胞（細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）又はＴキラー細胞としても知られている）又はナチュラルキラーＴ（ＮＫＴ）細胞などのエフェクタＴ細胞に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第２の結合部分は、例えば、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、ＣＤ３ε、ＣＤ３ζ、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ１６ａ、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ５６、ＣＤ６８、ＣＤ１３７、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＨＶＥＭ、及びＧＤＳ２Ｄを含む、エフェクタ細胞の表面上の第２の抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、完全長抗体、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓＦｖである。いくつかの実施形態では、第２の結合部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、多重特異性抗ＧＰＣ３分子は、少なくとも１つ（少なくとも約２、３、４、５つ又はそれ以上のいずれかなど）の追加の抗体部分を更に含む。

【０３３５】

いくつかの実施形態では、ａ）細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分、例えば、ｓｃＦｖなど）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番

号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６２のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６３のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸１～３５８（配列番号４６８）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６４のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０（配列番号４６５）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５８０（配列番号４６６）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸Ｒ^{３５８}／Ｓ^{３５９}におけるフューリン切断部位にまたがるエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、完全長成熟ヒトＧＰＣ３（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０又は２５～５８０）に特異的に結合することができるが、ヒトＧＰＣ３のＮ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８）又はヒトＧＰＣ３のＣ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０又は３５９～５８０には結合しない。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する、抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ；例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分、例えば、ｓｃＦｖなど）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する、抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ；例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分、例えば、ｓｃＦｖなど）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。い

くつかの実施形態では、第１及び／又は第２の結合部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第１及び／又は第２の結合部分は、完全長抗体、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、第１及び／又は第２の抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、第１及び第２の抗体部分は、リンカー（例えば、配列番号４７４）によって接続される。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３抗体部分は、第２の抗体部分のＮ末端側である。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、Ｔ細胞（例えば、細胞傷害性Ｔ細胞、ヘルパーＴ細胞、又はナチュラルキラーＴ細胞）、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、樹状細胞、マクロファージ、単球、又は好中球である。いくつかの実施形態では、第２の抗原は、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、ＣＤ３ε、ＣＤ３ζ、ＣＤ２８、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＣＤ１３７、ＣＤ２７、ＣＤ４０Ｌ、又はＨＶＥＭである。

【０３３６】

いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、ｂ）第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分、例えば、ｓｃＦｖなど）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、ｂ）第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分、例えば、ｓｃＦｖなど）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、ｂ）第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分、例えば、ｓｃＦｖなど）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、ｂ）第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分、例えば、ｓｃＦｖなど）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供

される。いくつかの実施形態では、ａ）細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）であって、細胞表面結合ＧＰＣ３への結合について、本明細書に記載の抗ｎＧＰＣ３抗体部分のいずれかによる第２の抗ｎＧＰＣ３抗体部分と競合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分、例えば、ｓｃＦｖなど）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、ｂ）第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分、例えば、ｓｃＦｖなど）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、第１及び／又は第２の結合部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第１及び／又は第２の結合部分は、完全長抗体、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、第１及び／又は第２の抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、第１及び第２の抗体部分は、リンカー（例えば、配列番号４７４）によって接続される。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３抗体部分は、第２の抗体部分のＮ末端側である。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、Ｔ細胞（例えば、細胞傷害性Ｔ細胞、ヘルパーＴ細胞、又はナチュラルキラーＴ細胞）、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、樹状細胞、マクロファージ、単球、又は好中球である。いくつかの実施形態では、第２の抗原は、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、ＣＤ３ε、ＣＤ３ζ、ＣＤ２８、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＣＤ１３７、ＣＤ２７、ＣＤ４０Ｌ、又はＨＶＥＭである。

【０３３７】

いくつかの実施形態では、ａ）ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）であって、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分、例えば、ｓｃＦｖなど）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミ

ノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、ｂ）第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分、例えば、ｓｃＦｖなど）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、ｂ）第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分、例えば、ｓｃＦｖなど）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、ｂ）第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分、例えば、ｓｃＦｖなど）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）であって、標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）への結合について、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３抗体部分のいずれかによる第２の抗ＧＰＣ３抗体部分と競合する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分、例えば、ｓｃＦｖなど）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、ｂ）第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２の結合部分（第２の抗体部分、例えば、ｓｃＦｖなど）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的ＧＰＣ３（例えば、ｇＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のK_dは、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的ＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、第１及び／又は第２の結合部分は、キメラである、ヒトであ

る、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第１及び／又は第２の結合部分は、完全長抗体、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、第１及び／又は第２の抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、第１及び第２の抗体部分は、リンカー（例えば、配列番号４７４）によって接続される。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３抗体部分は、第２の抗体部分のＮ末端側である。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、Ｔ細胞（例えば、細胞傷害性Ｔ細胞、ヘルパーＴ細胞、又はナチュラルキラーＴ細胞）、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、樹状細胞、マクロファージ、単球、又は好中球である。いくつかの実施形態では、第２の抗原は、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、ＣＤ３ε、ＣＤ３ζ、ＣＤ２８、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＣＤ１３７、ＣＤ２７、ＣＤ４０Ｌ、又はＨＶＥＭである。

【０３３８】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗ＧＰＣ３分子は、例えば、ダイアボディ（Ｄｂ）、単鎖ダイアボディ（ｓｃＤｂ）、タンデムｓｃＤｂ（Ｔａｎｄａｂ）、線状二量体ｓｃＤｂ（ＬＤ－ｓｃＤｂ）、円形二量体ｓｃＤｂ（ＣＤ－ｓｃＤｂ）、ジ－ダイアボティ、タンデムｓｃＦｖ、タンデムジｓｃＦｖ（例えば、二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）、タンデムトリｓｃＦｖ、トリ（ａ）ボディ、二重特異性Ｆａｂ２、ジ－ミニ抗体、テトラボディ、ｓｃＦｖ－Ｆｃ－ｓｃＦｖ融合物、二重親和性リターゲティング（ＤＡＲＴ）抗体、二重可変ドメイン（ＤＶＤ）抗体、ＩｇＧ－ｓｃＦａｂ、ｓｃＦａｂ－ｄｓ－ｓｃＦｖ、Ｆｖ２－Ｆｃ、ＩｇＧ－ｓｃＦｖ融合物、ドック・アンド・ロック（ＤＮＬ）抗体、ノブ・インツー・ホール（ＫｉＨ）抗体（ＫｉＨ ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙによって調製された二重特異性ＩｇＧ）、ＤｕｏＢｏｄｙ（Ｄｕｏｂｏｄｙ ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙによって調製された二重特異性ＩｇＧ）、ヘテロ多量体抗体、又はヘテロコンジュゲート抗体である。いくつかの実施形態では、多重特異性抗ＧＰＣ３分子は、タンデムｓｃＦｖ（タンデムジｓｃＦｖ、例えば、二重特異性Ｔ細胞エンゲージャなど）である。

【０３３９】

第２の抗原

【０３４０】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）は、抗ＧＰＣ３抗体部分（抗ｎＧＰＣ３抗体部分など）及び第２の抗原を特異的に認識する第２の抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子を含む。いくつかの実施形態では、第２の抗原もＧＰＣ３であるが、抗ＧＰＣ３抗体部分によって認識されるエピトープと比べて異なるエピトープを含む。いくつかの実施形態では、第２の抗原は、ＧＰＣ３ではない。いくつかの実施形態では、第２の抗原は、腫瘍抗原である。いくつかの実施形態では、第２の抗原は、細胞表面分子である。いくつかの実施形態では、第２の抗原は、エフェクタ細胞上の細胞表面分子である。

【０３４１】

本明細書に記載の第２の抗体部分によって認識され得る例示的な腫瘍抗原としては、アルファフェトプロテイン（ＡＦＰ）、ＣＡ１５－３、ＣＡ２７－２９、ＣＡ１９－９、ＣＡ－１２５、カルレチニン、癌胎児性抗原、ＣＤ３４、ＣＤ９９、ＣＤ１１７、クロモグラニン、サイトケラチン、デスミン、上皮膜タンパク質（ＥＭＡ）、第ＶＩＩＩ因子、ＣＤ３１　ＦＬ１、グリア原線維酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）、総嚢胞性疾患流体タンパク質（ＧＣＤＦＰ－１５）、ＨＭＢ－４５、ヒト絨毛性ゴナドトロピン（ｈＣＧ）、インヒビン、ケラチン、ＣＤ４５、リンパ球マーカー、ＭＡＲＴ－１（Ｍｅｌａｎ－Ａ）、Ｍｙｏ　Ｄｌ、筋肉特異的アクチン（ＭＳＡ）、神経フィラメント、神経特異的エノラーゼ（ＮＳＥ）、胎盤性アルカリホスファターゼ（ＰＬＡＰ）、前立腺特異的抗原、Ｓ１００タンパク質、平滑筋アクチン（ＳＭＡ）、シナプトフィジン、チログロブリン、甲状腺転写因子－１、腫瘍Ｍ２－ＰＫ、及びビメンチンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３４２】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子は、エフェクタ細胞（細胞傷害性Ｔ細胞など）を腫瘍部位に導く（又は動員する）ことによって、腫瘍細胞の殺傷（例えば、細胞傷害性溶解又は食作用）を促進するように遺伝子操作することができる。いくつかの実施形態では、腫瘍細胞傷害性は、ＬＤＨ細胞傷害性アッセイを使用して試験することができる。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子は、免疫抑制性腫瘍環境などの免疫抑制環境において、エフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞）を標的細胞に有効に導くことができる。

【０３４３】

例示的なエフェクタ細胞としては、Ｔ細胞、Ｂ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、樹状細胞（ＤＣ）、マクロファージ、単球、好中球、ナチュラルキラーＴ（ＮＫＴ）細胞、抗体依存性細胞傷害性細胞、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）エフェクタ細胞（例えば、ＣＡＲ－Ｔ）、キメラ抗体－Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）コンストラクト（ｃａＴＣＲ）エフェクタ細胞（以下のｃａＴＣＲの章を参照されたい）などが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、Ｔ細胞（例えば、細胞傷害性Ｔ細胞、ヘルパーＴ細胞、又はＮＫＴ細胞）である。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、細胞傷害性Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、同種である。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、自己である。

【０３４４】

本発明の細胞表面分子は、特定の細胞型又は限られた数の細胞型の外部細胞壁又は原形質膜上にみられる分子である。細胞表面分子の例としては、受容体、輸送体、イオンチャネル、プロトンポンプ、及びＧタンパク質結合受容体などの膜タンパク質；接着分子（例えば、インテグリン、カドヘリン、セレクチン、又はＮＣＡＭＳ）などの細胞外マトリックス分子が挙げられるが、これらに限定されず；例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第７，５５６，９２８号を参照されたい。エフェクタ細胞上の細胞表面分子としては、ＣＤ３（例えば、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、ＣＤ３ε、又はＣＤ３ζ）、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ７、ＣＤ８、ＣＤ１３、ＣＤ１４、ＣＤ１６、ＣＤ２７（ＴＮＦＲＳＦ７）、ＣＤ２８、ＣＤ３１、ＣＤ３８、ＣＤ４０Ｌ（ＴＮＦＳＦ５又はＣＤ１５４）、ＣＤ５６、ＣＤ６４、ＣＤ６８、ＣＤ８９、ＣＤ９４、ＣＤ１３７（ＴＮＦＲＳＦ９又は４－１ＢＢ）、ＣＤ２７８、ＮＫｐ４６、ＮＫｐ３０、ＮＫＧ２Ｄ、ＭＡＣ－ｌ／ＭＡＣ－３、ＩＬ－２Ｒａ、ＯＸ４０（ＴＮＦＲＳＦ４又はＣＤ１３４）、ＧＩＴＲ、ＨＶＥＭ（ＴＮＦＲＳＦ１４又はＣＤ２７０）、Ｌｙ４９、又はインバリアントＴＣＲが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３４５】

当業者であれば、免疫細胞が異なる細胞表面分子を有することを認識するであろう。例えば、ＣＤ３はＴ細胞上の細胞表面分子であり、一方、ＣＤ１６、ＮＫＧ２Ｄ、又はＮＫｐ３０は、ＮＫ細胞上の細胞表面分子であり、ＣＤ３又はインバリアントＴＣＲは、ＮＫＴ細胞上の細胞表面分子である。いくつかの実施形態では、例えば、エフェクタ細胞がＴ細胞である場合、活性化分子は、ＣＤ３（例えば、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、又はＣＤ３ε）、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ４０、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、及びＣＤ２７８のうちの１つ以上である。いくつかの実施形態では、例えば、エフェクタ細胞がＮＫ細胞である場合、細胞表面分子は、ＣＤ１６、ＮＫＧ２Ｄ、若しくはＮＫｐ３０であるか、又はエフェクタ細胞がＮＫＴ細胞である場合、細胞表面分子は、ＣＤ３若しくはインバリアントＴＣＲである。

【０３４６】

いくつかの実施形態では、第２の抗体部分は、ＣＤ３に特異的に結合する。ＣＤ３は、Ｔ細胞によって発現される抗原であり、３本の異なるポリペプチド鎖（ε、δ及びγ鎖）を含む。３本のＣＤ３ポリペプチド鎖は、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）及びζ鎖と会合してＴＣＲ複合体を形成し、これは、Ｔ細胞中でシグナル伝達カスケードを活性化する機能を有する。現在、多くの治療ストラテジーは、抗ヒトＣＤ３モノクローナル抗体を使用して疾

患を治療するために、ＴＣＲシグナル伝達を標的とする。当業者であれば、ＴＣＲ複合体が、３つの二量体シグナル伝達モジュールＣＤ３δ／ε、ＣＤ３γ／ε、及びＣＤ３ζ／ζ又はζ／ηを有する可変ＴＣＲα及びβ鎖の八量体複合体であることを認識するであろう。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の第２の抗体部分（ｓｃＦｖなど）はＣＤ３εに結合するが、他のＣＤ３分子、特にＣＤ３ζ、又はＴＣＲα及びβ鎖を標的とすることも本開示に包含される。

【０３４７】

いくつかの実施形態では、ａ）標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、ｂ）ＣＤ３に特異的に結合する第２の抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。いくつかの実施形態では、第２の抗体部分は、ＣＤ３εに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第２の抗体部分は、ＣＤ３εのアゴニストエピトープに特異的に結合する。用語「アゴニストエピトープ」は、本明細書で使用するとき、（ａ）多重特異性分子の結合時、場合により、同じ細胞上におけるいくつかの多重特異性分子の結合時に、当該多重特異性分子がＴＣＲシグナル伝達を活性化し、Ｔ細胞の活性化を誘導することを可能にするエピトープ、及び／又は（ｂ）ＣＤ３のイプシロン鎖のアミノ酸残基のみから構成され、その天然の状況でＴ細胞上に提示された（すなわち、ＴＣＲ、ＣＤ３γ鎖などによって囲まれた）ときに多重特異性分子による結合にアクセス可能であるエピトープ、及び／又は（ｃ）多重特異性分子の結合時に、ＣＤ３γに対してＣＤ３εの空間位置を安定化させないエピトープを意味する。

【０３４８】

いくつかの実施形態では、ａ）標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、ｂ）例えば、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、ＣＤ３ε、ＣＤ３ζ、ＣＤ２８、ＣＤ１６ａ、ＣＤ５６、ＣＤ６８、及びＧＤＳ２Ｄを含むエフェクタ細胞の表面上の抗原に特異的に結合する第２の抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。

【０３４９】

いくつかの実施形態では、ａ）標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、ｂ）Ｃ１ｑなどの補体系の構成要素に特異的に結合する第２の抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子が提供される。Ｃ１ｑは、血清補体系を活性化するＣ１酵素複合体のサブユニットである。

【０３５０】

いくつかの実施形態では、第２の抗体部分は、Ｆｃ受容体に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第２の抗体部分は、Ｆｃγ受容体（ＦｃγＲ）に特異的に結合する。ＦｃγＲは、ＮＫ細胞の表面上に存在するＦｃγＲＩＩＩ、又はマクロファージ、単球、好中球、及び／若しくは樹状細胞の表面上に存在するＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩＡ、ＦｃγＲＩＩＢＩ、ＦｃγＲＩＩＢ２、及びＦｃγＲＩＩＩＢのうちの１つであってよい。いくつかの実施形態では、第２の抗体部分は、Ｆｃ領域又はその機能的断片である。「機能的断片」は、この文脈で使用するとき、ＦｃγＲ担持エフェクタ細胞、特に、マクロファージ、単球、好中球、及び／又は樹状細胞に、細胞傷害性溶解又は食作用によって標的細胞を殺傷させるのに十分な特異性及び親和性を有する、ＦｃＲ、特にＦｃγＲに依然として結合することができる抗体Ｆｃ領域の断片を指す。機能的Ｆｃ断片は、元の完全長Ｆｃ部分の、活性化ＦｃγＲＩなどのＦｃＲへの結合を競合的に阻害することができる。いくつかの実施形態では、機能的Ｆｃ断片は、活性化ＦｃγＲに対するその親和性の少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％を保持している。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域又はその機能的断片は、増強されたＦｃ領域又はその機能的断片である。用語「増強されたＦｃ領域」は、本明細書で使用するとき、Ｆｃ受容体が媒介するエフェクタ機能、特に抗体依存性細胞媒介細胞傷害（ＡＤＣＣ）、補体

依存性細胞傷害（ＣＤＣ）、及び抗体媒介性食作用を増強するように改変されたＦｃ領域を指す。これは、例えば、活性化受容体（例えば、ＮＫ細胞上で発現したＦｃγＲＩＩＩＡ（ＣＤ１６Ａ））に対する親和性を増大させる及び／又は阻害受容体（例えば、ＦｃγＲＩＩＢ１／Ｂ２（ＣＤ３２Ｂ））に対する結合を減少させるようにＦｃ領域を変化させることによって、当該技術分野において既知のとおり達成することができる。更に他の実施形態では、第２の抗体部分は、ＦｃγＲ担持エフェクタ細胞、特に、マクロファージ、単球、好中球、及び／又は樹状細胞に、細胞傷害性溶解又は食作用によって標的細胞を殺傷させるのに十分な特異性及び親和性を有する、ＦｃＲ、特にＦｃγＲに特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片である。

【０３５１】

いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子は、ＧＰＣ３＋細胞（ＨＣＣ細胞など）を殺傷することができる、及び／又はＣＴＬを有効にリダイレクトして、標的細胞表面上でＧＰＣ３を発現している細胞を溶解することができる。いくつかの実施形態では、本発明の多重特異性抗ＧＰＣ３分子は、１０～５００ｎｇ／ｍＬの範囲のインビトロＥＣ$_{50}$を示し、約１：１～約５０：１（約１：１～約１５：１又は約２：１～約１０：１など）のＣＴＬの標的細胞に対する比で、ＣＴＬを通じて標的細胞の約５０％のリダイレクトされた溶解を誘導することができる。

【０３５２】

いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子は、標的細胞が溶解されるように、刺激された又は刺激されていないＣＴＬ及び標的細胞（ＧＰＣ３$^{+}$細胞、例えばＨＣＣ細胞など）を架橋することができる。これは、多重特異性抗ＧＰＣ３分子が所望の活性を発揮するために、標的特異的Ｔ細胞クローンの生成も樹状細胞による共通抗原提示も必要ないという利点を提供する。いくつかの実施形態では、本発明の多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子は、ＣＴＬをリダイレクトして、他の活性化シグナルの非存在下で標的細胞（例えば、ＧＰＣ３$^{+}$細胞、例えばＨＣＣ細胞など）を溶解させることができる。いくつかの実施形態では、多重特異性抗ＧＰＣ３分子の第２の抗体部分は、ＣＤ３に特異的に結合（例えば、ＣＤ３εに特異的に結合）し、ＣＴＬをリダイレクトして標的細胞を溶解するためにＣＤ２８及び／又はＩＬ－２を介したシグナル伝達は必要ない。

【０３５３】

２つの抗原（例えば、２つの異なる細胞上の抗原）に同時に結合する多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子の優先度を測定する方法は、当業者の通常の能力の範囲内である。例えば、第２の結合部分（例えば、第２の抗体部分）がＣＤ３に特異的に結合するとき、多重特異性抗ＧＰＣ３分子を、ＣＤ３$^{+}$／ＧＰＣ３$^{-}$細胞及びＣＤ３$^{-}$／ＧＰＣ３$^{+}$細胞の混合物と接触させてよい。次いで、多重特異性抗ＧＰＣ３分子陽性の単一細胞の数、及び多重特異性抗ＧＰＣ３分子によって架橋された細胞の数を、当該技術分野において既知の顕微鏡観察又は蛍光活性化細胞選別（ＦＡＣＳ）によって評価してよい。

【０３５４】

いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子は、ａ）標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、ｂ）Ｔ細胞上のＣＤ３εに特異的に結合する第２の抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）（本明細書では以後「抗ＣＤ３抗体部分」と称される）とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）は、ｉ）配列番号４７９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号４８０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号４８１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号４８２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号４８３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号４８４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）は、ｉ）配列番号４８５のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号４８６のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ３抗体部分（例えば、ｓｃＦ

ｖ）は、ｉ）配列番号４８５のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号４８６のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ３－ｓｃＦｖは、配列番号４８７のアミノ酸配列を含む。

リンカー

【０３５５】

いくつかの実施形態では、標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２の抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）とは、リンカー（ペプチドリンカーなど）によって接続される。本明細書に記載の多重特異性抗ＧＰＣ３分子で使用することができる全ての適用可能なリンカーについては、「抗ＧＰＣ３　Ｆｃ融合タンパク質」の章の下の「リンカー」小見出しを参照されたい。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＳＲＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥＭＡ（配列番号４７３）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、$(GGGGS)_n$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）であるか、又はこれを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＴＳＧＧＧＧＳ（配列番号４７４）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＧＥＧＴＳＴＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＡＤ（配列番号４９０）のアミノ酸配列を含む。

タンデムｓｃＦｖ

【０３５６】

多重特異性抗ＧＰＣ３分子は、いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む第１のｓｃＦｖ（本明細書では、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３を認識する「抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖ」と称される）と、第２の抗原を特異的に認識する第２のｓｃＦｖとを含むタンデムｓｃＦｖ（本明細書では、「タンデムｓｃＦｖ多重特異性抗ＧＰＣ３抗体」とも称される）である。いくつかの実施形態では、タンデムｓｃＦｖ多重特異性抗ＧＰＣ３抗体は、少なくとも１つ（少なくとも約２、３、４、５つ又はそれ以上のいずれかなど）の追加のｓｃＦｖを更に含む。

【０３５７】

いくつかの実施形態では、ａ）ＧＰＣ３を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）第２の抗原（例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３）を特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体であって、タンデムジｓｃＦｖ又はタンデムトリｓｃＦｖであるタンデムｓｃＦｖ多重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、タンデムｓｃＦｖ多重特異性抗ＧＰＣ３抗体は、タンデムジｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、タンデムｓｃＦｖ多重特異性抗ＧＰＣ３抗体は、二重特異性Ｔ細胞エンゲージャである。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖの細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖの可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、異なるＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、ＧＰＣ３ではない第２の抗原を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、細胞、例えば細胞傷害性細胞の表面上の第２の抗原を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、Ｔ細胞（例えば、ＣＴＬ、ヘルパーＴ細胞、又はＮＫＴ）、Ｂ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞

、好中球、単球、マクロファージ、又は樹状細胞などのリンパ球の表面上の抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、ＣＴＬ又はＮＫＴ細胞などのエフェクタＴ細胞に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、例えば、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、ＣＤ３ε、ＣＤ３ζ、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ１６ａ、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ５６、ＣＤ６８、ＣＤ１３７、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＨＶＥＭ、及びＧＤＳ２Ｄを含む、エフェクタ細胞の表面上の第２の抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第１及び第２のｓｃＦｖはいずれも、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、タンデムｓｃＦｖ多重特異性抗ＧＰＣ３抗体は、少なくとも１つ（少なくとも約２、３、４、５つ又はそれ以上のいずれかなど）の追加のｓｃＦｖを更に含む。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖ及び第２のｓｃＦｖは、リンカー（例えば、ペプチドリンカー）によって接続される。いくつかの実施形態では、リンカーは、（ＧＧＧＧＳ）$_n$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＴＳＧＧＧＧＳ（配列番号４７４）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、第２のｓｃＦｖのＮ末端側である。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、第２のｓｃＦｖのＣ末端側である。いくつかの実施形態では、タンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体は、タグ（例えば、精製目的のためのペプチドタグ）を更に含む。いくつかの実施形態では、タグは、タンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体のＮ末端側である。いくつかの実施形態では、タグは、タンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体のＣ末端側である。いくつかの実施形態では、タグは、ＨＨＨＨＨＨ（配列番号４７６）のアミノ酸配列を含む。

【０３５８】

いくつかの実施形態では、タンデムｓｃＦｖ多重特異性抗ＧＰＣ３抗体は、２つのｓｃＦｖを含むタンデムジｓｃＦｖ（本明細書では「タンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体」と称される）である。タンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体は、（Ｎ末端からＣ末端に向かって）以下に列挙される構成などの任意の構成で組み立てられたV_H及びV_Lを有していてよく、ここで、Ｘは、第２のｓｃＦｖによって特異的に結合される第２の抗原であり、Ｌ１、Ｌ２、及びＬ３は、任意選択のリンカー（ペプチドリンカーなど）である。全ての適用可能なリンカーについては、「抗ＧＰＣ３　Ｆｃ融合タンパク質」の章の下の「リンカー」小見出しを参照されたい。いくつかの実施形態では、リンカー（Ｌ１、Ｌ２、及びＬ３）は、ＳＲＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥＭＡ（配列番号４７３）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカー（Ｌ１、Ｌ２、及びＬ３）は、（ＧＧＧＧＳ）$_n$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）であるか、又はこれを含む。いくつかの実施形態では、リンカー（Ｌ１、Ｌ２、及びＬ３）は、ＴＳＧＧＧＧＳ（配列番号４７４）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカー（Ｌ１、Ｌ２、及びＬ３）は、ＧＥＧＴＳＴＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＡＤ（配列番号４９０）のアミノ酸配列を含む。

【０３５９】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗ＧＰＣ３抗体は、以下の構造のうちの１つを有するタンデムジｓｃＦｖである：

【０３６０】

V_L（ＧＰＣ３）－Ｌ１－V_H（ＧＰＣ３）－Ｌ２－V_L（Ｘ）－Ｌ３－V_H（Ｘ）；

【０３６１】

V_L（ＧＰＣ３）－Ｌ１－V_H（ＧＰＣ３）－Ｌ２－V_H（Ｘ）－Ｌ３－V_L（Ｘ）；

【０３６２】
V_H（ＧＰＣ３）－Ｌ１－V_L（ＧＰＣ３）－Ｌ２－V_L（Ｘ）－Ｌ３－V_H（Ｘ）；
【０３６３】
V_H（ＧＰＣ３）－Ｌ１－V_L（ＧＰＣ３）－Ｌ２－V_H（Ｘ）－Ｌ３－V_L（Ｘ）；
【０３６４】
V_L（Ｘ）－Ｌ１－V_H（Ｘ）－Ｌ２－V_L（ＧＰＣ３）－Ｌ３－V_H（ＧＰＣ３）；
【０３６５】
V_L（Ｘ）－Ｌ１－V_H（Ｘ）－Ｌ２－V_H（ＧＰＣ３）－Ｌ３－V_L（ＧＰＣ３）；
【０３６６】
V_H（Ｘ）－Ｌ１－V_L（Ｘ）－Ｌ２－V_L（ＧＰＣ３）－Ｌ３－V_H（ＧＰＣ３）；
【０３６７】
V_H（Ｘ）－Ｌ１－V_L（Ｘ）－Ｌ２－V_H（ＧＰＣ３）－Ｌ３－V_L（ＧＰＣ３）；
【０３６８】
V_L（ＧＰＣ３）－Ｌ１－V_H（Ｘ）－Ｌ２－V_L（Ｘ）－Ｌ３－V_H（ＧＰＣ３）；
【０３６９】
V_L（ＧＰＣ３）－Ｌ１－V_L（Ｘ）－Ｌ２－V_H（Ｘ）－Ｌ３－V_H（ＧＰＣ３）；
【０３７０】
V_H（ＧＰＣ３）－Ｌ１－V_H（Ｘ）－Ｌ２－V_L（Ｘ）－Ｌ３－V_L（ＧＰＣ３）；
【０３７１】
V_H（ＧＰＣ３）－Ｌ１－V_L（Ｘ）－Ｌ２－V_H（Ｘ）－Ｌ３－V_L（ＧＰＣ３）；
【０３７２】
V_L（Ｘ）－Ｌ１－V_H（ＧＰＣ３）－Ｌ２－V_L（ＧＰＣ３）－Ｌ３－V_H（Ｘ）；
【０３７３】
V_L（Ｘ）－Ｌ１－V_L（ＧＰＣ３）－Ｌ２－V_H（ＧＰＣ３）－Ｌ３－V_H（Ｘ）；
【０３７４】
V_H（Ｘ）－Ｌ１－V_H（ＧＰＣ３）－Ｌ２－V_L（ＧＰＣ３）－Ｌ３－V_L（Ｘ）；又は
【０３７５】
V_H（Ｘ）－Ｌ１－V_L（ＧＰＣ３）－Ｌ２－V_H（ＧＰＣ３）－Ｌ３－V_L（Ｘ）。
【０３７６】
いくつかの実施形態では、ａ）細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する第１のｓｃＦｖ（例えば、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖの細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖが、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）第２の抗原（エフェクタ細胞上の第２の抗原、例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３など）を特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６２のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６３のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸１～３５８（配列番号４６８）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６４のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５

６０（配列番号４６５）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５８０（配列番号４６６）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸Ｒ^{３５８}／Ｓ^{３５９}におけるフューリン切断部位にまたがるエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、完全長成熟ヒトＧＰＣ３（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０又は２５～５８０）に特異的に結合することができるが、ヒトＧＰＣ３のＮ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８）又はヒトＧＰＣ３のＣ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０又は３５９～５８０）には結合しない。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、ａ）ｎＧＰＣ３への結合について本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合する第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖ（例えば、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖの細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖが、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）第２の抗原（エフェクタ細胞上の第２の抗原、例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３など）を特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖ（例えば、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖの細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖが、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）第２の抗原（エフェクタ細胞上の第２の抗原、例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３など）を特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖ及び第２のｓｃＦｖは、リンカー（例えば、ペプチドリンカー）によって接続される。いくつかの実施形態では、リンカーは、（ＧＧＧＧＳ）$_{n}$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＴＳＧＧＧＧＳ（配列番号４７４）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、第２のｓｃＦｖのＮ末端側である。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第１及び第２のｓｃＦｖはいずれも、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｎＧＰＣ３との間の結合のＫ$_{ｄ}$は、約１０$^{－７}$Ｍ～約１０$^{－１３}$Ｍ（約１０$^{－７}$Ｍ～約１０$^{－１３}$Ｍ、約１０$^{－９}$Ｍ～約１０$^{－１３}$Ｍ、又は約１０$^{－１０}$Ｍ～約１０$^{－１２}$Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｓＧＰＣ３との間の結合のＫ$_{ｄ}$は、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｎＧＰＣ３との間の結合のＫ$_{ｄ}$の少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、１０^{２}、１０^{３}、１０^{４}、１０^{５}、１０^{６}、又は１０^{７}倍など）であってよい。いくつかの

実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｓＧＰＣ３との間の結合のＫ$_{d}$は、約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-6}$Ｍ（約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-6}$Ｍ、約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-5}$Ｍ、又は約１０$^{-2}$Ｍ～約１０$^{-4}$Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、Ｔ細胞（例えば、ＣＴＬ、ヘルパーＴ細胞、又はＮＫＴ）、Ｂ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、好中球、単球、マクロファージ、又は樹状細胞などのリンパ球の表面上の抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、ＣＴＬ又はＮＫＴ細胞などのエフェクタＴ細胞に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、例えば、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、ＣＤ３ε、ＣＤ３ζ、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ１６ａ、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ５６、ＣＤ６８、ＣＤ１３７、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＨＶＥＭ、及びＧＤＳ２Ｄを含む、エフェクタ細胞の表面上の第２の抗原に特異的に結合する。

【０３７７】

いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{H}$と、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{L}$とを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）第２の抗原（エフェクタ細胞上の第２の抗原、例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３など）を特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{H}$と、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むＶ$_{L}$とを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）第２の抗原（エフェクタ細胞上の第２の抗原、例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３など）を特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{H}$及びｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{L}$を含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）第２の抗原（エフェクタ細胞上の第２の抗原、例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３など）を特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{H}$のＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{L}$のＬＣ－ＣＤＲを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）第２の抗原（エフェクタ細胞上の第２の抗原、例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３など）を特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｎＧＰＣ３への結合について本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合する第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖと、ｂ）第２の抗原（エフェクタ細胞上の第２の抗原、例えば、Ｔ細胞上

のＣＤ３など）を特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖと、ｂ）第２の抗原（エフェクタ細胞上の第２の抗原、例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３など）を特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｎＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖ及び第２のｓｃＦｖは、リンカー（例えば、ペプチドリンカー）によって接続される。いくつかの実施形態では、リンカーは、（ＧＧＧＧＳ）$_n$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＴＳＧＧＧＧＳ（配列番号４７４）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、第２のｓｃＦｖのＮ末端側である。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第１及び第２のｓｃＦｖはいずれも、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、Ｔ細胞（例えば、ＣＴＬ、ヘルパーＴ細胞、又はＮＫＴ）、Ｂ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、好中球、単球、マクロファージ、又は樹状細胞などのリンパ球の表面上の抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、ＣＴＬ又はＮＫＴ細胞などのエフェクタＴ細胞に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、例えば、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、ＣＤ３ε、ＣＤ３ζ、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ１６ａ、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ５６、ＣＤ６８、ＣＤ１３７、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＨＶＥＭ、及びＧＤＳ２Ｄを含む、エフェクタ細胞の表面上の第２の抗原に特異的に結合する。

【０３７８】

いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）第２の抗原（エフェクタ細胞上の第２の抗原、例えば、

Ｔ細胞上のＣＤ３など）を特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）第２の抗原（エフェクタ細胞上の第２の抗原、例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３など）を特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、ＧＰＣ３を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）第２の抗原（エフェクタ細胞上の第２の抗原、例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３など）を特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、ＧＰＣ３を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）第２の抗原（エフェクタ細胞上の第２の抗原、例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３など）を特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ＧＰＣ３への結合について本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合する第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖと、ｂ）第２の抗原（エフェクタ細胞上の第２の抗原、例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３など）を特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖと、ｂ）第２の抗原（エフェクタ細胞上の第２の抗原、例えば、Ｔ細胞上のＣＤ３など）を特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムｓｃＦｖ多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、第１の抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖと標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖと非標的との間の結合のK_dは、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖと標的ＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖと非標的との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}

Ｍ（約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-6}$Ｍ、約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-5}$Ｍ、又は約１０$^{-2}$Ｍ～約１０$^{-4}$Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖ及び第２のｓｃＦｖは、リンカー（例えば、ペプチドリンカー）によって接続される。いくつかの実施形態では、リンカーは、（ＧＧＧＧＳ）$_n$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＴＳＧＧＧＧＳ（配列番号４７４）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、第２のｓｃＦｖのＮ末端側である。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第１及び第２のｓｃＦｖはいずれも、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、Ｔ細胞（例えば、ＣＴＬ、ヘルパーＴ細胞、又はＮＫＴ）、Ｂ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、好中球、単球、マクロファージ、又は樹状細胞などのリンパ球の表面上の抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、ＣＴＬ又はＮＫＴ細胞などのエフェクタＴ細胞に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、例えば、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、ＣＤ３ε、ＣＤ３ζ、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ１６ａ、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ５６、ＣＤ６８、ＣＤ１３７、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＨＶＥＭ、及びＧＤＳ２Ｄを含む、エフェクタ細胞の表面上の第２の抗原に特異的に結合する。

【０３７９】

いくつかの実施形態では、ａ）ＧＰＣ３を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、タンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体は、二重特異性Ｔ細胞エンゲージャである。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖの細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖの可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第１及び第２のｓｃＦｖはいずれも、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖ及び第２のｓｃＦｖは、リンカー（例えば、ペプチドリンカー）によって接続される。いくつかの実施形態では、リンカーは、（ＧＧＧＧＳ）$_n$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＴＳＧＧＧＧＳ（配列番号４７４）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、第２の抗ＣＤ３－ｓｃＦｖのＮ末端側である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、ｉ）配列番号４７９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号４８０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号４８１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号４８２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ

１、配列番号４８３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号４８４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、ｉ）配列番号４８５のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号４８６のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、ｉ）配列番号４８５のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号４８６のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ３－ｓｃＦｖは、配列番号４８７のアミノ酸配列を含む。

【０３８０】

いくつかの実施形態では、ａ）細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する第１のｓｃＦｖ（例えば、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖの細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖが、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６２のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６３のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸１～３５８（配列番号４６８）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６４のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０（配列番号４６５）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５８０（配列番号４６６）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４６０のアミノ酸R^{358}／S^{359}におけるフューリン切断部位にまたがるエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、完全長成熟ヒトＧＰＣ３（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０又は２５～５８０）に特異的に結合することができるが、ヒトＧＰＣ３のＮ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８）又はヒトＧＰＣ３のＣ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０又は３５９～５８０）には結合しない。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、ａ）ｎＧＰＣ３への結合について本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合する第１の抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖ（例えば、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖの細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖが、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異

的に結合する第１の抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖ（例えば、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖの細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は第１の抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖが、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖ及び第２のｓｃＦｖは、リンカー（例えば、ペプチドリンカー）によって接続される。いくつかの実施形態では、リンカーは、$(ＧＧＧＧＳ)_{n}$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＴＳＧＧＧＧＳ（配列番号４７４）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、第２のｓｃＦｖのＮ末端側である。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第１及び第２のｓｃＦｖはいずれも、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｎＧＰＣ３との間の結合の$Ｋ_{d}$は、約$１０^{－７}Ｍ$～約$１０^{－１３}Ｍ$（約$１０^{－７}Ｍ$～約$１０^{－１３}Ｍ$、約$１０^{－９}Ｍ$～約$１０^{－１３}Ｍ$、又は約$１０^{－１０}Ｍ$～約$１０^{－１２}Ｍ$など）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｓＧＰＣ３との間の結合の$Ｋ_{d}$は、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｎＧＰＣ３との間の結合の$Ｋ_{d}$の少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、$１０^{２}$、$１０^{３}$、$１０^{４}$、$１０^{５}$、$１０^{６}$、又は$１０^{７}$倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｓＧＰＣ３との間の結合の$Ｋ_{d}$は、約$１０^{－１}Ｍ$～約$１０^{－６}Ｍ$（約$１０^{－１}Ｍ$～約$１０^{－６}Ｍ$、約$１０^{－１}Ｍ$～約$１０^{－５}Ｍ$、又は約$１０^{－２}Ｍ$～約$１０^{－４}Ｍ$など）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、ｉ）配列番号４７９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号４８０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号４８１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含む$Ｖ_{Ｈ}$と、ｉｉ）配列番号４８２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号４８３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号４８４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含む$Ｖ_{Ｌ}$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、ｉ）配列番号４８５のアミノ酸配列を含む$Ｖ_{Ｈ}$と、ｉｉ）配列番号４８６のアミノ酸配列を含む$Ｖ_{Ｌ}$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、ｉ）配列番号４８５のアミノ酸配列を含む$Ｖ_{Ｈ}$と、ｉｉ）配列番号４８６のアミノ酸配列を含む$Ｖ_{Ｌ}$とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ３－ｓｃＦｖは、配列番号４８７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、タンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体は、タグ（例えば、精製目的のためのペプチドタグ）を更に含む。いくつかの実施形態では、タグは、タンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体のＮ末端側である。いくつかの実施形態では、タグは、タンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体のＣ末端側である。いくつかの実施形態では、タグは、ＨＨＨＨＨＨ（配列番号４７６）のアミノ酸配列を含む。

【０３８１】

いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミ

ノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｎＧＰＣ３への結合について本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合する第１の抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖと、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する第１の抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖと、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｎＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３－ｓｃＦｖとｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖ及び第２のｓｃＦｖは、リンカー（例えば、ペプチドリンカー）によって接続される。いくつかの実施形態では、リンカーは、（ＧＧＧＧＳ）$_n$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＴＳＧＧＧＧＳ（配列番号４７４）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、第２のｓｃＦｖのＮ末端側である。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト

化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第１及び第２のｓｃＦｖはいずれも、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４０９～４３９のいずれか１つのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、ｉ）配列番号４７９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号４８０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号４８１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号４８２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号４８３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号４８４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、ｉ）配列番号４８５のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号４８６のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、ｉ）配列番号４８５のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号４８６のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ３－ｓｃＦｖは、配列番号４８７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ａ）細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体であって、配列番号４８８及び５１１～５１５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、タンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体は、タグ（例えば、精製目的のためのペプチドタグ）を更に含む。いくつかの実施形態では、タグは、タンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体のＮ末端側である。いくつかの実施形態では、タグは、タンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体のＣ末端側である。いくつかの実施形態では、タグは、ＨＨＨＨＨＨ（配列番号４７６）のアミノ酸配列を含む。

【０３８２】

いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hであって、ＨＣ－ＣＤＲ１又はＨＣ－ＣＤＲ２にアミノ酸置換が存在するV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する第１

のｓｃＦｖと、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）例えば、標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）への結合について本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合する第１の抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖと、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する第１の抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖと、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、第１の抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖと標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖと非標的との間の結合のK_dは、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖと標的ＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖ及び第２の抗ＣＤ３－ｓｃＦｖは、リンカー（例えば、ペプチドリンカー）によって接続される。いくつかの実施形態では、リンカーは、$(GGGGS)_n$配列（配列番号４７１）（式中、ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上に等しい）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＴＳＧＧＧＧＳ（配列番号４７４）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、第２のｓｃＦｖのＮ末端側である。いくつかの実施形態では、第１の抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、第２のｓｃＦｖは、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつか

の実施形態では、第１及び第２のｓｃＦｖはいずれも、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖは、配列番号４４０～４５９のいずれか１つのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、ｉ）配列番号４７９のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号４８０のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号４８１のアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号４８２のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号４８３のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号４８４のアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、ｉ）配列番号４８５のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号４８６のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３－ｓｃＦｖは、ｉ）配列番号４８５のアミノ酸配列を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号４８６のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ３－ｓｃＦｖは、配列番号４８７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ａ）ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する第１のｓｃＦｖと、ｂ）Ｔ細胞の細胞表面上のＣＤ３εを特異的に認識する第２のｓｃＦｖと、を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体であって、配列番号４８９によって例示されるアミノ酸配列を含むタンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体が提供される。いくつかの実施形態では、タンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体は、タグ（例えば、精製目的のためのペプチドタグ）を更に含む。いくつかの実施形態では、タグは、タンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体のＮ末端側である。いくつかの実施形態では、タグは、タンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体のＣ末端側である。いくつかの実施形態では、タグは、ＨＨＨＨＨＨ（配列番号４７６）のアミノ酸配列を含む。

誘導性発現

【０３８３】

いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、誘導性である。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞）は、本明細書に記載の任意の誘導性プロモータを含む誘導性プロモータに動作可能に連結された多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸配列を含む（例えば、「核酸」の章を参照されたい）。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞）における多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、エフェクタ細胞（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）上のシグナル伝達受容体を介したシグナル伝達の際に誘導可能である。いくつかのこのような実施形態では、ＣＡＲ－Ｔ細胞は、ＣＡＲを介したシグナル伝達に応答するプロモータ又は調節エレメントに動作可能に連結された多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸配列を含む。いくつかのこのような実施形態では、ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞は、ｃａＴＣＲを介したシグナル伝達に応答するプロモータ又は調節エレメントに動作可能に連結された多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸配列は、活性化Ｔ細胞（ＮＦＡＴ）由来プロモータの核因子に動作可能に連結されている。いくつかの実施形態では、ＮＦＡＴ由来プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータである（例えば、Ｄｕｒａｎｄ，Ｄ．ｅｔ．ａｌ．，Ｍｏｌｅｃ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．８，１７１５－１７２４（１９８８）；Ｃｌｉｐｓｔｏｎｅ，ＮＡ，Ｃｒａｂｔｒｅｅ，ＧＲ．Ｎａｔｕｒｅ．１９９２　３５７（６３８０）：６９５－７；Ｃｈｍｉｅｌｅｗｓｋｉ，

Ｍ．，ｅｔ ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ ｒｅｓｅａｒｃｈ７１．１７（２０１１）：５６９７－５７０６；及びＺｈａｎｇ，Ｌ．，ｅｔ ａｌ．Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｔｈｅｒａｐｙ１９．４（２０１１）：７５１－７５９を参照されたい）。ＮＦＡＴファミリーの転写因子は、Ｔ細胞活性化の重要な調節因子である。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸配列は、ＩＬ－２プロモータに動作可能に連結されている。

【０３８４】

いくつかの実施形態では、その表面上で二量体ｃａＴＣＲを発現しており、本明細書に記載の多重特異性抗ＧＰＣ３分子のいずれか１つによる多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性抗体）を発現しているか又は発現可能である、遺伝子操作された免疫細胞（Ｔ細胞など）であって、ａ）ｃａＴＣＲの第１のｃａＴＣＲポリペプチド鎖をコードしている第１のｃａＴＣＲ核酸配列と、ｂ）ｃａＴＣＲの第２のｃａＴＣＲポリペプチド鎖をコードしている第２のｃａＴＣＲ核酸配列と、ｃ）多重特異性抗ＧＰＣ３分子をコードしている核酸配列とを含み、当該ｃａＴＣＲが免疫細胞の表面に局在し、当該多重特異性抗ＧＰＣ３分子が、免疫細胞から分泌され得る、遺伝子操作された免疫細胞が提供される。いくつかの実施形態では、第１のｃａＴＣＲ核酸配列は、第１のベクター（ウイルスベクター、例えばレンチウイルスベクターなど）に含有され、第２のｃａＴＣＲ核酸配列は、第２のベクター（ウイルスベクター、例えばレンチウイルスベクターなど）に含有され、多重特異性抗ＧＰＣ３分子をコードしている核酸配列は、第３のベクター（ウイルスベクター、例えばレンチウイルスベクターなど）に含有される。いくつかの実施形態では、第１及び第２のｃａＴＣＲ核酸配列、並びに多重特異性抗ＧＰＣ３分子をコードしている核酸配列の一部又は全部は、同じベクター（ウイルスベクター、例えばレンチウイルスベクターなど）に含有される。いくつかの実施形態では、第１及び第２のｃａＴＣＲ核酸配列、並びに多重特異性抗ＧＰＣ３分子をコードしている核酸配列のそれぞれは、個別に、プロモータに動作可能に連結される。いくつかの実施形態では、核酸配列の一部又は全ては、単一のプロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、プロモータの一部又は全ては、同じ配列を有する。いくつかの実施形態では、プロモータの一部又は全ては、異なる配列を有する。いくつかの実施形態では、プロモータの一部又は全ては、誘導性である。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲをコードしている核酸配列は、ＥＦ１－アルファプロモータ（例えば、配列番号５２７の核酸配列を含むＥＦ１－アルファプロモータ）などの１つ以上の構成的プロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、多重特異性抗ＧＰＣ３分子をコードしている核酸配列は、誘導性プロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、免疫細胞の活性化の際に誘導可能である。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来プロモータ、例えば、配列番号５２４又は５２６の核酸配列を含むＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、ベクターの一部又は全ては、ウイルスベクター（レンチウイルスベクターなど）である。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、ｃａＴＣＲのＴＣＲ－ＴＭが由来するＴＣＲサブユニットを発現しない。例えば、いくつかの実施形態では、免疫細胞は、αβＴ細胞であり、導入されたｃａＴＣＲのＴＣＲ－ＴＭは、ＴＣＲδ及びγ鎖に由来する配列を含むか、又は免疫細胞は、γδＴ細胞であり、導入されたｃａＴＣＲのＴＣＲ－ＴＭは、ＴＣＲα及びβ鎖に由来する配列を含む。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、その内因性ＴＣＲサブユニットの一方又は両方の発現をブロック又は減少させるように改変される。例えば、いくつかの実施形態では、免疫細胞は、ＴＣＲα及び／若しくはβ鎖の発現をブロック若しくは減少させるように改変されたαβＴ細胞であるか、又は免疫細胞は、ＴＣＲγ及び／若しくはδ鎖の発現をブロック若しくは減少させるように改変されたγδＴ細胞である。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、細胞傷害性Ｔ細胞、ヘルパーＴ細胞、ナチュラルキラーＴ細胞、及びサプレッサーＴ細胞からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ベクターの一部又は全ては、免疫細胞の宿主ゲノムに組み込まれたウイルスベクター（レンチウイルスベクタ

ーなど）である。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、ＡＦＰ／ＭＨＣクラスＩ複合体（例えば、ＡＦＰ１５８／ＨＬＡ－Ａ＊０２：０１）を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、配列番号５２２のアミノ酸配列を含む第１のポリペプチドと、配列番号５２３のアミノ酸配列を含む第２のポリペプチドとを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性抗ＧＰＣ３分子は、配列番号５１１のアミノ酸配列を含む。

キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）及びＣＡＲエフェクタ細胞

【０３８５】

抗ＧＰＣ３コンストラクトは、いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分（本明細書では「抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ」とも称される）を含むＣＡＲである。本明細書に記載の抗ＧＰＣ３抗体部分のいずれか１つを、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲにおいて用いることができる。また、抗ＧＰＣ３抗体部分を含むＣＡＲを含むＣＡＲエフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞）（本明細書では「抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞」、例えば、「抗ＧＰＣ３　ＣＡＲＴ細胞」とも称される）も提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む。

【０３８６】

抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、ａ）ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。膜貫通ドメインが、細胞外ドメインと細胞内ドメインとの間に存在していてもよい。

【０３８７】

抗ＧＰＣ３　ＣＡＲの細胞外ドメインと膜貫通ドメインとの間、又は抗ＧＰＣ３　ＣＡＲの細胞内ドメインと膜貫通ドメインとの間には、スペーサドメインが存在していてもよい。スペーサドメインは、ポリペプチド鎖の膜貫通ドメインを細胞外ドメイン又は細胞内ドメインに連結するように機能する任意のオリゴ又はポリペプチドであり得る。スペーサドメインは、例えば、約１０～約１００又は約２５～約５０個のアミノ酸を含む、最大約３００個のアミノ酸を含み得る。

【０３８８】

膜貫通ドメインは、天然又は合成起源のいずれに由来していてもよい。起源が天然である場合、ドメインは、任意の膜結合又は膜貫通タンパク質に由来していてよい。本発明における特に有用な膜貫通領域は、Ｔ細胞受容体のα、β、δ、又はγ鎖、ＣＤ２８、ＣＤ３ε、ＣＤ３ζ、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、又はＣＤ１５４に由来していてよい（すなわち、これらの少なくとも膜貫通領域を含む）。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは合成であってもよく、この場合、膜貫通ドメインは、主にロイシン及びバリンなどの疎水性残基を含み得る。いくつかの実施形態では、フェニルアラニン、トリプトファン、及びバリンのトリプレットは、合成膜貫通ドメインの各末端に見出され得る。いくつかの実施形態では、例えば、約２～約１０（約２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０のいずれかなど）アミノ酸長の長さを有する短いオリゴ又はポリペプチドリンカーが、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲの膜貫通ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインとの間に連結を形成し得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、グリシン－セリンダブレットである。

【０３８９】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲの細胞内ドメインにおける配列の１つに天然で会合している膜貫通ドメインが使用される（例えば、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲの細胞内ドメインがＣＤ２８の共刺激配列を含む場合、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲの膜貫通ドメインはＣ

Ｄ２８の膜貫通ドメインに由来する）。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは、このようなドメインの同じ又は異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインへの結合を回避して、受容体複合体の他のメンバーとの相互作用を最小限に抑えるように、選択又はアミノ酸置換によって改変することができる。

【０３９０】

抗ＧＰＣ３　ＣＡＲの細胞内シグナル伝達ドメインは、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが配置された免疫細胞の正常エフェクタ機能のうちの少なくとも１つの活性化に関与している。Ｔ細胞のエフェクタ機能は、例えば、細胞溶解活性又はサイトカインの分泌を含むヘルパー活性であってよい。したがって、用語「細胞内シグナル伝達ドメイン」は、エフェクタ機能シグナルを伝達し、細胞に特殊機能を実行させるタンパク質の部分を指す。通常、細胞内シグナル伝達ドメイン全体を使用することができるが、多くの場合、鎖全体を使用する必要はない。細胞内シグナル伝達ドメインの切頭部分が使用される程度まで、それがエフェクタ機能シグナルを伝達する限り、インタクトな鎖の代わりにこのような切頭部分を使用してもよい。したがって、用語「細胞内シグナル伝達配列」は、エフェクタ機能シグナルを伝達するのに十分な細胞内シグナル伝達ドメインの任意の切頭部分を含むことを意味する。

【０３９１】

本発明の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲで使用するための細胞内シグナル伝達ドメインの例としては、抗原受容体の会合後にシグナル伝達を開始するために協調するＴＣＲ及び共受容体の細胞質配列、並びにこれらの配列の任意の誘導体又は変異体、並びに同じ機能能力を有する任意の合成配列が挙げられる。

【０３９２】

ＴＣＲのみを介して生成されるシグナルは、Ｔ細胞の完全な活性化には不十分であり、二次又は共刺激シグナルも必要とされることが知られている。したがって、Ｔ細胞の活性化は、２つの別個のクラスの細胞内シグナル伝達配列によって媒介されるということができる：ＴＣＲを介した抗原依存性一次活性化を開始するもの（一次シグナル伝達配列）、及び二次又は共刺激シグナルを提供するように抗原非依存的に作用するもの（共刺激シグナル伝達配列）。

【０３９３】

一次シグナル伝達配列は、刺激方式又は阻害方式のいずれかで、ＴＣＲ複合体の一次活性化を調節する。刺激方式で作用する一次シグナル伝達配列は、免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフ又はＩＴＡＭとして知られているシグナル伝達モチーフを含んでいてよい。抗ＧＰＣ３　ＣＡＲコンストラクトは、いくつかの実施形態では、１つ以上のＩＴＡＭを含む。

【０３９４】

本発明で特に有用なＩＴＡＭ含有一次シグナル伝達配列の例としては、ＴＣＲζ、ＦｃＲγ、ＦｃＲβ、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、ＣＤ３ε、ＣＤ５、ＣＤ２２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、及びＣＤ６６ｄに由来するものが挙げられる。

【０３９５】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、ＣＤ３ζ由来の一次シグナル伝達配列を含む。例えば、ＣＡＲの細胞内シグナル伝達ドメインは、単独で又は本発明の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲの状況において有用な任意の他の所望の細胞内シグナル伝達配列と組み合わせて、ＣＤ３ζ細胞内シグナル伝達配列を含み得る。例えば、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲの細胞内ドメインは、ＣＤ３ζ細胞内シグナル伝達配列及び共刺激シグナル伝達配列を含み得る。共刺激シグナル伝達配列は、例えば、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＰＤ－１、ＩＣＯＳ、リンパ球機能関連抗原－１（ＬＦＡ－１）、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤ８３と特異的に結合するリガンドなどを含む共刺激分子の細胞内ドメインの一部であってよい。

【０３９６】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲの細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列と、ＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列とを含む。いくつ

かの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲの細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列と、４－１ＢＢの細胞内シグナル伝達配列とを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲの細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列と、ＣＤ２８及び４－１ＢＢの細胞内シグナル伝達配列とを含む。

【０３９７】

したがって、例えばいくつかの実施形態では、ａ）細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６２のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６３のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸１～３５８（配列番号４６８）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６４のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０（配列番号４６５）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５８０（配列番号４６６）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸Ｒ^{358}／Ｓ^{359}におけるフューリン切断部位にまたがるエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、完全長成熟ヒトＧＰＣ３（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０又は２５～５８０）に特異的に結合することができるが、ヒトＧＰＣ３のＮ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８）又はヒトＧＰＣ３のＣ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０又は３５９～５８０には結合しない。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する、抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する、抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施

形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、免疫細胞を活性化することができる。いくつかの実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、一次シグナル伝達配列及び共刺激シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施形態では、一次シグナル伝達配列は、ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施形態では、共刺激シグナル伝達配列は、ＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施形態では、細胞内ドメインは、ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、配列番号４９４のＮ末端に融合している、本明細書に記載の細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、ヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。

【０３９８】

いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内

シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、配列番号４９４のＮ末端に融合している、本明細書に記載の細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインを含む。例えば、いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、配列番号４９１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、免疫細胞を活性化することができる。いくつかの実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、一次シグナル伝達配列及び共刺激シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施形態では、一次シグナル伝達配列は、ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施形態では、共刺激シグナル伝達配列は、ＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施形態では、細胞内ドメインは、ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、ヒト化されている、又は半合成である。

【０３９９】

いくつかの実施形態では、ａ）ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸

配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、免疫細胞を活性化することができる。いくつかの実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、一次シグナル伝達配列及び共刺激シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施形態では、一次シグナル伝達配列は、ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施形態では、共刺激シグナル伝達配列は、ＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施形態では、細胞内ドメインは、ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、ヒト化されている、又は半合成である。

【０４００】

いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗Ｇ

ＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）への結合について競合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、免疫細胞を活性化することができる。いくつかの実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、一次シグナル伝達配列及び共刺激シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施形態では、一次シグナル伝達配列は、ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施形態では、共刺激シグナル伝達配列は、ＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施形態では、細胞内ドメインは、ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、ヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、配列番号４９４のＮ末端に融合している、本明細書に記載のＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のK_dは、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的ＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。

【０４０１】

いくつかの実施形態では、ａ）細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に

認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６２のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６３のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸１～３５８（配列番号４６８）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６４のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０（配列番号４６５）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５８０（配列番号４６６）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸Ｒ^{３５８}／Ｓ^{３５９}におけるフューリン切断部位にまたがるエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、完全長成熟ヒトＧＰＣ３（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０又は２５～５８０）に特異的に結合することができるが、ヒトＧＰＣ３のＮ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８）又はヒトＧＰＣ３のＣ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０又は３５９～５８０には結合しない。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する、抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する、抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、配列番号４９４のＮ末端に融合している、本明細書に記載の細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）

であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-6}$Ｍ（約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-6}$Ｍ、約１０$^{-1}$Ｍ～約１０$^{-5}$Ｍ、又は約１０$^{-2}$Ｍ～約１０$^{-4}$Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。

【０４０２】

いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピ

トープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、配列番号４９４のＮ末端に融合している、本明細書に記載の細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインを含む。例えば、いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、配列番号４９１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、ヒト化されている、又は半合成である。

【０４０３】

いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインであって、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインであって、ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）細胞内シグナ

ル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）への結合について競合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲが提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、ヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、配列番号４９４のＮ末端に融合している、本明細書に記載のＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のK_dは、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的ＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。

【０４０４】

また本明細書では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現するエフェクタ細胞（リンパ球、例えば、Ｔ細胞など）も提供される。

【０４０５】

また、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現するエフェクタ細胞の生成方法であって、抗ＧＰＣ３ＣＡＲをコードしている核酸を含むベクターをエフェクタ細胞内に導入することを含む方法も提供される。いくつかの実施形態では、ベクターをエフェクタ細胞に導入することは、エフェクタ細胞をベクターで形質導入することを含む。いくつかの実施形態では、ベク

ターをエフェクタ細胞に導入することは、エフェクタ細胞をベクターでトランスフェクトすることを含む。エフェクタ細胞へのベクターの形質導入又はトランスフェクションは、当該技術分野において既知の任意の方法を使用して行うことができる。

【０４０６】

いくつかの実施形態では、誘導性プロモータに動作可能に連結された本明細書に記載の多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸配列を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞（リンパ球、例えばＴ細胞など）が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞における多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを介したシグナル伝達の際に誘導可能である。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸配列は、ＮＦＡＴ由来プロモータに動作可能に連結されている。いくつかの実施形態では、ＮＦＡＴ由来プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータである。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸配列は、ＩＬ－２プロモータに動作可能に連結されている。

キメラ抗体－Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）コンストラクト（ｃａＴＣＲ）及びｃａＴＣＲエフェクタ細胞

【０４０７】

抗ＧＰＣ３コンストラクトは、いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分を含むキメラ抗体－Ｔ細胞受容体コンストラクト（ｃａＴＣＲ）（本明細書では「抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ」とも称される）である。例示的なｃａＴＣＲは、参照により本明細書に組み込まれる国際出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０１６／０５８３０５号に提供される。本明細書に記載の（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３を標的とする）抗ＧＰＣ３抗体部分のいずれかを、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲにおいて用いることができる。抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、ＧＰＣ３に特異的に結合することができ、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）を動員することができる。また、抗ＧＰＣ３抗体部分を含むｃａＴＣＲを含むｃａＴＣＲエフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞）（本明細書では「抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞」、例えば、「抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞」とも称される）も提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む。

【０４０８】

いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載のＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、天然に生じるＴＣＲドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、少なくとも１つの天然には生じないＴＣＲドメインを含む。抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、抗原特異性を提供する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ＣＤ３動員及びシグナル伝達を可能にするＴＣＲＭ

とを含む。抗原結合モジュールは、天然に生じるＴ細胞受容体抗原結合部分ではない。いくつかの実施形態では、抗原結合モジュールは、ＴＣＲＭ中のポリペプチド鎖のＮ末端に連結される。いくつかの実施形態では、抗原結合モジュールは、抗体部分である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。ＴＣＲＭは、αβ及び／又はγδＴＣＲなどの１つ以上のＴＣＲの膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）に由来する膜貫通モジュールを含み、場合により、ＴＣＲの接続ペプチド若しくはその断片、及び／又は１つ以上のＴＣＲ細胞内ドメイン若しくはその断片のうちの一方又は両方を更に含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、２本のポリペプチド鎖を含み、各ポリペプチド鎖は、Ｎ末端からＣ末端に向かって、接続ペプチド、膜貫通ドメイン、及び場合によりＴＣＲ細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、１つ以上の天然には生じないＴＣＲドメインを含む。例えば、いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、１つ又は２つの天然には生じないＴＣＲ膜貫通ドメインを含む。天然には生じないＴＣＲドメインは、１つ以上のアミノ酸の置換によって、及び／又は対応するドメインの一部を別のＴＣＲ由来の類似のドメインの一部で置き換えることによって改変された、天然に生じるＴＣＲの対応するドメインであってよい。抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、第１のポリペプチド鎖及び第２のポリペプチド鎖を含んでいてよく、当該第１及び第２のポリペプチド鎖は共に抗原結合モジュール及びＴＣＲＭを形成する。いくつかの実施形態では、第１及び第２のポリペプチド鎖は、別個のポリペプチド鎖であり、ｃａＴＣＲは、二量体などの多量体である。いくつかの実施形態では、第１及び第２のポリペプチド鎖は、ペプチド結合によって、又はジスルフィド結合などの別の化学結合によって共有結合的に連結される。いくつかの実施形態では、第１のポリペプチド鎖及び第２のポリペプチド鎖は、少なくとも１つのジスルフィド結合によって連結される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、１つ以上のＴ細胞共刺激シグナル伝達配列を更に含む。１つ以上の共刺激シグナル伝達配列は、個別に、例えば、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＩＣＯＳ、リンパ球機能関連抗原－１（ＬＦＡ－１）、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤ８３と特異的に結合するリガンドなどを含む共刺激分子の細胞内ドメインの全て又は一部であってよい。いくつかの実施形態では、１つ以上の共刺激シグナル伝達配列は、第１のＴＣＲ－ＴＭと第１のＴＣＲ細胞内ドメインとの間、及び／又は第２のＴＣＲ－ＴＭと第２のＴＣＲ細胞内ドメインとの間に存在する。いくつかの実施形態では、１つ以上の共刺激シグナル伝達配列は、第１のＴＣＲＤ及び／又は第２のＴＣＲＤのＣ末端側である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、Ｔ細胞共刺激シグナル伝達配列を欠いている。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、第１の安定化ドメイン及び第２の安定化ドメインを含む安定化モジュールを更に含み、当該第１及び第２の安定化ドメインは、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを安定化させる、互いに対する結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、安定化モジュールは、抗原結合モジュールとＴＣＲＭとの間に位置する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、任意の２つのｃａＴＣＲモジュール又はドメイン間にスペーサモジュールを更に含む。いくつかの実施形態では、スペーサモジュールは、２つのｃａＴＣＲモジュール又はドメインを接続する１つ以上のペプチドリンカーを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では

、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、ａ）V_H及びC_H1抗体ドメインを含む第１の抗原結合ドメインと、第１のＴＣＲサブユニットの第１の膜貫通ドメインを含む第１のＴ細胞受容体ドメイン（ＴＣＲＤ）とを含む第１のポリペプチド鎖と、ｂ）V_L及びC_L抗体ドメインを含む第２の抗原結合ドメインと、第２のＴＣＲサブユニットの第２の膜貫通ドメインを含む第２のＴＣＲＤとを含む第２のポリペプチド鎖とを含み、当該第１の抗原結合ドメインのV_H及びC_H1ドメイン、並びに当該第２の抗原結合ドメインのV_L及びC_Lドメインが、ＧＰＣ３に特異的に結合する抗原結合モジュールを形成し、当該第１のＴＣＲＤ及び当該第２のＴＣＲＤが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達モジュールを動員することができるＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）を形成する、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、抗原結合モジュールは、C_H1ドメイン内の残基とC_Lドメイン内の残基との間にジスルフィド結合を含む。いくつかの実施形態では、ａ）V_H抗体ドメインを含む第１の抗原結合ドメインと、第１のＴＣＲサブユニットの第１の膜貫通ドメインを含む第１のＴＣＲＤとを含む第１のポリペプチド鎖と、ｂ）V_L抗体ドメインを含む第２の抗原結合ドメインと、第２のＴＣＲサブユニットの第２の膜貫通ドメインを含む第２のＴＣＲＤとを含む第２のポリペプチド鎖とを含み、当該第１の抗原結合ドメインのV_Hドメイン及び当該第２の抗原結合ドメインのV_Lドメインが、ＧＰＣ３に特異的に結合する抗原結合モジュールを形成し、当該第１のＴＣＲＤ及び当該第２のＴＣＲＤが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達モジュールを動員することができるＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）を形成する、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ－ＴＭは、配列番号４９５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ－ＴＭは、配列番号４９６のアミノ酸配列を含む。

【０４０９】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のＴＣＲＭは、ａ）第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴ細胞受容体ドメイン（ＴＣＲＤ）と、ｂ）第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤと、を含み、当該ＴＣＲＭは、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子の動員を促進する。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ－ＴＭの両方が天然に生じる。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ－ＴＭのうちの少なくとも１つは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ－ＴＭの両方が、天然には生じない。いくつかの実施形態では、第１のＴＣＲ－ＴＭは、Ｔ細胞受容体（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来し、第２のＴＣＲ－ＴＭは、Ｔ細胞受容体の他の膜貫通ドメインに由来する。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、Ｔ細胞受容体の膜貫通ドメインを含むＴＣＲＭと比べて、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子の動員を増強することができる。ＴＣＲ会合シグナル伝達分子の動員は、ＴＣＲ－ＣＤ３複合体表面発現のＦＡＣＳ分析、又はＣＤ３サブユニットとｃａＴＣＲとの免疫共沈降などの、当該技術分野において既知の方法によって判定することができる。

【０４１０】

いくつかの実施形態では、抗原結合モジュールは、V_H抗体ドメイン（抗ＧＰＣ３抗体部分について本明細書に記載のV_H抗体ドメインのいずれかなど）を含む第１の抗原結合ドメインと、V_L抗体ドメイン（抗ＧＰＣ３抗体部分について本明細書に記載のV_L抗体ドメインのいずれかなど）を含む第２の抗原結合ドメインと、を含む。いくつかの実施形態では、V_H抗体ドメイン及びV_L抗体ドメインのＣＤＲは、同じ抗体部分に由来する。いくつかの実施形態では、V_H抗体ドメイン及びV_L抗体ドメインのＣＤＲのいくつかは、異なる抗体部分に由来する。いくつかの実施形態では、V_H抗体ドメイン及び／又はV_L抗体ドメインは、ヒトである、ヒト化されている、キメラである、半合成である、又は完全合成である。

【０４１１】
いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、場合により安定化モジュールを含む、本明細書に記載のＴＣＲＭに連結された本明細書に記載の抗原結合モジュールを含む。例えば、いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、ＴＣＲＤの一方又は両方のＮ末端に連結された抗原結合モジュールを含む。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、ＴＣＲＭと抗原結合モジュールとの間に安定化モジュールを含む。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、任意の２つのｃａＴＣＲモジュール又はドメイン間にスペーサモジュールを更に含む。いくつかの実施形態では、スペーサモジュールは、約５～約７０（約５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、又は７０のいずれかなど、これらの値間の任意の範囲を含む）アミノ酸長の１つ以上のペプチドリンカーを含む。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、１つ以上のアクセサリ細胞内ドメインを更に含む。いくつかの実施形態では、１つ以上のアクセサリ細胞内ドメインは、第１及び／又は第２のＴＣＲＤのカルボキシ末端側である。いくつかの実施形態では、１つ以上のアクセサリ細胞内ドメインは、第１のＴＣＲ－ＴＭと第１のＴＣＲ細胞内ドメインとの間、及び／又は第２のＴＣＲ－ＴＭと第２のＴＣＲ細胞内ドメインとの間に存在する。いくつかの実施形態では、１つ以上のアクセサリ細胞内ドメインは、個々に、ＴＣＲ共刺激ドメインを含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ共刺激性ドメインは、免疫共刺激分子（ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＩＣＯＳ、リンパ球機能関連抗原－１（ＬＦＡ－１）、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤ８３と特異的に結合するリガンドなど）の細胞内ドメインの全て又は一部を含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ共刺激性ドメインは、配列番号５１～５６のいずれか１つのアミノ酸配列又はその変異型の全て又は一部を含む。

【０４１２】
いくつかの実施形態では、ａ）細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）V_H及びC_H1抗体ドメインを含む第１の抗原結合ドメインと、第１のＴＣＲサブユニットの第１の膜貫通ドメインを含む第１のＴ細胞受容体ドメイン（ＴＣＲＤ）とを含む第１のポリペプチド鎖と、ｂ）V_L及びC_L抗体ドメインを含む第２の抗原結合ドメインと、第２のＴＣＲサブユニットの第２の膜貫通ドメインを含む第２のＴＣＲＤとを含む第２のポリペプチド鎖とを含み、当該第１の抗原結合ドメインのV_H及びC_H1ドメイン、並びに当該第２の抗原結合ドメインのV_L及びC_Lドメインが、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する（例えば、V_H及びV_Lの細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又はV_H及びV_Lが、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）抗原結合モジュールを形成し、当該第１のＴＣＲＤ及び当該第２のＴＣＲＤが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達モジュールを動員することができるＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）を形成する、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、抗原結合モジュールは、C_H1ドメイン内の残基とC_Lドメイン内の残基との間にジスルフィド結合を含む。いくつかの実施形態では、ａ）V_H抗体ドメインを含む第１の抗原結合ドメインと、第１のＴＣＲサブユニットの第１の膜貫通ドメインを含む第１のＴＣＲＤとを含む第１のポ

リペプチド鎖と、ｂ）V_L抗体ドメインを含む第２の抗原結合ドメインと、第２のＴＣＲサブユニットの第２の膜貫通ドメインを含む第２のＴＣＲＤとを含む第２のポリペプチド鎖とを含み、当該第１の抗原結合ドメインのV_Hドメイン及び当該第２の抗原結合ドメインのV_Lドメインが、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する（例えば、V_H及びV_Lの細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又はV_H及びV_Lが、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）抗原結合モジュールを形成し、当該第１のＴＣＲＤ及び当該第２のＴＣＲＤが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達モジュールを動員することができるＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）を形成する、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６２のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６３のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸１～３５８（配列番号４６８）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６４のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０（配列番号４６５）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５８０（配列番号４６６）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸R^{358}／S^{359}におけるフューリン切断部位にまたがるエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、完全長成熟ヒトＧＰＣ３（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０又は２５～５８０）に特異的に結合することができるが、ヒトＧＰＣ３のＮ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８）又はヒトＧＰＣ３のＣ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０又は３５９～５８０には結合しない。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する、抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗

体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヒトである、ヒト化されている、キメラである、又は合成である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、第１及び／又は第２のＴＣＲＤのＮ末端に連結されている。いくつかの実施形態では、第１の天然に生じるＴＣＲは、γ／δＴＣＲである。いくつかの実施形態では、第１の天然に生じるＴＣＲは、α／βＴＣＲである。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ－ＴＭのうちの少なくとも１つは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、第１及び第２のＴＣＲ－ＴＭは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、第１のＴＣＲ－ＴＭは、それが由来する膜貫通ドメインと比べて最大５個（１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含み、及び／又は第２のＴＣＲ－ＴＭは、それが由来する膜貫通ドメインと比べて最大５個（１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、αβ及び／又はγδＴＣＲなどの１つ以上のＴＣＲの膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）に由来する膜貫通モジュールを含み、場合により、ＴＣＲの接続ペプチド若しくはその断片、及び／又は１つ以上のＴＣＲ細胞内ドメイン若しくはその断片のうちの一方又は両方を更に含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、２本のポリペプチド鎖を含み、各ポリペプチド鎖は、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって、接続ペプチド、膜貫通ドメイン、及び場合によりＴＣＲ細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、第１のポリペプチド鎖及び第２のポリペプチド鎖を含んでいてよく、当該第１及び第２のポリペプチド鎖は共に抗原結合モジュール及びＴＣＲＭを形成する。いくつかの実施形態では、第１及び第２のポリペプチド鎖は、別個のポリペプチド鎖であり、ｃａＴＣＲは、二量体などの多量体である。いくつかの実施形態では、第１及び第２のポリペプチド鎖は、ペプチド結合によって、又はジスルフィド結合などの別の化学結合によって共有結合的に連結される。いくつかの実施形態では、第１のポリペプチド鎖及び第２のポリペプチド鎖は、少なくとも１つのジスルフィド結合によって連結される。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、１つ以上のＴ細

胞共刺激シグナル伝達配列を更に含む。１つ以上の共刺激シグナル伝達配列は、個別に、例えば、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＩＣＯＳ、リンパ球機能関連抗原－１（ＬＦＡ－１）、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤ８３と特異的に結合するリガンドなどを含む共刺激分子の細胞内ドメインの全て又は一部であってよい。いくつかの実施形態では、１つ以上の共刺激シグナル伝達配列は、第１のＴＣＲ－ＴＭと第１のＴＣＲ細胞内ドメインとの間、及び／又は第２のＴＣＲ－ＴＭと第２のＴＣＲ細胞内ドメインとの間に存在する。いくつかの実施形態では、１つ以上の共刺激シグナル伝達配列は、第１のＴＣＲＤ及び／又は第２のＴＣＲＤのカルボキシ末端側である。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、Ｔ細胞共刺激シグナル伝達配列を欠いている。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、第１の安定化ドメイン及び第２の安定化ドメインを含む安定化モジュールを更に含み、当該第１及び第２の安定化ドメインは、ｃａＴＣＲを安定化させる、互いに対する結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、安定化モジュールは、抗原結合モジュールとＴＣＲＭとの間に位置する。いくつかの実施形態では、安定化モジュールは、C_H1抗体ドメイン又はその変異型を含む第１の安定化ドメインと、C_L抗体ドメイン又はその変異型を含む第２の安定化ドメインと、を含む。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、任意の２つのｃａＴＣＲモジュール又はドメイン間にスペーサモジュールを更に含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及びζζからなる群から選択される少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子を動員することができる。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、天然に生じるＴ細胞受容体の膜貫通ドメインを含むＴＣＲＭと比べて、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子の動員を増強することができる。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、ｃａＴＣＲ－ＣＤ３複合体の形成を促進する。いくつかの実施形態では、任意の２つのｃａＴＣＲモジュール又はドメイン間にスペーサモジュールが存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、ヘテロ二量体などのヘテロ多量体である。例えば、いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、第１のＴＣＲＤを含む第１のポリペプチド鎖と、第２のＴＣＲＤを含む第２のポリペプチド鎖とを含むヘテロ二量体であり、抗体部分が、第１及び／又は第２のポリペプチド鎖に連結されている。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、１つ以上の天然には生じないＴＣＲドメインを含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ－ＴＭは、配列番号４９５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ－ＴＭは、配列番号４９６のアミノ酸配列を含む。

【０４１３】

いくつかの実施形態では、ａ）細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個

（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１

のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びC_H1抗体ドメインを含む第１の抗原結合ドメインと、第１のＴＣＲサブユニットの第１の膜貫通ドメインを含む第１のＴ細胞受容体ドメイン（ＴＣＲＤ）とを含む第１のポリペプチド鎖と、ｂ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_L及びC_L抗体ドメインを含む第２の抗原結合ドメインと、第２のＴＣＲサブユニットの第２の膜貫通ドメインを含む第２のＴＣＲＤとを含む第２のポリペプチド鎖とを含み、当該第１の抗原結合ドメインのV_H及びC_H1ドメイン、並びに当該第２の抗原結合ドメインのV_L及びC_Lドメインが、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗原結合モジュールを形成し、当該第１のＴＣＲＤ及び当該第２のＴＣＲＤが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達モジュールを動員することができるＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）を形成する、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、抗原結合モジュールは、C_H1ドメイン内の残基とC_Lドメイン内の残基との間にジスルフィド結合を含む。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H抗体ドメインを含む第１の抗原結合ドメインと、第１のＴＣＲサブユニットの第１の膜貫通ドメインを含む第１のＴＣＲＤとを含む第１のポリペプチド鎖と、ｂ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_L抗体ドメインを含む第２の抗原結合ドメインと、第２のＴＣＲサブユニットの第２の膜貫通ドメインを含む第２のＴＣＲＤとを含む第２のポリペプチド鎖とを含み、当該第１の抗原結合ドメインのV_Hドメイン及び当該第２の抗原結合ドメインのV_Lドメインが、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗原結合モジュールを形成し、当該第１のＴＣＲＤ及び当該第２のＴＣＲＤが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達モジュールを動員することができるＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）を形成する、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、配列番号４９２及び配列番号４９３のアミノ酸配列を含む２本のポリペプチド鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヒトである、ヒト化されている、キメラである、又は合成である。いくつかの実施形態では、抗ｎ

ＧＰＣ３抗体部分は、第１及び／又は第２のＴＣＲＤのＮ末端に連結されている。いくつかの実施形態では、第１の天然に生じるＴＣＲは、γ／δＴＣＲである。いくつかの実施形態では、第１の天然に生じるＴＣＲは、α／βＴＣＲである。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ－ＴＭの

うちの少なくとも１つは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、第１及び第２のＴＣＲ－ＴＭは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、第１のＴＣＲ－ＴＭは、それが由来する膜貫通ドメインと比べて最大５個（１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含み、及び／又は第２のＴＣＲ－ＴＭは、それが由来する膜貫通ドメインと比べて最大５個（１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、αβ及び／又はγδＴＣＲなどの１つ以上のＴＣＲの膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）に由来する膜貫通モジュールを含み、場合により、ＴＣＲの接続ペプチド若しくはその断片、及び／又は１つ以上のＴＣＲ細胞内ドメイン若しくはその断片のうちの一方又は両方を更に含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、２本のポリペプチド鎖を含み、各ポリペプチド鎖は、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって、接続ペプチド、膜貫通ドメイン、及び場合によりＴＣＲ細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、第１のポリペプチド鎖及び第２のポリペプチド鎖を含んでいてよく、当該第１及び第２のポリペプチド鎖は共に抗原結合モジュール及びＴＣＲＭを形成する。いくつかの実施形態では、第１及び第２のポリペプチド鎖は、別個のポリペプチド鎖であり、ｃａＴＣＲは、二量体などの多量体である。いくつかの実施形態では、第１及び第２のポリペプチド鎖は、ペプチド結合によって、又はジスルフィド結合などの別の化学結合によって共有結合的に連結される。いくつかの実施形態では、第１のポリペプチド鎖及び第２のポリペプチド鎖は、少なくとも１つのジスルフィド結合によって連結される。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、１つ以上のＴ細胞共刺激シグナル伝達配列を更に含む。１つ以上の共刺激シグナル伝達配列は、個別に、例えば、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＩＣＯＳ、リンパ球機能関連抗原－１（ＬＦＡ－１）、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤ８３と特異的に結合するリガンドなどを含む共刺激分子の細胞内ドメインの全て又は一部であってよい。いくつかの実施形態では、１つ以上の共刺激シグナル伝達配列は、第１のＴＣＲ－ＴＭと第１のＴＣＲ細胞内ドメインとの間、及び／又は第２のＴＣＲ－ＴＭと第２のＴＣＲ細胞内ドメインとの間に存在する。いくつかの実施形態では、１つ以上の共刺激シグナル伝達配列は、第１のＴＣＲＤ及び／又は第２のＴＣＲＤのカルボキシ末端側である。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、Ｔ細胞共刺激シグナル伝達配列を欠いている。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、第１の安定化ドメイン及び第２の安定化ドメインを含む安定化モジュールを更に含み、当該第１及び第２の安定化ドメインは、ｃａＴＣＲを安定化させる、互いに対する結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、安定化モジュールは、抗原結合モジュールとＴＣＲＭとの間に位置する。いくつかの実施形態では、安定化モジュールは、C_H1抗体ドメイン又はその変異型を含む第１の安定化ドメインと、C_L抗体ドメイン又はその変異型を含む第２の安定化ドメインと、を含む。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、任意の２つのｃａＴＣＲモジュール又はドメイン間にスペーサモジュールを更に含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及びζζからなる群から選択される少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子を動員することができる。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、天然に生じるＴ細胞受容体の膜貫通ドメインを含むＴＣＲＭと比べて、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子の動員を増強することができる。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、ｃａＴＣＲ－ＣＤ３複合体の形成を促進する。いくつかの実施形態では、任意の２つのｃａＴＣＲモジュール又はドメイン間にスペーサモジュールが存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、ヘテロ二量体などのヘテロ多量体である。例えば、いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、第１のＴＣＲＤを含む第１のポリペプチド鎖と、第２のＴＣＲ

Ｄを含む第２のポリペプチド鎖とを含むヘテロ二量体であり、抗体部分が、第１及び／又は第２のポリペプチド鎖に連結されている。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、１つ以上の天然には生じないＴＣＲドメインを含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ－ＴＭは、配列番号４９５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ－ＴＭは、配列番号４９６のアミノ酸配列を含む。

【０４１４】

いくつかの実施形態では、ａ）ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインに由来する第１及び第２のＴＣＲ－ＴＭを含むＴＣＲＭであって、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子を動員することができるＴＣＲＭと、を含む抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインに由来する第１及び第２のＴＣＲ－ＴＭを含むＴＣＲＭであって、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子の動員を促進することができるＴＣＲＭと、を含む抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュー

ル（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲβ関連シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）を特異的に認識する抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲβ関連シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）への結合について競合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びC_H1抗体ドメインを含む第１の抗原結合ドメインと、第１のＴＣＲサブユニットの第１の膜貫通ドメインを含む第１のＴ細胞受容体ドメイン（ＴＣＲＤ）とを含む第１のポリペプチド鎖と、ｂ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_L及びC_L抗体ドメインを含む第２の抗原結合ドメインと、第２のＴＣＲサブユニットの第２の膜貫通ドメインを含む第２のＴＣＲＤとを含む第２のポリペプチド鎖とを含み、当該第１の抗原結合ドメインのV_H及びC_H1ドメイン、並びに当該第２の抗原結合ドメインのV_L及びC_Lドメインが、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗原結合モジュールを形成し、当該第１のＴＣＲＤ及び当該第２のＴＣＲＤが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達モジュールを動員することができるＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）を形成する、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、抗原結合モジュールは、C_H1ドメイン内の残基とC_Lドメイン内の残基との間にジスルフィド結合を含む。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H抗体ドメインを含む第１の抗原結合ドメインと、第１のＴＣＲサブユニットの第１の膜貫通ドメインを含む第１のＴＣＲＤとを含む第１のポリペプチド鎖と、ｂ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_L抗体ドメインを含む第２の抗原結合ドメインと、第２のＴＣＲサブユニットの第２の膜

貫通ドメインを含む第２のＴＣＲＤとを含む第２のポリペプチド鎖とを含み、当該第１の抗原結合ドメインのV_Hドメイン及び当該第２の抗原結合ドメインのV_Lドメインが、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗原結合モジュールを形成し、当該第１のＴＣＲＤ及び当該第２のＴＣＲＤが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達モジュールを動員することができるＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）を形成する、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲが提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のK_dは、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的ＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}

Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヒトである、ヒト化されている、キメラである、又は合成である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、第１及び／又は第２のＴＣＲＤのＮ末端に連結されている。いくつかの実施形態では、第１の天然に生じるＴＣＲは、γ／δＴＣＲである。いくつかの実施形態では、第１の天然に生じるＴＣＲは、α／βＴＣＲである。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ－ＴＭのうちの少なくとも１つは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、第１及び第２のＴＣＲ－ＴＭは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、第１のＴＣＲ－ＴＭは、それが由来する膜貫通ドメインと比べて最大５個（１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含み、及び／又は第２のＴＣＲ－ＴＭは、それが由来する膜貫通ドメインと比べて最大５個（１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、αβ及び／又はγδＴＣＲなどの１つ以上のＴＣＲの膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）に由来する膜貫通モジュールを含み、場合により、ＴＣＲの接続ペプチド若しくはその断片、及び／又は１つ以上のＴＣＲ細胞内ドメイン若しくはその断片のうちの一方又は両方を更に含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、２本のポリペプチド鎖を含み、各ポリペプチド鎖は、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって、接続ペプチド、膜貫通ドメイン、及び場合によりＴＣＲ細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、第１のポリペプチド鎖及び第２のポリペプチド鎖を含んでいてよく、当該第１及び第２のポリ

ペプチド鎖は共に抗原結合モジュール及びＴＣＲＭを形成する。いくつかの実施形態では、第１及び第２のポリペプチド鎖は、別個のポリペプチド鎖であり、ｃａＴＣＲは、二量体などの多量体である。いくつかの実施形態では、第１及び第２のポリペプチド鎖は、ペプチド結合によって、又はジスルフィド結合などの別の化学結合によって共有結合的に連結される。いくつかの実施形態では、第１のポリペプチド鎖及び第２のポリペプチド鎖は、少なくとも１つのジスルフィド結合によって連結される。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、１つ以上のＴ細胞共刺激シグナル伝達配列を更に含む。１つ以上の共刺激シグナル伝達配列は、個別に、例えば、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＩＣＯＳ、リンパ球機能関連抗原－１（ＬＦＡ－１）、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤ８３と特異的に結合するリガンドなどを含む共刺激分子の細胞内ドメインの全て又は一部であってよい。いくつかの実施形態では、１つ以上の共刺激シグナル伝達配列は、第１のＴＣＲ－ＴＭと第１のＴＣＲ細胞内ドメインとの間、及び／又は第２のＴＣＲ－ＴＭと第２のＴＣＲ細胞内ドメインとの間に存在する。いくつかの実施形態では、１つ以上の共刺激シグナル伝達配列は、第１のＴＣＲＤ及び／又は第２のＴＣＲＤのカルボキシ末端側である。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、Ｔ細胞共刺激シグナル伝達配列を欠いている。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、第１の安定化ドメイン及び第２の安定化ドメインを含む安定化モジュールを更に含み、当該第１及び第２の安定化ドメインは、ｃａＴＣＲを安定化させる、互いに対する結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、安定化モジュールは、抗原結合モジュールとＴＣＲＭとの間に位置する。いくつかの実施形態では、安定化モジュールは、C_H1抗体ドメイン又はその変異型を含む第１の安定化ドメインと、C_L抗体ドメイン又はその変異型を含む第２の安定化ドメインと、を含む。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲは、任意の２つのｃａＴＣＲモジュール又はドメイン間にスペーサモジュールを更に含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及びζζからなる群から選択される少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子を動員することができる。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、天然に生じるＴ細胞受容体の膜貫通ドメインを含むＴＣＲＭと比べて、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子の動員を増強することができる。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、ｃａＴＣＲ－ＣＤ３複合体の形成を促進する。いくつかの実施形態では、任意の２つのｃａＴＣＲモジュール又はドメイン間にスペーサモジュールが存在する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、ヘテロ二量体などのヘテロ多量体である。例えば、いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、第１のＴＣＲＤを含む第１のポリペプチド鎖と、第２のＴＣＲＤを含む第２のポリペプチド鎖とを含むヘテロ二量体であり、抗体部分が、第１及び／又は第２のポリペプチド鎖に連結されている。いくつかの実施形態では、ＴＣＲＭは、１つ以上の天然には生じないＴＣＲドメインを含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ－ＴＭは、配列番号４９５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ－ＴＭは、配列番号４９６のアミノ酸配列を含む。

【０４１５】

また本明細書では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現するエフェクタ細胞（リンパ球、例えば、Ｔ細胞など）も提供される。

【０４１６】

また、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現するエフェクタ細胞の生成方法であって、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲをコードしている核酸を含むベクターをエフェクタ細胞内に導入することを含む方法も提供される。いくつかの実施形態では、ベクターをエフェクタ細胞に導入することは、エフェクタ細胞をベクターで形質導入することを含む。いくつかの実施形態では、ベクターをエフェクタ細胞に導入することは、エフェクタ細胞をベクターでトランスフェクトすることを含む。エフェクタ細胞へのベクターの形質導入又はトランスフェクションは、当該技術分野において既知の任意の方法を使用して行うことができる。

【０４１７】

いくつかの実施形態では、誘導性プロモータに動作可能に連結された本明細書に記載の

多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸配列を含む抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞（リンパ球、例えばＴ細胞など）が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞における多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを介したシグナル伝達の際に誘導可能である。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸配列は、ＮＦＡＴ由来プロモータに動作可能に連結されている。いくつかの実施形態では、ＮＦＡＴ由来プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータである。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸配列は、ＩＬ－２プロモータに動作可能に連結されている。

キメラ共刺激受容体（ＣＳＲ）コンストラクト

【０４１８】

抗ＧＰＣ３コンストラクトは、いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３に特異的に結合し、標的リガンドの結合時に機能的に発現される表面上の免疫細胞を刺激することができるキメラ共刺激受容体（ＣＳＲ）である。ＣＳＲは、リガンド結合特異性、膜貫通モジュール、及び免疫細胞の刺激を可能にする共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュールを提供するリガンド結合モジュールを含む。ＣＳＲは、機能的な一次免疫細胞シグナル伝達配列を欠いている。いくつかの実施形態では、ＣＳＲは、任意の一次免疫細胞シグナル伝達配列を欠いている。いくつかの実施形態では、ＣＳＲは、リガンド結合モジュール、膜貫通モジュール、及び共刺激シグナル伝達モジュールを含む単一のポリペプチド鎖を含む。いくつかの実施形態では、ＣＳＲは、第１のポリペプチド鎖及び第２のポリペプチド鎖を含み、当該第１及び第２のポリペプチド鎖は共に、リガンド結合モジュール、膜貫通モジュール、及び共刺激性シグナル伝達モジュールを形成する。いくつかの実施形態では、第１及び第２のポリペプチド鎖は、別個のポリペプチド鎖であり、ＣＳＲは、二量体などの多量体である。いくつかの実施形態では、第１及び第２のポリペプチド鎖は、ペプチド結合によって、又はジスルフィド結合などの別の化学結合によって共有結合的に連結される。いくつかの実施形態では、第１のポリペプチド鎖及び第２のポリペプチド鎖は、少なくとも１つのジスルフィド結合によって連結される。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲ＋ＣＳＲ免疫細胞におけるＣＳＲの発現は、誘導性である。いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲ＋ＣＳＲ免疫細胞におけるＣＳＲの発現は、ｃａＴＣＲを介したシグナル伝達の際に誘導可能である。

【０４１９】

いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３０９のアミノ酸配列を有するＶＨドメイン及び配列番号３６０のアミノ酸配列を有するＶＬドメインとを含むｓｃＦｖと、ｂ）配列番号５３０のアミノ酸配列を含む、から本質的になる、又はからなるＣＤ２８の断片とを含む、ＧＰＣ３に特異的に結合するＣＳＲが提供される。いくつかの実施形態では、ｓｃＦｖは、配列番号４４１のアミノ酸配列を含む、から本質的になる、又はからなる。いくつかの実施形態では、ＣＳＲは、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって、ｓｃＦｖ、アミノ酸配列ＡＡＡを有するペプチドリンカー、及びＣＤ２８の断片を含む。いくつかの実施形態では、ＣＳＲは、配列番号５３０のアミノ酸配列を含む、から本質的になる、又はからなる。

【０４２０】

いくつかの実施形態では、ｃａＴＣＲ（ＡＦＰ／ＭＨＣクラスＩ分子、例えば、ＡＦＰ１５８／ＨＬＡ　Ａ０２に特異的に結合するｃａＴＣＲなど）及び本明細書に記載のＣＳＲのいずれかによる抗ＧＰＣ３　ＣＳＲをコードしている核酸を含む免疫細胞（Ｔ細胞など）であって、当該ｃａＴＣＲ及びＣＳＲが、核酸から発現し、免疫細胞表面に局在化する免疫細胞が提供される。いくつかの実施形態では、核酸は、ｃａＴＣＲの第１のｃａＴ

ＣＲポリペプチド鎖をコードしている第１のｃａＴＣＲ核酸配列と、ｃａＴＣＲの第２のｃａＴＣＲポリペプチド鎖をコードしている第２のｃａＴＣＲ核酸配列と、ＣＳＲのＣＳＲポリペプチド鎖をコードしているＣＳＲ核酸配列とを含む。いくつかの実施形態では、第１及び第２のｃａＴＣＲ核酸配列並びにＣＳＲ核酸配列は、それぞれ異なるベクターに含まれる。いくつかの実施形態では、核酸配列の一部又は全ては、同じベクターに含まれる。ベクターは、例えば、哺乳類発現ベクター及びウイルスベクター（レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ関連ウイルス、ヘルペスウイルス、及びレンチウイルス由来のものなど）からなる群から選択してよい。いくつかの実施形態では、ベクターのうちの１つ以上は、免疫細胞の宿主ゲノムに組み込まれる。いくつかの実施形態では、第１及び第２のｃａＴＣＲ核酸配列並びにＣＳＲ核酸配列は、それぞれ異なるプロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、プロモータの一部又は全ては、同じ配列を有する。いくつかの実施形態では、プロモータの一部又は全ては、異なる配列を有する。いくつかの実施形態では、核酸配列の一部又は全ては、単一のプロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、プロモータの一部又は全ては、誘導性である。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、細胞傷害性Ｔ細胞、ヘルパーＴ細胞、ナチュラルキラーＴ細胞、及びサプレッサーＴ細胞からなる群から選択される。

免疫複合体（Immunoconjugates）

【０４２１】

抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）は、いくつかの実施形態では、エフェクタ分子に結合した本明細書に記載の抗ＧＰＣ３抗体部分のいずれかによる抗ＧＰＣ３抗体部分を含む免疫複合体（本明細書では「抗ＧＰＣ３免疫複合体」とも称される）を含む。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は、薬物、毒素、放射性同位体、タンパク質、ペプチド、炭水化物、脂質、又は核酸などの治療薬である。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は癌治療薬であり、細胞傷害性である、細胞増殖抑制性である、又は別の方法でいくらかの治療効果を提供する。いくつかの実施形態では、本発明に従って使用するための治療薬は、免疫系の調節及び／又はＴ細胞媒介性細胞傷害の増強に関連する生物活性を有し得る。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は標識であり、これは、直接又は間接的に検出可能なシグナルを生成することができる。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、完全長抗体、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。

【０４２２】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と、治療薬とを含む抗ＧＰＣ３免疫複合体（本明細書では「抗体－薬物複合体」又は「ＡＤＣ」とも称される）が提供される。いくつかの実施形態では、治療薬は、細胞傷害性である、細胞増殖抑制性である、又は別の方法で標的細胞の分裂する能力を阻止若しくは低減する毒素である。細胞傷害又は細胞増殖抑制剤、すなわち、癌の治療において腫瘍細胞を殺傷又は阻害する薬物を局所送達するためにＡＤＣを使用する（Ｓｙｒｉｇｏｓ ａｎｄ Ｅｐｅｎｅｔｏｓ，Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ １９：６０５－６１４（１９９９）；Ｎｉｃｕｌｅｓｃｕ－Ｄｕｖａｚ ａｎｄ Ｓｐｒｉｎｇｅｒ，Ａｄｖ．Ｄｒｇ．Ｄｅｌ．Ｒｅｖ．２６：１５１－１７２（１９９７）；米国特許第４，９７５，２７８号）ことによって、標的細胞への薬物

部分の標的送達、及び標的細胞への細胞内蓄積が可能になり、これらの非複合体化治療薬を全身投与すると、正常細胞及び排除しようとしている標的細胞に対して許容不可能なレベルの毒性が生じ得る（Ｂａｌｄｗｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｌａｎｃｅｔ（Ｍａｒ．１５，１９８６）：６０３－６０５（１９８６）；Ｔｈｏｒｐｅ，（１９８５）「Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｃａｒｒｉｅｒｓ Ｏｆ Ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ Ａｇｅｎｔｓ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ：Ａ Ｒｅｖｉｅｗ，」ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ’８４：Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ａ．Ｐｉｎｃｈｅｒａ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），ｐｐ．４７５－５０６）。それにより、最小の毒性で最大の有効性が求められている。

【０４２３】

抗ＧＰＣ３免疫複合体において使用される治療薬としては、例えば、ダウノマイシン、ドキソルビシン、メトトレキサート、及びビンデシンが挙げられる（Ｒｏｗｌａｎｄ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ．２１：１８３－１８７（１９８６））。抗ＧＰＣ３免疫複合体で使用される毒素としては、ジフテリア毒素などの細菌毒素、リシンなどの植物毒素、ゲルダナマイシン（Ｍａｎｄｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｎａｔ．Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ．９２（１９）：１５７３－１５８１（２０００）；Ｍａｎｄｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ ＆ Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔｅｒｓ １０：１０２５－１０２８（２０００）；Ｍａｎｄｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．１３：７８６－７９１（２００２））、マイタンシノイド（欧州特許第１３９１２１３号；Ｌｉｕ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９３：８６１８－８６２３（１９９６））、及びカリチアマイシン（Ｌｏｄｅ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５８：２９２８（１９９８）；Ｈｉｎｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５３：３３３６－３３４２（１９９３））などの低分子毒素が挙げられる。毒素は、チューブリン結合、ＤＮＡ結合、又はトポイソメラーゼ阻害を含む機序によって、その細胞傷害及び細胞増殖抑制効果を発揮し得る。いくつかの細胞傷害薬は、大型抗体又はタンパク質受容体リガンドに複合体化した場合、不活性になるか又は活性が低くなる傾向がある。

【０４２４】

使用することができる酵素的に活性のある毒素及びその断片としては、例えば、ジフテリアＡ鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素Ａ鎖（緑膿菌（Pseudomonas aeruginosa）由来）、リシンＡ鎖、アビンＡ鎖、モデシンＡ鎖、α－サルシン、シナアブラギリ（Aleurites fordii）タンパク質、ジアンチンタンパク質、ヨウシュヤマゴボウ（Phytolaca americana）タンパク質（ＰＡＰＩ、ＰＡＰＩＩ、及びＰＡＰ－Ｓ）、ニガウリ（momordica charantia）阻害剤、クルシン、クロチン、サボンソウ（sapaonaria officinalis）阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、及びトリコテセンが挙げられる。１９９３年１０月２８日公開の国際公開第９３／２１２３２号を参照されたい。

【０４２５】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３免疫複合体は、抗ＧＰＣ３抗体部分と、カリチアマイシン、マイタンシノイド、ドラスタチン、オーリスタチン、トリコテシン、及びＣＣ１０６５などの１つ以上の低分子毒素とを含み、毒素活性を有するこれらの毒素の誘導体もまた本明細書において企図される。

【０４２６】

いくつかの実施形態では、細胞内活性を有する治療薬を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３免疫複合体は内部移行し、治療薬は、細胞のタンパク質合成をブロックし、これにおいて細胞死をもたらす細胞毒である。いくつかの実施形態では、治療薬は、例えば、ゲロニン、ボウガニン、サポニン、リシン、リシンＡ鎖、ブリヨジン、ジフテリア毒素、レストリクトシン、シュードモナス外毒素Ａ、及びこれらの変異型を含む、リボソーム不活化活性を有するポリペプチドを含む細胞毒素である。いくつかの実施形態では、治療薬がリボソーム不活化活性を有するポリペプチドを

含む細胞毒素である場合、抗ＧＰＣ３免疫複合体は、タンパク質が細胞に対して細胞傷害性になるために、標的細胞への結合時に内部移行しなければならない。

【０４２７】

いくつかの実施形態では、ＤＮＡを破壊するよう作用する治療薬を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、ＤＮＡを破壊するよう作用する治療薬は、例えば、エンジイン（例えば、カリチアマイシン及びエスペリミシン）及び非エンジイン低分子剤（例えば、ブレオマイシン、メチジウムプロピル－ＥＤＴＡ－Ｆｅ（ＩＩ））からなる群から選択される。本出願に従って有用な他の癌治療薬としては、ダウルビシン、ドキソルビシン、ジスタマイシンＡ、シスプラチン、マイトマイシンＣ、エクチナサイジン、デュオカルマイシン／ＣＣ－１０６５、及びブレオマイシン／ペプレオマイシンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０４２８】

本発明は更に、抗ＧＰＣ３抗体部分と、核溶解活性を有する化合物（例えば、リボヌクレアーゼ、又はデオキシリボヌクレアーゼなどのＤＮＡエンドヌクレアーゼ；ＤＮａｓｅ）との間に形成される抗ＧＰＣ３免疫複合体を想到する。

【０４２９】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３免疫複合体は、チューブリンを破壊するよう作用する剤を含む。このような剤としては、例えば、リゾキシン／マイタンシン、パクリタキセル、ビンクリスチン、及びビンブラスチン、コルヒチン、オーリスタチンドラスタチン１０　ＭＭＡＥ、及びペロルシドＡを挙げることができる。

【０４３０】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３免疫複合体は、例えば、Ａｓａｌｅｙ　ＮＳＣ１６７７８０、ＡＺＱ　ＮＳＣ１８２９８６、ＢＣＮＵ　ＮＳＣ４０９９６２、ブスルファンＮＳＣ７５０、カルボキシフタレート白金ＮＳＣ２７１６７４、ＣＢＤＣＡ　ＮＳＣ２４１２４０、ＣＣＮＵ　ＮＳＣ７９０３７、ＣＨＩＰ　ＮＳＣ２５６９２７、クロラムブシルＮＳＣ３０８８、クロロゾトシンＮＳＣ１７８２４８、シスプラチンＮＳＣ１１９８７５、クロメソンＮＳＣ３３８９４７、シアノモルホリノドキソルビシンＮＳＣ３５７７０４、シクロジソンＮＳＣ３４８９４８、ジアンヒドロガラクチトールＮＳＣ１３２３１３、フルオロドーパ（fluorodopan）ＮＳＣ７３７５４、ヘプスルファムＮＳＣ３２９６８０、ヒカントンＮＳＣ１４２９８２、メルファランＮＳＣ８８０６、メチルＣＣＮＵ　ＮＳＣ９５４４１、マイトマイシンＣ　ＮＳＣ２６９８０、ミトゾラミドＮＳＣ３５３４５１、ナイトロジェンマスタードＮＳＣ７６２、ＰＣＮＵ　ＮＳＣ９５４６６、ピペラジンＮＳＣ３４４００７、ピペラジンジオンＮＳＣ１３５７５８、ピポブロマンＮＳＣ２５１５４、ポルフィロマイシンＮＳＣ５６４１０、スピロヒダントインマスタードＮＳＣ１７２１１２、テロキシロンＮＳＣ２９６９３４、テトラプラチンＮＳＣ３６３８１２、チオテパＮＳＣ６３９６、トリエチレンメラミンＮＳＣ９７０６、ウラシルナイトロジェンマスタードＮＳＣ３４４６２、及びＹｏｓｈｉ－８６４ＮＳＣ１０２６２７を含むアルキル化剤を含む。

【０４３１】

いくつかの実施形態では、本願の抗ＧＰＣ３免疫複合体の癌治療薬部分は、限定するものではないが、アロコルヒチンＮＳＣ４０６０４２、ハリコンドリンＢ　ＮＳＣ６０９３９５、コルヒチンＮＳＣ７５７、コルヒチン誘導体ＮＳＣ３３４１０、ドラスタチン１０ＮＳＣ３７６１２８（ＮＧ－オーリスタチン由来）、マイタンシンＮＳＣ１５３８５８、リゾキシンＮＳＣ３３２５９８、タキソールＮＳＣ１２５９７３、タキソール誘導体ＮＳＣ６０８８３２、チオコルヒチンＮＳＣ３６１７９２、トリチルシステインＮＳＣ８３２６５、硫酸ビンブラスチンＮＳＣ４９８４２、及び硫酸ビンクリスチンＮＳＣ６７５７４を含む抗有糸分裂剤を含み得る。

【０４３２】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３免疫複合体は、限定するものではないが、カンプトテシンＮＳＣ９４６００、カンプトテシンＮａ塩ＮＳＣ１００８８０、アミノカンプト

テシンＮＳＣ６０３０７１、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ９５３８２、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ１０７１２４、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ６４３８３３、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ６２９９７１、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ２９５５００、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ２４９９１０、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ６０６９８５、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ３７４０２８、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ１７６３２３、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ２９５５０１、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ６０６１７２、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ６０６１７３、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ６１０４５８、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ６１８９３９、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ６１０４５７、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ６１０４５９、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ６０６４９９、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ６１０４５６、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ３６４８３０、カンプトテシン誘導体ＮＳＣ６０６４９７、及びモルホリノドキソルビシンＮＳＣ３５４６４６を含むトポイソメラーゼＩ阻害剤を含む。

【０４３３】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３免疫複合体は、限定するものではないが、ドキソルビシンＮＳＣ１２３１２７、アモナファイドＮＳＣ３０８８４７、ｍ－ＡＭＳＡ　ＮＳＣ２４９９９２、アントラピラゾール誘導体ＮＳＣ３５５６４４、ピラゾロアクリジンＮＳＣ３６６１４０、ビスアントレンＨＣＬＮＳＣ３３７７６６、ダウノルビシンＮＳＣ８２１５１、デオキシドクソルビシンＮＳＣ２６７４６９、ミトキサントロンＮＳＣ３０１７３９、メノガリルＮＳＣ２６９１４８、Ｎ，Ｎ－ジベンジルダウノマイシンＮＳＣ２６８２４２、オキサントラゾールＮＳＣ３４９１７４、ルビダゾンＮＳＣ１６４０１１、ＶＭ－２６ＮＳＣ１２２８１９、及びＶＰ－１６ＮＳＣ１４１５４０を含むトポイソメラーゼＩＩ阻害剤を含む。

【０４３４】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３免疫複合体は、限定するものではないが、Ｌ－アラノシンＮＳＣ１５３３５３、５－アザシチジンＮＳＣ１０２８１６、５－フルオロウラシルＮＳＣ１９８９３、アシビシンＮＳＣ１６３５０１、アミノプテリン誘導体ＮＳＣ１３２４８３、アミノプテリン誘導体ＮＳＣ１８４６９２、アミノプテリン誘導体ＮＳＣ１３４０３３、アンチフォールＮＳＣ６３３７１３、アンチフォールＮＳＣ６２３０１７、ベーカーズ可溶性アンチフォールＮＳＣ１３９１０５、ジクロロアリルローソンＮＳＣ１２６７７１、ブレキナルＮＳＣ３６８３９０、フトラフール（プロドラッグ）ＮＳＣ１４８９５８、５，６－ジヒドロ－５－アザシチジンＮＳＣ２６４８８０、メトトレキサートＮＳＣ７４０、メトトレキサート誘導体ＮＳＣ１７４１２１、Ｎ－（ホスホノアセチル）－Ｌ－アスパラギン酸（ＰＡＬＡ）ＮＳＣ２２４１３１、ピラゾフリンＮＳＣ１４３０９５、トリメトレキサートＮＳＣ３５２１２２、３－ＨＰ　ＮＳＣ９５６７８、２’－デオキシ－５－フルオロウリジンＮＳＣ２７６４０、５－ＨＰ　ＮＳＣ１０７３９２，α－ＴＧＤＲ　ＮＳＣ７１８５１、アフィディコリングリシネートＮＳＣ３０３８１２、ａｒａ－ＣＮＳＣ６３８７８、５－アザ－２’－デオキシシチジンＮＳＣ１２７７１６，β－ＴＧＤＲＮＳＣ７１２６１、シクロシチジンＮＳＣ１４５６６８、グアナゾールＮＳＣ１８９５、ヒドロキシ尿素ＮＳＣ３２０６５、イノシングリコジアルデヒドＮＳＣ１１８９９４、マクベシンＩｌ　ＮＳＣ３３０５００、ピラゾロイミダゾールＮＳＣ５１１４３、チオグアニンＮＳＣ７５２、及びチオプリンＮＳＣ７５５を含むＲＮＡ又はＤＮＡ代謝拮抗物質を含む。

【０４３５】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３免疫複合体は、高度に放射活性の原子を含む。放射性複合体化抗体の生成には、様々な放射性同位体が利用可能である。例としては、^{211}Ａｔ、^{131}Ｉ、^{125}Ｉ、^{90}Ｙ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{153}Ｓｍ、^{212}Ｂｉ、^{32}Ｐ、^{212}Ｐｂ、及びＬｕの放射性同位体が挙げられる。

【０４３６】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、抗体－受容体複合体を患者に投与し、続いて、キレート剤を使用して循環から未結合複合体を除去し、次いで、細胞傷害性剤

（例えば、放射性ヌクレオチド）に複合体化している「リガンド」（例えば、アビジン）を投与する、腫瘍プレターゲティングにおいて利用するための「受容体」（ストレプトアビジンなど）に複合体化させることができる。

【０４３７】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３免疫複合体は、プロドラッグ活性化酵素に複合体化した抗ＧＰＣ３抗体部分を含んでいてよい。いくつかのこのような実施形態では、プロドラッグ活性化酵素は、プロドラッグ（例えば、ペプチジル化学療法剤、国際公開第８１／０１１４５号を参照されたい）を抗癌薬などの活性のある薬物に変換する。このような抗ＧＰＣ３免疫複合体は、いくつかの実施形態では、抗体依存性酵素媒介性プロドラッグ療法（「ＡＤＥＰＴ」）において有用である。抗体に複合体化させることができる酵素としては、リン酸塩含有プロドラッグを遊離薬物に変換するのに有用なアルカリホスファターゼ；硫酸塩含有プロドラッグを遊離薬物に変換するのに有用なアリールスルファターゼ；非毒性の５－フルオロシトシンを抗癌薬である５－フルオロウラシルに変換するのに有用なシトシンデアミナーゼ；ペプチド含有プロドラッグを遊離薬物に変換するのに有用な、セラチアプロテアーゼ、サーモリシン、サブチリシン、カルボキシペプチダーゼ、及びカテプシン（カテプシンＢ及びＬなど）などのプロテアーゼ；Ｄ－アミノ酸置換基を含有するプロドラッグを変換するのに有用なＤ－アラニルカルボキシペプチダーゼ；グリコシル化プロドラッグを遊離薬物に変換するのに有用な、β－ガラクトシダーゼ及びノイラミニダーゼなどの炭水化物切断酵素；β－ラクタムで誘導体化された薬物を遊離薬物に変換するのに有用なβ－ラクタマーゼ；並びにそのアミン窒素においてそれぞれフェノキシアセチル又はフェニルアセチル基で誘導体化された薬物を遊離薬物に変換するのに有用なペニシリンＶアミダーゼ及びペニシリンＧアミダーゼなどのペニシリンアミダーゼが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、酵素は、当該技術分野において周知の組み換えＤＮＡ技術によって抗体部分に共有結合的に結合させてもよい。例えば、Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３１２：６０４－６０８（１９８４）を参照されたい。

【０４３８】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３免疫複合体の治療部分は、核酸であってよい。使用することができる核酸としては、チオグアニン及びチオプリンなどの核酸アナログを含む、アンチセンスＲＮＡ、遺伝子、又は他のポリヌクレオチドが挙げられるが、これらに限定されない。

【０４３９】

本出願は、エフェクタ分子に結合している抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体であって、当該エフェクタ分子が、間接的又は直接的に検出可能なシグナルを生成することができる標識である免疫複合体を更に提供する。これらの抗ＧＰＣ３免疫複合体は、癌のインビボ検出などの研究又は診断用途に使用することができる。標識は、好ましくは、検出可能なシグナルを直接的又は間接的に生成することができる。例えば、標識は、放射線不透過性又は放射性同位体、例えば、^{3}Ｈ、アクチニウム－２２５、アスタチン－２１１、ビスマス－２１２、炭素－１４、クロム－５１、塩素－３６、コバルト－５７、コバルト－５８、銅－６７、ユーロピウム－１５２、ガリウム－６７、水素－３、ヨウ素－１２３、ヨウ素－１２４、ヨウ素－１２５、ヨウ素－１３１、インジウム－１１１、鉄－５９、鉛－２１２、ルテチウム－１７７、リン－３２、ラジウム－２２３、ラジウム－２２４、レニウム－１８６、レニウム－１８８、セレン－７５、硫黄－３５、テクネチウム－９９ｍ、トリウム－２２７、イットリウム－９０、若しくはジルコニウム－８９；フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ルシフェリン、Ａｌｅｘａ３５０、Ａｌｅｘａ４３０、ＡＭＣＡ、ＢＯＤＩＰＹ６３０／６５０、ＢＯＤＩＰＹ６５０／６６５、ＢＯＤＩＰＹ－ＦＬ、ＢＯＤＩＰＹ－Ｒ６Ｇ、ＢＯＤＩＰＹ－ＴＭＲ、ＢＯＤＩＰＹ－ＴＲＸ、カスケードブルー、Ｃｙ３、Ｃｙ５、６－ＦＡＭ、ＨＥＸ、６－ＪＯＥ、オレゴングリーン４８８、オレゴングリーン５００、オレゴングリーン５１４、パシフィックブルー、ＲＥＧ、レノグラフィン、ＲＯＸ、ＴＡＭＲＡ、ＴＥＴ、テトラメチルローダミン、

及び／若しくはテキサスレッドなどの蛍光（フルオロフォア）若しくは化学発光（発色団）化合物；アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、若しくはセイヨウワサビペルオキシダーゼなどの酵素；造影剤；又は金属イオン、例えば、クロム（ＩＩＩ）、マンガン（ＩＩ）、鉄（ＩＩＩ）、鉄（ＩＩ）、コバルト（ＩＩ）、ニッケル（ＩＩ）、銅（ＩＩ）、ネオジム（ＩＩＩ）、サマリウム（ＩＩＩ）、イッテルビウム（ＩＩＩ）、ガドリニウム（ＩＩＩ）、バナジウム（ＩＩ）、テルビウム（ＩＩＩ）、ジスプロシウム（ＩＩＩ）、ホルミウム（ＩＩＩ）、エルビウム（ＩＩＩ）、ランタン（ＩＩＩ）、金（ＩＩＩ）、鉛（ＩＩ）、及び／若しくはビスマス（ＩＩＩ）であってよい。いくつかの実施形態では、標識は、シンチグラフィ試験用の放射性原子、例えば、^{99}Ｔｃ若しくは^{123}Ｉ、又は核磁気共鳴（ＮＭＲ）映像（磁気共鳴映像法、ＭＲＩとしても知られている）用のスピン標識、例えば、ジルコニウム－８９、ヨウ素－１２３、ヨウ素－１３１、インジウム－１１１、フッ素－１９、炭素－１３、窒素－１５、酸素－１７、ガドリニウム、マンガン、若しくは鉄などである。ジルコニウム－８９は、例えば、ＰＥＴイメージング用に、様々な金属キレート剤に錯化され、抗体に複合体化され得る（国際公開第２０１１／０５６９８３号）。

【０４４０】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３免疫複合体は、間接的に検出可能である。例えば、抗ＧＰＣ３免疫複合体に特異的であり、検出可能な標識を含有する二次抗体を使用して、抗ＧＰＣ３免疫複合体を検出することができる。

【０４４１】

いくつかの実施形態では、ａ）細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）エフェクタ分子と、を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸２５～５８０（配列番号４６３）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６３のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸１～３５８（配列番号４６８）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６４のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０（配列番号４６５）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５８０（配列番号４６６）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸Ｒ^{358}／Ｓ^{359}におけるフューリン切断部位にまたがるエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、完全長成熟ヒトＧＰＣ３（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０又は２５～５８０）に特異的に結合することができるが、ヒトＧＰＣ３のＮ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８）又はヒトＧＰＣ３のＣ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０又は３５９～５８０）には結合しない。いくつかの実施形態では

、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する、抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）エフェクタ分子と、を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する、抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）と、ｂ）エフェクタ分子と、を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３は、癌細胞（例えば、ＨＣＣなどの肝臓癌細胞）の表面上で発現する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は、抗ＧＰＣ３抗体部分に共有結合的に結合している。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は、例えば薬物、毒素、放射性同位体、タンパク質、ペプチド、及び核酸からなる群から選択される治療薬である。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は、癌治療薬である。いくつかの実施形態では、癌治療薬は、化学療法薬である。いくつかの実施形態では、癌治療薬は、例えば、^{211}Ａｔ、^{131}Ｉ、^{125}Ｉ、^{90}Ｙ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{153}Ｓｍ、^{212}Ｂｉ、^{32}Ｐ、及び^{212}Ｐｂからなる群から選択される高度に放射活性の原子である。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は、直接又は間接的に検出可能なシグナルを生成することができる標識である。いくつかの実施形態では、標識は、例えば、^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{32}Ｐ、^{35}Ｓ、^{123}Ｉ、^{125}Ｉ、及び^{131}Ｉからなる群から選択される放射性同位体である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、完全長抗体、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、ヒト化されている、又は半合成である。

【０４４２】

いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうち

のいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）エフェクタ分子と、を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）エフェクタ分子と、を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）エフェクタ分子と、を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）エフェクタ分子と、を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）エフェクタ分子と、を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）エフェクタ分子と、を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ（約10^{-7}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、約10^{-9}Ｍ～約10^{-13}Ｍ、又は約10^{-10}Ｍ～約10^{-12}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｎＧＰＣ３との間の結合のK_dの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、又は10^7倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分とｓＧＰＣ３との間の結合のK_dは、約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ（約10^{-1}Ｍ～約10^{-6}Ｍ、約10^{-1}Ｍ～約10^{-5}Ｍ、又は約10^{-2}Ｍ～約10^{-4}Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は、抗ＧＰＣ３抗体部分に共有結合的に結合している。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は、例えば薬物、毒素、放射性同位体、タンパク質、ペプチド、及び核酸からなる群から選択される治療薬である。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は、癌治療薬である。いくつかの実施形態では、癌治療薬は、化学療法薬である。いくつかの実施形態では、癌治療薬は、例えば、^{211}Ａｔ、^{131}Ｉ、^{125}Ｉ、^{90}Ｙ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{153}Ｓｍ、^{212}Ｂｉ、^{32}Ｐ、及び^{212}Ｐｂからなる群から選択される高度に放射活性の原子である。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は、直接又は間接的に検出可能なシグナルを生成することができる標識である。いくつかの実施形態では、標識は、例えば、^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{32}Ｐ、^{35}Ｓ、^{123}Ｉ、^{125}Ｉ、及び^{131}Ｉからなる群から選択される放射性同位体である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、完全長抗体、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、ヒト化されている、又は半合成である。

【０４４３】

いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）エフェクタ分子と、を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）エフェクタ分子と、を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）エフェクタ分子と、を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）エフェクタ分子と、を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）への結合について競合する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）エフェクタ分子と、を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分と、ｂ）エフェクタ分子と、を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的ＧＰＣ３（例えば、

ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）との間の結合のＫｄは、約１０－７Ｍ～約１０－１３Ｍ（約１０－７Ｍ～約１０－１３Ｍ、約１０－９Ｍ～約１０－１３Ｍ、又は約１０－１０Ｍ～約１０－１２Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のＫｄは、抗ＧＰＣ３抗体部分と標的ＧＰＣ３との間の結合のＫｄの少なくとも約１０倍（少なくとも約１０、１０^{2}、１０^{3}、１０^{4}、１０^{5}、１０^{6}、又は１０^{7}倍など）であってよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分と非標的との間の結合のＫｄは、約１０－１Ｍ～約１０－６Ｍ（約１０－１Ｍ～約１０－６Ｍ、約１０－１Ｍ～約１０－５Ｍ、又は約１０－２Ｍ～約１０－４Ｍなど）である。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は、抗ＧＰＣ３抗体部分に共有結合的に結合している。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は、例えば薬物、毒素、放射性同位体、タンパク質、ペプチド、及び核酸からなる群から選択される治療薬である。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は、癌治療薬である。いくつかの実施形態では、癌治療薬は、化学療法薬である。いくつかの実施形態では、癌治療薬は、例えば、^{211}Ａｔ、^{131}Ｉ、^{125}Ｉ、^{90}Ｙ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{153}Ｓｍ、^{212}Ｂｉ、^{32}Ｐ、及び^{212}Ｐｂからなる群から選択される高度に放射活性の原子である。いくつかの実施形態では、エフェクタ分子は、直接又は間接的に検出可能なシグナルを生成することができる標識である。いくつかの実施形態では、標識は、例えば、^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{32}Ｐ、^{35}Ｓ、^{123}Ｉ、^{125}Ｉ、及び^{131}Ｉからなる群から選択される放射性同位体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、完全長抗体、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、ヒト化されている、又は半合成である。

核酸

【０４４４】

抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）又は抗ＧＰＣ３抗体部分をコードしている核酸分子も想到される。いくつかの実施形態では、完全長抗ＧＰＣ３抗体をコードしている核酸（又は核酸のセット）が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖをコードしている核酸（又は核酸のセット）が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　Ｆｃ融合タンパク質をコードしている核酸（又は核酸のセット）が提供される。いくつかの実施形態では、多重特異性抗ＧＰＣ３分子（例えば、多重特異性抗ＧＰＣ３抗体、二重特異性抗ＧＰＣ３抗体、又は二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ抗ＧＰＣ３抗体）、又はそのポリペプチド部分をコードしている核酸（又は核酸のセット）が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲをコードしている核酸（又は核酸のセット）が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３ｃａＴＣＲをコードしている核酸（又は核酸のセット）が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３免疫複合体又はそのポリペプチド部分をコードしている核酸（又は核酸のセット）が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトをコードしている核酸（又は核酸のセット）は、ペプチドタグ（タンパク質精製タグ、例えば、Ｈｉｓタグ、ＨＡタグなど）をコードしている核酸配列を更に含んでいてもよい。

【０４４５】

また、本明細書では、抗ＧＰＣ３コンストラクト、抗ＧＰＣ３コンストラクトのポリペプチド構成要素をコードしている単離された核酸、又は本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのポリペプチド構成要素をコードしている核酸を含むベクターを含む単離された宿主細胞も想到される。

【０４４６】

本出願はまた、これらの核酸配列に対する変異型も含む。例えば、変異型は、少なくとも適度にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、本出願の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）又は抗ＧＰＣ３抗体部分をコードしている核酸配列にハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む。

【０４４７】
本発明はまた、本発明の核酸が挿入されるベクターも提供する。
【０４４８】
簡潔に要約すると、抗ＧＰＣ３コンストラクト又はそのポリペプチド部分をコードしている天然又は合成の核酸による抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ）又はそのポリペプチド部分の発現は、例えばプロモータ（例えば、リンパ球特異的プロモータ）及び３’非翻訳領域（ＵＴＲ）を含む５’及び３’調節エレメントに核酸が動作可能に連結されるように、核酸を適切な発現ベクターに挿入することによって達成することができる。ベクターは、真核生物宿主細胞における複製及び組み込みに好適であり得る。典型的なクローニング及び発現ベクターは、転写及び翻訳ターミネータ、開始配列、並びに所望の核酸配列の発現の制御に有用なプロモータを含有する。
【０４４９】
本発明の核酸はまた、標準的な遺伝子送達プロトコルを使用して、核酸免疫及び遺伝子治療に使用することもできる。遺伝子送達の方法は、当該技術分野において既知である。例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第５，３９９，３４６号、同第５，５８０，８５９号、同第５，５８９，４６６号を参照されたい。いくつかの実施形態では、本発明は、遺伝子治療ベクターを提供する。
【０４５０】
核酸は、多数の種類のベクターにクローニングすることができる。例えば、核酸は、プラスミド、ファージミド、ファージ誘導体、動物ウイルス、及びコスミドを含むがこれらに限定されないベクターにクローニングすることができる。特に関心のあるベクターとしては、発現ベクター、複製ベクター、プローブ生成ベクター、及びシークエンシングベクターが挙げられる。
【０４５１】
更に、発現ベクターは、ウイルスベクターの形態で細胞に提供されてもよい。ウイルスベクター技術は当該技術分野において周知であり、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．（２００１，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ）、並びに他のウイルス学及び分子生物学のマニュアルに記載されている。ベクターとして有用なウイルスとしては、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ関連ウイルス、ヘルペスウイルス、及びレンチウイルスが挙げられるが、これらに限定されない。一般に、好適なベクターは、少なくとも１つの生物において機能する複製起点、プロモータ配列、好都合な制限エンドヌクレアーゼ部位、及び１つ以上の選択可能なマーカーを含有する（例えば、国際公開第０１／９６５８４号、同第０１／２９０５８号、及び米国特許第６，３２６，１９３号を参照されたい）。
【０４５２】
哺乳類細胞への遺伝子導入のために、多数のウイルスベースの系が開発されている。例えば、レトロウイルスは、遺伝子送達系のための便利なプラットフォームを提供する。選択された遺伝子をベクターに挿入し、当該技術分野において既知の技術を使用してレトロウイルス粒子にパッケージすることができる。次いで、組換えウイルスを単離し、インビボ又はエクスビボのいずれかで被験体の細胞に送達することができる。多数のレトロウイルス系が、当該技術分野において既知である。いくつかの実施形態では、アデノウイルスベクターが使用される。多数のアデノウイルスベクターが、当該技術分野において既知である。いくつかの実施形態では、レンチウイルスベクターが使用される。レンチウイルスなどのレトロウイルス由来のベクターは、導入遺伝子の長期の安定した組み込み及び娘細胞におけるその伝播を可能にするので、長期の遺伝子導入を達成するのに好適なツールである。レンチウイルスベクターは、肝細胞などの非増殖細胞を形質導入することができるという点で、マウス白血病ウイルスなどのオンコレトロウイルス由来のベクターよりも優れた更なる利点を有する。これらはまた、免疫原性が低いという更なる利点も有する。
【０４５３】

例えば、エンハンサなどの追加のプロモータエレメントは、転写開始の頻度を調節する。典型的には、これらは開始部位の３０～１１０ｂｐ上流の領域に位置しているが、最近、多数のプロモータが、開始部位の下流にも機能的エレメントを含有することが示されている。プロモータエレメント間の間隔は、多くの場合、柔軟であるので、エレメントが互いに対して反転又は移動したときでもプロモータ機能が保存される。チミジンキナーゼ（ｔｋ）プロモータでは、プロモータエレメント間の間隔は、活性が低下し始める前に５０ｂｐまで増加させることができる。

【０４５４】

好適なプロモータの一例は、最初期サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）プロモータ配列である。このプロモータ配列は、動作可能に連結された任意のポリヌクレオチド配列の高レベルの発現を駆動することができる強力な構成的プロモータ配列である。好適なプロモータの別の例は、伸長因子－１α（ＥＦ－１α）である。しかしながら、シミアンウイルス４０（ＳＶ４０）初期プロモータ、マウス乳癌ウイルス（ＭＭＴＶ）、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）の長い末端反復配列（ＬＴＲ）プロモータ、ＭｏＭｕＬＶプロモータ、トリ白血病ウイルスプロモータ、エプスタイン・バールウイルス最初期プロモータ、ラウス肉腫ウイルスプロモータ、並びにアクチンプロモータ、ミオシンプロモータ、ヘモグロビンプロモータ、及びクレアチンキナーゼプロモータなどであるがこれらに限定されないヒト遺伝子プロモータが挙げられるが、これらに限定されない、他の構成的プロモータ配列を使用してもよい。更に、本発明は、構成的プロモータの使用に限定されるべきではない。誘導性プロモータもまた、本発明の一部として想到される。誘導性プロモータの使用は、このような発現が望ましいときに動作可能に連結されたポリヌクレオチド配列の発現をオンにするか、又は発現が望ましくないときに発現をオフにすることができる分子スイッチを提供する。誘導性プロモータの例としては、メタロチオニンプロモータ、グルココルチコイドプロモータ、プロゲステロンプロモータ、及びテトラサイクリンプロモータが挙げられるが、これらに限定されない。

【０４５５】

上述のように、いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、誘導性である。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞）は、本明細書に記載の任意の誘導性プロモータを含む誘導性プロモータに動作可能に連結された多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞）における多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、エフェクタ細胞（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）上のシグナル伝達受容体を介したシグナル伝達の際に誘導可能である。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸配列は、ＮＦＡＴ由来プロモータに動作可能に連結されている。いくつかの実施形態では、ＮＦＡＴ由来プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータである。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸配列は、ＩＬ－２プロモータに動作可能に連結されている。

【０４５６】

誘導性プロモータ

【０４５７】

誘導性プロモータの使用は、このような発現が望ましいときに動作可能に連結されたポリヌクレオチド配列の発現をオンにするか、又は発現が望ましくないときに発現をオフにすることができる分子スイッチを提供する。真核細胞で使用するための例示的な誘導性プロモータ系としては、ホルモン調節エレメント（例えば、Ｍａｄｅｒ，Ｓ．ａｎｄ　Ｗｈ

ｉｔｅ，Ｊ．Ｈ．（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：５６０３－５６０７を参照されたい）、合成リガンド調節エレメント（例えば、Ｓｐｅｎｃｅｒ，Ｄ．Ｍ．ｅｔ ａｌ １９９３）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２６２：１０１９－１０２４）を参照されたい）、及び電離放射線調節エレメント（例えば、Ｍａｎｏｍｅ，Ｙ．ｅｔ ａｌ．（１９９３）Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ３２：１０６０７－１０６１３；Ｄａｔｔａ，Ｒ．ｅｔ ａｌ．（１９９２）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８９：１０１４－１０１５３を参照されたい）が挙げられるが、これらに限定されない。インビトロ又はインビボにおいて哺乳類系で使用するための更なる例示的な誘導性プロモータ系は、Ｇｉｎｇｒｉｃｈ ｅｔ ａｌ．（１９９８）Ａｎｎｕａｌ Ｒｅｖ．Ｎｅｕｒｏｓｃｉ ２１：３７７－４０５に概説されている。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子を発現させるために使用するための誘導性プロモータ系は、Ｔｅｔ系である。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子を発現させるために使用するための誘導性プロモータ系は、大腸菌由来のｌａｃリプレッサ系である。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子を発現させるために使用するための誘導性プロモータ系は、ＮＦＡＴ由来プロモータである。

【０４５８】

本発明で使用するための例示的な誘導性プロモータ系は、Ｔｅｔ系である。このような系は、Ｇｏｓｓｅｎ ｅｔ ａｌ．（１９９３）らによって記載されているＴｅｔ系に基づく。例示的な実施形態では、対象となるポリヌクレオチドは、１つ以上のＴｅｔオペレータ（ＴｅｔＯ）部位を含むプロモータの制御下にある。不活性状態では、Ｔｅｔリプレッサ（ＴｅｔＲ）は、ＴｅｔＯ部位に結合し、プロモータからの転写を抑制する。活性状態では、例えば、テトラサイクリン（Ｔｃ）、無水テトラサイクリン、ドキシサイクリン（Ｄｏｘ）、又はこれらの活性アナログなどの誘導剤の存在下において、誘導剤は、ＴｅｔＯからＴｅｔＲを放出させ、それによって、転写を行わせることができる。ドキシサイクリンは、１－ジメチルアミノ－２，４ａ，５，７，１２－ペンタヒドロキシ－１１－メチル－４，６－ジオキソ－１，４ａ，１１，１１ａ，１２，１２ａ－ヘキサヒドロテトラセン－３－カルボキサミドの化学名を有するテトラサイクリンファミリーの抗生物質のメンバーである。

【０４５９】

一実施形態では、ＴｅｔＲは、哺乳類細胞、例えば、マウス又はヒトの細胞における発現に対してコドンが最適化されている。大部分のアミノ酸は、遺伝子コードの縮重に起因して１つより多いコドンによってコードされているので、核酸によってコードされているアミノ酸配列を全く変化させることのない、所与の核酸のヌクレオチド配列の実質的なばらつきを許容する。しかしながら、多くの生物は、「コドンバイアス」（すなわち、所与のアミノ酸に対する特定のコドンの使用についてのバイアス）としても知られているコドン使用頻度の差を示す。コドンバイアスは、多くの場合、特定のコドンについてのｔＲＮＡの優先種の存在と相関しており、これによってｍＲＮＡ翻訳の効率が向上する。したがって、特定の生物（例えば、原核生物）由来のコード配列を、コドンの最適化を介して異なる生物（例えば、真核生物）における発現を改善するために調整することができる。

【０４６０】

Ｔｅｔ系の他の具体的な変形例としては、以下の「Ｔｅｔ－Ｏｆｆ」及び「Ｔｅｔ－Ｏｎ」系が挙げられる。Ｔｅｔ－Ｏｆｆ系では、転写は、ＴＣ又はＤｏｘの存在下において不活性である。この系では、単純ヘルペスウイルス由来のＶＰ１６の強力なトランス活性化ドメインに融合しているＴｅｔＲで構成されるテトラサイクリン制御トランス活性化因子タンパク質（ｔＴＡ）が、テトラサイクリン応答性プロモータエレメント（ＴＲＥ）の転写制御下にある標的核酸の発現を調節する。ＴＲＥは、プロモータ（一般に、ヒトサイトメガロウイルス（ｈＣＭＶ）最初期プロモータ由来のミニマルプロモータ配列）に融合しているＴｅｔＯ配列コンカテマーで構成される。Ｔｃ又はＤｏｘの非存在下では、ｔＴＡはＴＲＥに結合し、標的遺伝子の転写を活性化する。Ｔｃ又はＤｏｘの存在下では、ｔ

ＴＡはＴＲＥに結合することができず、標的遺伝子からの発現は不活性のままである。
【０４６１】
逆に、Ｔｅｔ－Ｏｎ系では、Ｔｃ又はＤｏｘの存在下において転写が活性である。Ｔｅｔ－Ｏｎ系は、逆テトラサイクリン制御トランス活性化因子ｒｔＴＡに基づく。ｔＴＡと同様に、ｒｔＴＡは、ＴｅｔＲリプレッサ及びＶＰ１６トランス活性化ドメインで構成される融合タンパク質である。しかしながら、ＴｅｔＲ　ＤＮＡ結合部分における４つのアミノ酸変化は、Ｄｏｘの存在下で標的導入遺伝子のＴＲＥにおけるｔｅｔＯ配列のみを認識できるように、ｒｔＴＡの結合特性を変化させる。したがって、Ｔｅｔ－Ｏｎ系では、ＴＲＥに調節される標的遺伝子の転写は、Ｄｏｘの存在下でのみｒｔＴＡによって刺激される。
【０４６２】
別の誘導性プロモータ系は、大腸菌由来のｌａｃリプレッサ系である（Ｂｒｏｗｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ　４９：６０３－６１２（１９８７）を参照されたい）。ｌａｃリプレッサ系は、ｌａｃオペレータ（ｌａｃＯ）を含むプロモータに動作可能に連結された、対象となるポリヌクレオチドの転写を調節することによって機能する。ｌａｃリプレッサ（ｌａｃＲ）は、ＬａｃＯに結合して、対象となるポリヌクレオチドの転写を阻止する。対象となるポリヌクレオチドの発現は、好適な誘導剤、例えば、イソプロピル－β－Ｄ－チオガラクトピラノシド（ＩＰＴＧ）によって誘導される。
【０４６３】
本発明で使用するための別の例示的な誘導性プロモータ系は、ＮＦＡＴ系である。ＮＦＡＴファミリーの転写因子は、Ｔ細胞活性化の重要な調節因子である。ＮＦＡＴ応答エレメントは、例えば、ＩＬ－２プロモータにみられる（例えば、Ｄｕｒａｎｄ，Ｄ．ｅｔ．ａｌ．，Ｍｏｌｅｃ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．８，１７１５－１７２４（１９８８）；Ｃｌｉｐｓｔｏｎｅ，ＮＡ，Ｃｒａｂｔｒｅｅ，ＧＲ．Ｎａｔｕｒｅ．１９９２　３５７（６３８０）：６９５－７；Ｃｈｍｉｅｌｅｗｓｋｉ，Ｍ．，ｅｔ　ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ　ｒｅｓｅａｒｃｈ７１．１７（２０１１）：５６９７－５７０６；及びＺｈａｎｇ，Ｌ．，ｅｔ　ａｌ．Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ｔｈｅｒａｐｙ１９．４（２０１１）：７５１－７５９を参照されたい）。
【０４６４】
ポリペプチド又はその一部の発現を評価するために、ウイルスベクターを介してトランスフェクト又は感染させようとしている細胞の集団からの発現細胞の同定及び選択を促進するために、細胞に導入される発現ベクターは、選択マーカー遺伝子若しくはレポーター遺伝子のいずれか又は両方を含有していてもよい。他の態様では、選択マーカーは、ＤＮＡの別個の部分に担持され、コトランスフェクション手順で使用されてもよい。選択マーカー及びレポーター遺伝子はいずれも、宿主細胞における発現を可能にするために適切な調節配列に隣接していてよい。有用な選択マーカーとしては、例えば、ｎｅｏなどの抗生物質耐性遺伝子が挙げられる。
【０４６５】
レポーター遺伝子は、トランスフェクトされた可能性のある細胞を同定するため、及び調節配列の機能性を評価するために使用される。一般に、レポーター遺伝子は、レシピエント生物にも組織にも存在しないか又はそれらによって発現しない遺伝子であり、いくぶん容易に検出可能な特性、例えば、酵素活性によってその発現が顕在化するポリペプチドをコードしている遺伝子である。ＤＮＡがレシピエント細胞に導入された後の好適な時点で、レポーター遺伝子の発現をアッセイする。好適なレポーター遺伝子としては、ルシフェラーゼ、β－ガラクトシダーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ、分泌型アルカリホスファターゼ、又は緑色蛍光タンパク質遺伝子をコードしている遺伝子を挙げることができる（例えば、Ｕｉ－Ｔｅｌ　ｅｔ　ａｌ．，２０００　ＦＥＢＳ　Ｌｅｔｔｅｒｓ　４７９：７９－８２）。好適な発現系は周知であり、既知の技術を使用して調製することもでき、又は商業的に入手することもできる。一般に、最高レベルのレポーター遺伝子発現を示す最小５’隣接領域を有するコンストラクトが、プロモータとして同定

される。このようなプロモータ領域は、レポーター遺伝子に連結させ、プロモータによって駆動される転写を調節する能力について剤を評価するために使用することができる。

【０４６６】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子のいずれかによる、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ及び／又は多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸が提供される。いくつかの実施形態では、核酸は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲのポリペプチド鎖の全てをコードしている１つ以上の核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、核酸は、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子のポリペプチド鎖の全てをコードしている１つ以上の核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、核酸は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子のポリペプチド鎖の全てをコードしている１つ以上の核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、１つ以上の核酸配列のそれぞれが、別個のベクターに含まれる。いくつかの実施形態では、核酸配列の少なくとも一部が、同じベクターに含まれる。いくつかの実施形態では、核酸配列の全てが、同じベクターに含まれる。ベクターは、例えば、哺乳類発現ベクター及びウイルスベクター（レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ関連ウイルス、ヘルペスウイルス、及びレンチウイルス由来のものなど）からなる群から選択してよい。

【０４６７】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、単一のポリペプチド鎖（例えば、抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖ－ＣＡＲ）を含むモノマーであり、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子は、単一の多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３ポリペプチド鎖（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）を含むモノマーであり、核酸は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲポリペプチド鎖をコードしている第１の核酸配列と、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３ポリペプチド鎖をコードしている第２の核酸配列とを含む。いくつかの実施形態では、第１の核酸配列は、第１のベクターに含まれ、第２の核酸配列は、第２のベクターに含まれる。いくつかの実施形態では、第１及び第２の核酸配列は、同じベクターに含まれる。いくつかの実施形態では、第１の核酸配列は、第１のプロモータの制御下にあり、第２の核酸配列は、第２のプロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、第１及び第２のプロモータの一方又は両方は、同じ配列を有する。いくつかの実施形態では、第１及び第２のプロモータの一方又は両方は、異なる配列を有する。いくつかの実施形態では、第１及び第２の核酸配列の一方又は両方は、マルチシストロニックベクターにおける単一のプロモータの制御下で単一の転写物として発現する。例えば、Ｋｉｍ，ＪＨ，ｅｔ　ａｌ．，ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ　６（４）：ｅ１８５５６，２０１１を参照されたい。いくつかの実施形態では、プロモータの一方又は両方は、誘導性である。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３ポリペプチド鎖をコードしている核酸配列を制御するプロモータは、誘導性である（例えば、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲの活性化を介して誘導可能である）。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のプロモータである。

【０４６８】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子のいずれかによる、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ及び／又は多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸が提供される。いくつかの実施形態では、核酸は、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲのポリペプチド鎖の全てをコードしている１つ以上の核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、核酸は、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子のポリペプチド鎖の全てをコードしている１つ以上の核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、核酸は、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子のポリペプチド鎖の全てをコードしている１つ以上の核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、１つ以上の核酸配列のそれぞれが、別個

のベクターに含まれる。いくつかの実施形態では、核酸配列の少なくとも一部が、同じベクターに含まれる。いくつかの実施形態では、核酸配列の全てが、同じベクターに含まれる。ベクターは、例えば、哺乳類発現ベクター及びウイルスベクター（レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ関連ウイルス、ヘルペスウイルス、及びレンチウイルス由来のものなど）からなる群から選択してよい。

【０４６９】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、第１のｃａＴＣＲポリペプチド鎖及び第２のｃａＴＣＲポリペプチド鎖を含む二量体であり、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子は、単一の多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３ポリペプチド鎖（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）を含むモノマーであり、核酸は、第１のｃａＴＣＲポリペプチド鎖をコードしている第１の核酸配列、第２のｃａＴＣＲ鎖をコードしている第２の核酸配列、及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３ポリペプチド鎖をコードしている第３の核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第１の核酸配列は、第１のベクターに含まれ、第２の核酸配列は、第２のベクターに含まれ、第３の核酸配列は、第３のベクターに含まれる。いくつかの実施形態では、第１及び第２の核酸配列は、第１のベクターに含まれ、第３の核酸配列は、第２のベクターに含まれる。いくつかの実施形態では、第１及び第３の核酸配列は、第１のベクターに含まれ、第２の核酸配列は、第２のベクターに含まれる。いくつかの実施形態では、第２及び第３の核酸配列は、第１のベクターに含まれ、第１の核酸配列は、第２のベクターに含まれる。いくつかの実施形態では、第１、第２、及び第３の核酸配列は、同じベクターに含まれる。いくつかの実施形態では、第１の核酸配列は、第１のプロモータの制御下にあり、第２の核酸配列は、第２のプロモータの制御下にあり、第３の核酸配列は、第３のプロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、第１、第２、及び第３のプロモータの一部（全てなど）は、同じ配列を有する。いくつかの実施形態では、第１、第２、及び第３のプロモータの一部（全てなど）は、異なる配列を有する。いくつかの実施形態では、第１、第２、及び第３の核酸配列の一部（全てなど）は、マルチシストロニックベクターにおける単一のプロモータの制御下で単一の転写物として発現する。例えば、Ｋｉｍ，ＪＨ，ｅｔ　ａｌ．，ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ　６（４）：ｅ１８５５６，２０１１を参照されたい。いくつかの実施形態では、プロモータのうちの１つ以上は、誘導性である。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３ポリペプチド鎖をコードしている核酸配列を制御するプロモータは、誘導性である（例えば、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲの活性化を通して誘導可能である）。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のプロモータである。

【０４７０】

遺伝子を細胞に導入及び発現させる方法は、当該技術分野において既知である。発現ベクターの状況において、ベクターは、当該技術分野における任意の方法によって、宿主細胞、例えば、哺乳類、細菌、酵母、又は昆虫の細胞に容易に導入することができる。例えば、発現ベクターは、物理的、化学的、又は生物学的手段によって宿主細胞に移入され得る。

【０４７１】

ポリヌクレオチドを宿主細胞に導入するための物理的方法としては、リン酸カルシウム沈殿、リポフェクション、微粒子銃、マイクロインジェクション、エレクトロポレーションなどが挙げられる。ベクター及び／又は外因性核酸を含む細胞を生成する方法は、当該技術分野において周知である。例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．（２００１，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ）を参照されたい。いくつかの実施形態では、宿主細胞へのポリヌクレオチドの導入は、リン酸カルシウムトランスフェクションによって行われる。

【０４７２】

対象となるポリヌクレオチドを宿主細胞に導入するための生物学的方法としては、ＤＮ

Ａ及びＲＮＡベクターの使用が挙げられる。ウイルスベクター、及び特にレトロウイルスベクターは、哺乳類、例えばヒト細胞に遺伝子を挿入する最も広く使用されている方法となっている。他のウイルスベクターは、レンチウイルス、ポックスウイルス、単純ヘルペスウイルス１、アデノウイルス、及びアデノ関連ウイルスなどに由来していてよい。例えば、米国特許第５，３５０，６７４号及び同第５，５８５，３６２号を参照されたい。

【０４７３】

ポリヌクレオチドを宿主細胞に導入するための化学的手段としては、巨大分子複合体、ナノカプセル、ミクロスフェア、ビーズなどのコロイド分散系、並びに水中油型エマルション、ミセル、混合ミセル、及びリポソームを含む脂質ベースの系が挙げられる。インビトロ及びインビボで送達ビヒクルとして使用するための例示的なコロイド系は、リポソーム（例えば、人工膜小胞）である。

【０４７４】

非ウイルス送達系が利用される場合、例示的な送達ビヒクルはリポソームである。（インビトロ、エクスビボ、又はインビボで）宿主細胞に核酸を導入するための脂質製剤の使用が想到される。別の態様では、核酸は脂質と関連付けられてもよい。脂質と関連付けられた核酸は、リポソームの水性内部に封入されていてもよく、リポソームの脂質二重層内に散在していてもよく、リポソーム及びオリゴヌクレオチドの両方に会合している連結分子を介してリポソームに結合していてもよく、リポソームに封入されていてもよく、リポソームと複合体化されていてもよく、脂質を含有する溶液中に分散していてもよく、脂質と混合されていてもよく、脂質と合わせられていてもよく、脂質中に懸濁物として含有されていてもよく、ミセルに含有されているか若しくは複合体化されていてもよく、又は他の方法で脂質と関連付けられていてもよい。脂質、脂質／ＤＮＡ、又は脂質／発現ベクター関連組成物は、溶液中の任意の特定の構造に限定されない。例えば、これらは、ミセルとして、又は「崩壊した」構造で二層構造中に存在していてよい。また、これらは、単に溶液中に散在していてもよく、場合によっては、サイズ又は形状が均一ではない凝集体を形成してもよい。脂質は、天然に生じる脂質であってもよく、合成脂質であってもよい脂肪質の物質である。例えば、脂質としては、細胞質中に天然に生じる脂肪液滴、並びに長鎖脂肪族炭化水素及びその誘導体、例えば、脂肪酸、アルコール、アミン、アミノアルコール、及びアルデヒドなどを含有する化合物の部類が挙げられる。

【０４７５】

外因性核酸を宿主細胞に導入するか又は他の方法で本発明の阻害剤に細胞を曝露するために使用される方法にかかわらず、宿主細胞中の組み換えＤＮＡ配列の存在を確認するために、様々なアッセイを実施してよい。このようなアッセイとしては、例えば、サザン及びノーザンブロッティング、ＲＴ－ＰＣＲ及びＰＣＲなどの、当業者に周知の「分子生物学的」アッセイ；例えば、免疫学的手段（ＥＬＩＳＡ及びウエスタンブロット）によって、又は本発明の範囲内に含まれる剤を同定するための本明細書に記載のアッセイによって、特定のペプチドの有無を検出することなどの「生化学的」アッセイが挙げられる。

抗ＧＰＣ３コンストラクト及び抗ＧＰＣ３抗体部分の調製

【０４７６】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト又は抗ＧＰＣ３抗体部分は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲであり、当該抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖ）は、モノクローナル抗体由来の配列を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、モノクローナル抗体由来のV_H及びV_Lドメイン、又はこれらの変異型を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、モノクローナル抗体由来のC_H1及びC_Lドメイン、又はこれらの変異型を更に含む。モノクローナル抗体は、例えば、Ｋｏｈｌｅｒ　ａｎｄ　Ｍｉｌｓｔｅｉｎ，Ｎａｔｕｒｅ，２５６：４９５（１９７５）及びＳｅｒｇｅｅｖａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ，１１７（１６）：４２６２－４２７２に記載されているものなどのハイブリドーマ法を使用して、本明細書及び以下の実施例に記載のファージデ

ィスプレイ法を使用して、又は組み換えＤＮＡ法（例えば、米国特許第４，８１６，５６７号を参照されたい）を使用して調製することができる。

【０４７７】

ハイブリドーマ法では、ハムスター、マウス、又は他の適切な宿主動物を、典型的には、免疫剤で免疫して、免疫剤に特異的に結合する抗体を産生するか又は産生することができるリンパ球を誘発する。あるいは、リンパ球をインビトロで免疫してもよい。免疫剤は、対象となるタンパク質のポリペプチド若しくは融合タンパク質、又はペプチド及びＭＨＣタンパク質を含む複合体などの少なくとも２つの分子を含む複合体を含んでいてよい。一般に、ヒト起源の細胞が望ましい場合は末梢血リンパ球（「ＰＢＬ」）を使用するか、又は非ヒト哺乳類起源が望ましい場合は脾臓細胞若しくはリンパ節細胞を使用する。その後、リンパ球を、好適な融合剤、例えばポリエチレングリコールを用いて不死化細胞株と融合し、ハイブリドーマ細胞を形成する。例えば、Ｇｏｄｉｎｇ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ（Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ：Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，１９８６），ｐｐ．５９－１０３を参照されたい。不死化細胞株は、通常、形質転換された哺乳類細胞、特に、げっ歯類、ウシ、及びヒト起源の骨髄腫細胞である。通常は、ラット又はマウス骨髄腫細胞株を用いる。ハイブリドーマ細胞は、好ましくは、未融合の不死化細胞の増殖又は生存を阻害する１つ以上の物質を含有する好適な培養培地で培養することができる。例えば、親細胞が、酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（ＨＧＰＲＴ又はＨＰＲＴ）を欠いている場合、ハイブリドーマ用の培養培地は、典型的には、ＨＧＰＲＴ欠損細胞の増殖を防ぐヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジンを含む（ＨＡＴ培地）。

【０４７８】

いくつかの実施形態では、不死化細胞株は、効率的に融合し、選択された抗体生成細胞による安定な高レベルの抗体発現を支援し、ＨＡＴ培地などの培地に対して感受性である。いくつかの実施形態では、不死化細胞株は、例えば、Ｓａｌｋ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ Ｃｅｌｌ Ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ Ｃｅｎｔｅｒ（Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ）及びＡｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（Ｍａｎａｓｓａｓ，Ｖｉｒｇｉｎｉａ）から入手することができるマウス骨髄腫株である。ヒトモノクローナル抗体を生成するためのヒト骨髄腫及びマウス－ヒトヘテロ骨髄腫細胞株も記載されている。Ｋｏｚｂｏｒ，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１３３：３００１（１９８４）；Ｂｒｏｄｅｕｒ ｅｔ ａｌ．Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．：Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８７）ｐｐ．５１－６３。

【０４７９】

次いで、ハイブリドーマ細胞が培養される培養培地を、ポリペプチドに対するモノクローナル抗体の存在についてアッセイすることができる。ハイブリドーマ細胞によって生成されたモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降法によって、又はラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）若しくは酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）などのインビトロ結合アッセイによって決定することができる。このような技術及びアッセイ法は、当該技術分野において既知である。モノクローナル抗体の結合親和性は、例えば、Ｍｕｎｓｏｎ ａｎｄ Ｐｏｌｌａｒｄ，Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，１０７：２２０（１９８０）のＳｃａｔｃｈａｒｄ分析によって決定することができる。

【０４８０】

所望のハイブリドーマ細胞を同定した後、限界希釈手順によってクローンをサブクローニングし、標準的な方法によって成長させることができる。Ｇｏｄｉｎｇ、上記。この目的に好適な培地としては、例えば、ダルベッコ改変イーグル培地及びＲＰＭＩ－１６４０培地が挙げられる。あるいは、ハイブリドーマ細胞を哺乳類において腹水としてインビボで成長させてもよい。

【０４８１】

サブクローンによって分泌されたモノクローナル抗体は、例えば、プロテインＡ－セフ

ァロース、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィ、ゲル電気泳動、透析、又はアフィニティクロマトグラフィなどの従来の免疫グロブリン精製手順によって、培養培地又は腹水から単離又は精製することができる。

【０４８２】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分を含む本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれかによれば、抗ＧＰＣ３抗体部分は、抗体部分ライブラリ（ｓｃＦｖ又はＦａｂ断片を提示するファージライブラリなど）から選択されるクローン由来の配列を含む。クローンは、所望の活性を有する抗体断片についてコンビナトリアルライブラリをスクリーニングすることによって同定され得る。例えば、ファージディスプレイライブラリを作製し、所望の結合特性を有する抗体についてこのようなライブラリをスクリーニングするための様々な方法が、当該技術分野において既知である。このような方法は、例えば、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ １７８：１－３７（Ｏ’Ｂｒｉｅｎ ｅｔ ａｌ．，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，Ｎ．Ｊ．，２００１）に概説されており、更に、例えば、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３４８：５５２－５５４；Ｃｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３５２：６２４－６２８（１９９１）；Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：５８１－５９７（１９９２）；Ｍａｒｋｓ ａｎｄ Ｂｒａｄｂｕｒｙ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ２４８：１６１－１７５（Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，Ｎ．Ｊ．，２００３）；Ｓｉｄｈｕ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３８（２）：２９９－３１０（２００４）；Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３４０（５）：１０７３－１０９３（２００４）；Ｆｅｌｌｏｕｓｅ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １０１（３４）：１２４６７－１２４７２（２００４）；及びＬｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２８４（１－２）：１１９－１３２（２００４）に記載されている。

【０４８３】

特定のファージディスプレイ方法では、V_H及びV_L遺伝子のレパートリーをポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）によって別々にクローニングし、ファージライブラリにおいてランダムに組み換え、次いで、Ｗｉｎｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１２：４３３－４５５（１９９４）に記載されているとおり、抗原結合ファージについてスクリーニングしてよい。ファージは、典型的には、ｓｃＦｖ断片又はＦａｂ断片のいずれかとして抗体断片をディスプレイする。免疫された起源由来のライブラリは、ハイブリドーマを構築する必要なしに、免疫原に対して高親和性の抗体を提供する。あるいは、Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ，１２：７２５－７３４（１９９３）によって記載されているとおり、ナイーブレパートリーを（例えば、ヒトから）クローニングして、全く免疫することなく、広範囲にわたる非自己抗原、また自己抗原に対する単一の抗体源を提供することもできる。最後に、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ａｎｄ Ｗｉｎｔｅｒ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２７：３８１－３８８（１９９２）によって記載されているとおり、幹細胞から再編成されていないＶ遺伝子セグメントをクローニングし、高度に可変性のＣＤＲ３領域をコードし、インビトロで再編成を達成するために、ランダム配列を含有するＰＣＲプライマーを使用することによって、ナイーブライブラリを合成的に作製することもできる。ヒト抗体ファージライブラリについて記載している特許公報としては、例えば、米国特許第５，７５０，３７３号、並びに米国特許公開第２００５／００７９５７４号、同第２００５／０１１９４５５号、同第２００５／０２６６０００号、同第２００７／０１１７１２６号、同第２００７／０１６０５９８号、同第２００７／０２３７７６４号、同第２００７／０２９２９３６号、及び同第２００９／０００２３６０号が挙げられる。

【０４８４】

抗ＧＰＣ３コンストラクトは、標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的な抗ＧＰＣ３抗体部分についてライブラリをスクリーニングするためにファ

ージディスプレイを使用して調製することができる。ライブラリは、少なくとも１×１０^{9}（少なくとも約１×１０^{9}、２．５×１０^{9}、５×１０^{9}、７．５×１０^{9}、１×１０^{10}、２．５×１０^{10}、５×１０^{10}、７．５×１０^{10}、又は１×１０^{11}のいずれかなど）の固有のヒト抗体断片の多様性を有するヒトｓｃＦｖファージディスプレイライブラリであってよい。いくつかの実施形態では、ライブラリは、ヒトＰＭＢＣから抽出されたＤＮＡ及び健常ドナー由来の脾臓から構築されたナイーブヒトライブラリであり、全てのヒト重鎖及び軽鎖サブファミリーを包含する。いくつかの実施形態では、ライブラリは、自己免疫疾患を有する患者、癌患者、及び感染性疾患を有する患者などの様々な疾患を有する患者から単離されたＰＢＭＣから抽出されたＤＮＡから構築されたナイーブヒトライブラリである。いくつかの実施形態では、ライブラリは、重鎖ＣＤＲ３が完全にランダム化され、全てのアミノ酸（システイン以外）が任意の所与の位置に同程度存在する半合成ヒトライブラリである（例えば、Ｈｏｅｔ，Ｒ．Ｍ．ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２３（３）：３４４－３４８，２００５を参照されたい）。いくつかの実施形態では、半合成ヒトライブラリの重鎖ＣＤＲ３は、約５～約２４（約５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３，又は２４のいずれかなど）アミノ酸長を有する。いくつかの実施形態では、ライブラリは、完全合成ファージディスプレイライブラリである。いくつかの実施形態では、ライブラリは、非ヒトファージディスプレイライブラリである。

【０４８５】

高い親和性で標的ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に結合するファージクローンは、固体支持体（例えば、溶液パニングのためのビーズ又は細胞パニングのための哺乳類細胞など）に結合している標的ＧＰＣ３にファージを繰り返し結合させ、続いて、非結合ファージを除去し、特異的に結合したファージを溶出することによって選択することができる。溶液パニングの一例では、固体支持体への固定化のためにＧＰＣ３ポリペプチドをビオチン化してもよい。ビオチン化ＧＰＣ３を、ファージライブラリ、及びストレプトアビジン結合ＤＹＮＡＢＥＡＤＳ（登録商標）Ｍ－２８０などの固体支持体と混合し、次いで、ＧＰＣ３－ファージ－ビーズ複合体を単離する。次いで、結合したファージクローンを溶出し、大腸菌ＸＬ１－Ｂｌｕｅなどの、発現及び精製に適した宿主細胞に感染させるために使用する。細胞パニングの一例では、細胞表面上でＧＰＣ３を過剰発現しているＳＫ－Ｈｅｐ１細胞をファージライブラリと混合した後、細胞を収集し、結合しているクローンを溶出し、発現及び精製に適した宿主細胞を感染させるために使用する（全て実施例を参照されたい）。標的ＧＰＣ３に特異的に結合するファージクローンを濃縮するために、溶液パニング、細胞パニング、又はこれらの両方の組み合わせを用いて、パニングを複数（約２、３、４、５、６、又はそれ以上のいずれかなど）ラウンド行ってよい。濃縮されたファージクローンは、例えば、ＥＬＩＳＡ及びＦＡＣＳを含む、当該技術分野において既知の任意の方法による標的ＧＰＣ３への特異的結合について試験することができる。

【０４８６】

モノクローナル抗体は、米国特許第４，８１６，５６７号に記載されているものなどの組み換えＤＮＡ方法によって作製することもできる。本発明のモノクローナル抗体をコードしているＤＮＡは、従来の手順を用いて容易に単離し、配列決定することができる（例えば、マウス抗体の重鎖及び軽鎖をコードしている遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）。上記のハイブリドーマ細胞又は本発明のＧＰＣ３特異的ファージクローンが、このようなＤＮＡの起源として機能することができる。単離されたら、ＤＮＡを発現ベクターに配置し、これを、組み換え宿主細胞においてモノクローナル抗体を合成させるために、サルＣＯＳ細胞、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、又は他に免疫グロブリンタンパク質を生成しない骨髄腫細胞などの宿主細胞にトランスフェクトする。また、例えば、相同非ヒト配列の代わりに、ヒト重鎖及び軽鎖定常ドメイン並びに／又はフレームワーク領域のコード配列で置き換えることによって（米国特許第４，８１６，５６７号；Ｍｏｒｒｉｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．上記）

、あるいは免疫グロブリンのコード配列に非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列の全て又は一部を共有結合させることによって、ＤＮＡを改変してもよい。このような非免疫グロブリンポリペプチドを、本発明の抗体の定常ドメインに置き換えてもよく、又はキメラ二価抗体を作製するために、本発明の抗体の１つの抗原結合部位の可変ドメインに置き換えてもよい。

【０４８７】

抗体は、一価抗体であってよい。一価抗体を調製する方法は、当該技術分野において既知である。例えば、１つの方法は、免疫グロブリン軽鎖及び改変重鎖の組み換え発現を含む。重鎖は、一般的に、重鎖の架橋を阻止するためにＦｃ領域の任意の点で切断される。あるいは、架橋を阻止するために関連するシステイン残基を別のアミノ酸で置換するか、又は欠失させる。

【０４８８】

一価抗体を調製するには、インビトロ法も好適である。抗体の断片、特にＦａｂ断片を生成するための消化は、当該技術分野において既知の任意の方法を用いて達成することができる。

【０４８９】

所望の結合特異性を有する抗体可変ドメイン（抗体－抗原結合部位）を、免疫グロブリン定常ドメイン配列に融合させてもよい。好ましくは、ヒンジ、ＣＨ２、及びＣＨ３領域の少なくとも一部を含む、免疫グロブリン重鎖定常ドメインと融合させる。いくつかの実施形態では、軽鎖結合に必要な部位を含む第１の重鎖定常領域（ＣＨ１）が、融合物の少なくとも１つに存在する。免疫グロブリン重鎖融合物、及び必要に応じて免疫グロブリン軽鎖をコードしているＤＮＡを、別々の発現ベクターに挿入し、好適な宿主生物にコトランスフェクトする。二重特異性抗体の生成についての更なる詳細は、例えば、Ｓｕｒｅｓｈ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ，１２１：２１０（１９８６）を参照されたい。

ヒト及びヒト化抗体

【０４９０】

抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３ ＣＡＲ又はｃａＴＣＲ）又は抗ＧＰＣ３抗体部分は、ヒト化抗体又はヒト抗体であってよい。非ヒト（例えば、マウス）抗体部分のヒト化型は、典型的には非ヒト免疫グロブリン由来の最小配列を含有する、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖、又はこれらの断片（例えば、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、ｓｃＦｖ、又は抗体の他の抗原結合サブ配列）である。ヒト化抗体部分は、レシピエントのＣＤＲ由来の残基が、所望の特異性、親和性、及び能力を有するマウス、ラット、又はウサギなどの非ヒト種（ドナー抗体）のＣＤＲ由来の残基によって置換されている、ヒト免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖、又はこれらの断片（レシピエント抗体）を含む。場合によっては、ヒト免疫グロブリンのＦｖフレームワーク残基が、対応する非ヒト残基で置換される。また、ヒト化抗体部分は、レシピエント抗体部分にも移入されたＣＤＲ若しくはフレームワーク配列にもみられない残基を含んでいてもよい。一般に、ヒト化抗体は、ＣＤＲ領域の全て又は実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンのものに対応しており、ＦＲ領域の全て又は実質的に全てがヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである、少なくとも１つ、典型的には２つの可変ドメインの実質的に全てを含み得る。例えば、Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３２１：５２２－５２５（１９８６）；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３３２：３２３－３２９（１９８８）；Ｐｒｅｓｔａ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．，２：５９３－５９６（１９９２）を参照されたい。

【０４９１】

一般的に、ヒト化抗体は、非ヒトである起源から導入された１つ以上のアミノ酸残基を有する。これらの非ヒトアミノ酸残基は、典型的には「移入」可変ドメインから取り込まれた「移入」残基と呼ばれることが多い。いくつかの実施形態によれば、ヒト化は、げっ歯類のＣＤＲ又はＣＤＲ配列をヒト抗体部分の対応する配列に置き換えることによって、

Ｗｉｎｔｅｒ及び共同研究者の方法（Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３２１：５２２－５２５（１９８６）；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３３２：３２３－３２７（１９８８）；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２３９：１５３４－１５３６（１９８８））に本質的に従って実施することができる。したがって、このような「ヒト化」抗体部分は、インタクトなヒト可変ドメインよりも実質的に小さなドメインが、非ヒト種由来の対応する配列によって置換されている抗体部分（米国特許第４，８１６，５６７号）である。実際には、ヒト化抗体部分は、典型的には、いくつかのＣＤＲ残基及び場合によってはいくつかのＦＲ残基が、げっ歯類抗体における類似部位由来の残基によって置換されているヒト抗体部分である。

【０４９２】

ヒト化に代わる手段として、ヒト抗体部分を生成してもよい。例えば、免疫時に、内因性免疫グロブリンが生成されていなくてもヒト抗体の完全なレパートリーを生成することができるトランスジェニック動物（例えば、マウス）を生成することが現在可能である。例えば、キメラ及び生殖系列変異体マウスにおける抗体重鎖連結領域（ＪＨ）遺伝子のホモ結合体欠失の結果、内因性抗体生成が完全に阻害されると記載されている。ヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子アレイをこのような生殖系列変異体マウスに移入すると、抗原チャレンジの際にヒト抗体が生成される。例えば、Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ ＵＳＡ，９０：２５５１（１９９３）；Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３６２：２５５－２５８（１９９３）；Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｙｅａｒ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌ．，７：３３（１９９３）；米国特許第５，５４５，８０６号、同第５，５６９，８２５号、同第５，５９１，６６９号、同第５，５４５，８０７号、及び国際公開第９７／１７８５２号を参照されたい。あるいは、ヒト免疫グロブリン遺伝子座を、内因性免疫グロブリン遺伝子が部分的に又は完全に不活性化されているトランスジェニック動物、例えば、マウスに導入することによって、ヒト抗体を作製することもできる。チャレンジの際、遺伝子の再編成、組み立て、及び抗体レパートリーを含む全ての点において、ヒトでみられるものとよく似たヒト抗体の生成が観察される。このアプローチは、例えば、米国特許第５，５４５，８０７号、同第５，５４５，８０６号、同第５，５６９，８２５号、同第５，６２５，１２６号、同第５，６３３，４２５号、及び同第５，６６１，０１６号、並びにＭａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，１０：７７９－７８３（１９９２）；Ｌｏｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３６８：８５６－８５９（１９９４）；Ｍｏｒｒｉｓｏｎ，Ｎａｔｕｒｅ，３６８：８１２－８１３（１９９４）；Ｆｉｓｈｗｉｌｄ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，１４：８４５－８５１（１９９６）；Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，１４：８２６（１９９６）；Ｌｏｎｂｅｒｇ ａｎｄ Ｈｕｓｚａｒ，Ｉｎｔｅｒｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１３：６５－９３（１９９５）に記載されている。

【０４９３】

また、ヒト抗体は、インビトロ活性化Ｂ細胞（米国特許第５，５６７，６１０号及び同第５，２２９，２７５号を参照されたい）によって、又はファージディスプレイライブラリを含む当該技術分野において既知の様々な技術を使用することによって生成してもよい。Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ａｎｄ Ｗｉｎｔｅｒ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２７：３８１（１９９１）；Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２２：５８１（１９９１）。Ｃｏｌｅら及びＢｏｅｒｎｅｒらの技術もまた、ヒトモノクローナル抗体の調製に利用可能である。Ｃｏｌｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ，ｐ．７７（１９８５）及びＢｏｅｒｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４７（１）：８６－９５（１９９１）。

【０４９４】

多重特異性抗体

【０４９５】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）は、多重特異性抗体（例えば、タンデムジｓｃＦｖ二重特異性抗ＧＰＣ３抗体）である。多重特異性（例えば、二重特異性）抗体を作製するための好適な方法は、当該技術分野において周知である。例えば、２つの免疫グロブリン重鎖／軽鎖対の共発現に基づく二重特異性抗体の生成であり、この場合、２つの対がそれぞれ異なる特異性を有し、会合時にヘテロ二量体抗体が生じる（例えば、Ｍｉｌｓｔｅｉｎ ａｎｄ Ｃｕｅｌｌｏ，Ｎａｔｕｒｅ，３０５：５３７－５３９（１９８３）；国際公開第９３／０８８２９号、及びＴｒａｕｎｅｃｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ．１０：３６５５（１９９１）を参照されたい）。免疫グロブリン重鎖及び軽鎖のランダムな組み合わせのため、これらのハイブリドーマ（クアドローマ）は、そのうちの１種のみが正しい二重特異性構造を有する、１０種の異なる抗体分子を含む可能性がある混合物を生成する。正しい分子の精製は、通常、親和性クロマトグラフィ工程によって達成される。同様の手順が、国際公開第９３／０８８２９号及びＴｒａｕｎｅｃｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ，１０：３６５５－３６５９（１９９１）に開示されている。あるいは、種が制限された対合（例えば、Ｌｉｎｄｈｏｆｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５５：２１９－２２５（１９９５）を参照されたい）を利用することによって、重鎖と軽鎖との組み合わせを方向づけることもでき、ＣＨ３ドメインの「ノブ・インツー・ホール」エンジニアリングを使用することによって、重鎖の対合を方向づけることもできる（例えば、米国特許第５，７３１，１６８号；Ｒｉｄｇｗａｙ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．，９（７）：６１７－６２１（１９９６）を参照されたい）。また、多重特異性抗体は、抗体Ｆｃ－ヘテロ二量体分子を作製するための静電的ステアリング効果を操作することによって作製することもできる（例えば、国際公開第２００９／０８９００４（Ａ１）号を参照されたい）。更に別の方法では、制御されたＦａｂアーム交換によって安定な二重特異性抗体を生成することもでき、この場合、異なる抗原特異性を有しかつＣＨ３ドメイン内の点変異が一致している２つの親抗体を、分離、再組み立て、及び再酸化を可能にする還元条件で混合して、高純度二重特異性抗体を形成する。Ｌａｂｒｉｇｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，１１０（１３）：５１４５－５１５０（２０１３）。重鎖／軽鎖対の混合物を含むこのような抗体は、本明細書では「ヘテロ多量体抗体」とも称される。

【０４９６】

異なる特異性を有する抗体又はその抗原結合断片は、多重特異性ヘテロコンジュゲート抗体を生成するために、化学的に架橋されてもよい。例えば、それぞれ異なる抗原に対する特異性を有する２つのＦ（ａｂ’）２分子を化学的に連結させてよい。Ｐｕｌｌａｒｋａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｔｒｅｎｄｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，４８：９－２１（１９９９）。例えば、免疫系細胞に不要な細胞を標的とさせるため（米国特許第４，６７６，９８０号）、及びＨＩＶ感染を治療するために、このような抗体が提案されている。国際公開第９１／００３６０号、国際公開第９２／２００３７３号、欧州特許第０３０８９号。架橋剤を含むものを含む合成タンパク質化学における既知の方法を用いて、インビトロで抗体を調製できることが想到される。例えば、ジスルフィド交換反応を用いて、又はチオエーテル結合を形成することによって、免疫毒素を構築することができる。この目的に好適な試薬の例としては、イミノチオオレート及びメチル－４－メルカプトブチルイミダート、並びに例えば米国特許第４，６７６，９８０号に開示されているものが挙げられる。

【０４９７】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗体は、組み換えＤＮＡ技術を使用して調製することができる。例えば、２つのｓｃＦｖを融合させて、例えば、ペプチドリンカーを介して融合させて、タンデムｓｃＦｖを得ることによって、二重特異性抗体を操作することができる。タンデムｓｃＦｖの一例は、二重特異性Ｔ細胞エンゲージャである。二重特異性Ｔ細胞エンゲージャは、抗ＣＤ３ ｓｃＦｖを、ＧＰＣ３などの標的細胞の表面抗原に特異的なｓｃＦｖに連結して、Ｔ細胞を標的細胞（例えば、ＨＣＣ細胞）に対してリダイレクトすることによって作製される。Ｍａｃｋ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａ

ｄ．Ｓｃｉ．，９２：７０２１－７０２５（１９９５）；Ｂｒｉｓｃｈｗｅｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，４３（８）：１１２９－１１４３（２００６）。２つの可変ドメイン間のペプチドリンカーの長さを短縮することにより、自己組織化を防ぎ、第２のポリペプチド上のドメインと強制的に対合させることができ、その結果、ダイアボディ（Ｄｂ）と呼ばれるコンパクトな二重特異性抗体が得られる。Ｈｏｌｌｉｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，９０：６４４４－６４４８（１９９３）。Ｄｂの２つのポリペプチドは、それぞれ、短すぎて同一鎖上の２つのドメイン間を対合させることができないリンカーによってV_Lに接続されたV_Hを含む。したがって、一方のポリペプチドのV_H及びＶＬドメインが、別のポリペプチドの相補的なV_L及びV_Hドメインと強制的に対合させられることによって、２つの抗原結合部位が形成される。このフォーマットの改変では、２つのポリペプチドが別のペプチドリンカーによって連結されて、単鎖ダイアボディ（ｓｃＤｂ）が得られる。Ｄｂフォーマットの更に別の改変では、場合により、所望のヘテロ二量体構造の組み立てを駆動するＣ末端システイン残基の前にドメインを含む、各ポリペプチドのＣ末端におけるシステイン残基間にジスルフィド結合を導入することによって、二重親和性リターゲティング（ＤＡＲＴ）二重特異性抗体を生成することができる。Ｖｅｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ Ｒｈｅｕｍ．，６２（７）：１９３３－１９４３（２０１０）。四価二重特異性抗体を生成するために、天然に生じるリンカーを介して２つのモノクローナル抗体の標的結合可変ドメインが組み合わせられた、二重可変ドメイン免疫グロブリン（ＤＶＤ－Ｉｇ（商標））も当該技術分野において既知である。Ｇｕ ａｎｄ Ｇｈａｙｕｒ，Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．，５０２：２５－４１（２０１２）。更に別のフォーマットでは、ヒトｃＡＭＰ依存性タンパク質キナーゼ（ＰＫＡ）の調節サブユニットに由来するペプチド（ＤＤＤ２）とヒトＡキナーゼアンカータンパク質（ＡＫＡＰ）のアンカリングドメインに由来するペプチド（ＡＤ２）との二量体化を利用することによって、ドック・アンド・ロック（ＤＮＬ）二重特異性抗体が調製される。Ｒｏｓｓｉ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，１０３：６８４１－６８４６（２００６）。

【０４９８】

二重特異性抗体断片を、組み換え細胞培養物から直接作製し、単離する様々な手法についても説明されている。例えば、二重特異性抗体は、ロイシンジッパーを用いて生成されている。Ｋｏｓｔｅｌｎｙ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４８（５）：１５４７－１５５３（１９９２）。この方法は、抗体ホモ二量体の生成にも利用することができる。

抗ＧＰＣ３変異型

【０４９９】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３完全長抗体）のアミノ酸配列変異型が想到される。例えば、抗体の結合親和性及び／又は他の生物学的特性を改善するのに望ましい場合がある。抗体をコードしているヌクレオチド配列に適切な修飾を導入することによって、又はペプチド合成によって、抗体のアミノ酸配列変異型を調製することができる。このような修飾としては、例えば、抗体のアミノ酸配列内の残基からの欠失及び／又は当該残基への挿入及び／又は当該残基の置換が挙げられる。最終コンストラクトが所望の特徴、例えば、抗原結合を有する限り、欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせを施して最終コンストラクトに到達させることができる。

【０５００】

いくつかの実施形態では、１つ以上のアミノ酸置換を有する抗ＧＰＣ３抗体変異型が提供される。置換突然変異誘発の対象となる部位としては、ＨＶＲ及びＦＲが挙げられる。対象となる抗体にアミノ酸置換を導入し、生成物を所望の活性、例えば、抗原結合の保持／改善、免疫原性の低減、又はＡＤＣＣ若しくはＣＤＣの改善についてスクリーニングしてよい。

【０５０１】

同類置換を以下の表２に示す。

【表２】

表２：同類置換

元の 残基	例示的な 置換	好ましい 置換
アラニン（Ａ）	バリン、ロイシン、イソロイシン	バリン
アルギニン（Ｒ）	リジン、グルタミン、アスパラギン	リジン
アスパラギン（Ｎ）	グルタミン、ヒスチジン、アスパラギン酸、リジン、アルギニン	グルタミン
アスパラギン酸（Ｄ）	グルタミン酸、アスパラギン	グルタミン酸
システイン（Ｃ）	セリン、アラニン	セリン
グルタミン（Ｑ）	アスパラギン、グルタミン酸	アスパラギン
グルタミン酸（Ｅ）	アスパラギン酸、グルタミン	アスパラギン酸
グリシン（Ｇ）	アラニン	アラニン
ヒスチジン（Ｈ）	アスパラギン、グルタミン、リジン、アルギニン	アルギニン
イソロイシン（Ｉ）	ロイシン、バリン、メチオニン、アラニン、フェニルアラニン、ノルロイシン	ロイシン
ロイシン（Ｌ）	ノルロイシン、イソロイシン、バリン、メチオニン、アラニン、 フェニルアラニン	イソロイシン
リジン（Ｋ）	アルギニン、グルタミン、アスパラギン	アルギニン
メチオニン（Ｍ）	ロイシン、フェニルアラニン、イソロイシン	ロイシン
フェニルアラニン（Ｆ）	トリプトファン、ロイシン、バリン、イソロイシン、アラニン、チロシン	チロシン
プロリン（Ｐ）	アラニン	アラニン
セリン（Ｓ）	スレオニン	スレオニン
スレオニン（Ｔ）	バリン、セリン	セリン
トリプトファン（Ｗ）	チロシン、フェニルアラニン	チロシン
チロシン（Ｙ）	トリプトファン、フェニルアラニン、スレオニン、セリン	フェニルアラニン
バリン（Ｖ）	イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、アラニン、 ノルロイシン	ロイシン

【０５０２】

アミノ酸は、共通側鎖特性に従って異なるクラスに分類することができる：

ａ．疎水性：ノルロイシン、メチオニン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン；

ｂ．中性親水性：システイン、セリン、スレオニン、アスパラギン、グルタミン；

ｃ．酸性：アスパラギン酸、グルタミン酸；

ｄ．塩基性：ヒスチジン、リジン、アルギニン；

ｅ．鎖の配向に影響を与える残基：グリシン、プロリン；

ｆ．芳香族：トリプトファン、チロシン、フェニルアラニン。

【０５０３】

非保存的置換は、これらの分類のうち１つのメンバーを別の分類に交換することを伴う。

【０５０４】

例示的な置換変異型は、親和性成熟抗体部分であり、これは、例えば、ファージディスプレイベースの親和性成熟技術を使用して好都合に生成することができる。簡潔に述べると、１つ以上のＣＤＲ残基を変異させ、変異型抗体部分をファージにディスプレイさせ、特定の生物活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングする。例えば、抗体部分の親和性を改善するために、ＨＶＲにおいて改変（例えば、置換）を行ってよい。このような改変は、ＨＶＲ「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟プロセス中に高頻度で変異を受けるコドンによってコードされている残基（例えば、Ｃｈｏｗｄｈｕｒｙ，Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２０７：１７９－１９６（２００８）を参照されたい）及び／又は特異性決定残基（ＳＤＲ）で行ってよく、得られる変異型V_H又はV_Lを結合親和性について試験する。二次ライブラリを構築及び再選択することによる親和性成熟は、例えば、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ｅｔ ａｌ．ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ １７８：１－３７（Ｏ’Ｂｒｉｅｎ ｅｔ ａｌ．，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，（２００１））に記載されている。

【０５０５】

親和性成熟のいくつかの実施形態では、様々な方法（例えば、誤りがちなＰＣＲ、チェインシャフリング、又はオリゴヌクレオチド指定突然変異誘発）のいずれかによって成熟

のために選択されたバリアブル遺伝子に多様性が導入される。次いで、二次ライブラリを作製する。次いで、ライブラリをスクリーニングして、所望の親和性を有する任意の抗体部分変異型を同定する。多様性を導入する別の方法は、いくつかのＨＶＲ残基（例えば、一度に４～６残基）をランダム化する、ＨＶＲを対象とするアプローチを含む。抗原結合に関与するＨＶＲ残基は、例えば、アラニンスキャニング変異誘発又はモデリングを用いて特異的に同定され得る。特にＣＤＲ－Ｈ３及びＣＤＲ－Ｌ３が標的とされる場合が多い。

【０５０６】

いくつかの実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、このような変更が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低下させない限り、１つ以上のＨＶＲ内に存在していてよい。例えば、結合親和性を実質的に低下させない同類変更（例えば、本明細書で提供される同類置換）を、ＨＶＲにおいて行ってよい。このような変更は、ＨＶＲ「ホットスポット」又はＳＤＲの外側であってもよい。上に提供された変異型ＶＨ及びＶＬ配列のいくつかの実施形態では、各ＨＶＲは、変更されていないか、又は１、２、若しくは３個以下のアミノ酸置換を含む。

【０５０７】

変異誘発の標的とされ得る抗体の残基又は領域を同定する有用な方法は、Ｃｕｎｎｉｎｇｈａｍ ａｎｄ Ｗｅｌｌｓ（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４４：１０８１－１０８５に記載されているとおり、「アラニンスキャニング突然変異誘発」と呼ばれる。この方法では、残基又は標的残基の群（例えば、アルギニン、アスパラギン酸、ヒスチジン、リジン、及びグルタミン酸などの荷電残基）を同定し、中性又は負荷電アミノ酸（例えば、アラニン又はポリアラニン）によって置換して、抗体と抗原との相互作用に影響を及ぼすかどうかを判定する。初期置換に対して機能的感受性を示すアミノ酸位置に、更なる置換を導入してもよい。あるいは又は更に、抗原－抗体複合体の結晶構造を決定して、抗体と抗原との間の接触点を同定することができる。このような接触残基及び隣接残基を、置換の候補として標的化してもよく、排除してもよい。変異型をスクリーニングして、所望の特性を有するかどうかを判定することができる。

【０５０８】

アミノ酸配列挿入として、１つの残基から１００以上の残基を含むポリペプチドまで長さに幅がある、アミノ及び／又はカルボキシル末端融合、並びに、単一若しくは複数のアミノ酸残基の配列内挿入が挙げられる。末端挿入の例としては、Ｎ末端メチオニル残基を有する抗体が挙げられる。抗体分子のその他の挿入変異体として、酵素に対する抗体のＮ末端又はＣ末端への融合（例えば、ＡＤＥＰＴ向け）又は、抗体の血清半減期を延長するポリペプチドが挙げられる。

Ｆｃ領域変異型

【０５０９】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される完全長抗ＧＰＣ３抗体又は抗ＧＰＣ３Ｆｃ融合タンパク質のＦｃ領域に１つ以上のアミノ酸改変を導入し、それによってＦｃ領域変異型を生成することができる。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域変異型は、多くの場合Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）への結合に関連する、増強されたＡＤＣＣエフェクタ機能を有する。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域変異型は、低下したＡＤＣＣエフェクタ機能を有する。エフェクタ機能を変化させることができるＦｃ配列に対する変更又は変異の例が多く存在する。例えば、国際公開第００／４２０７２号及びＳｈｉｅｌｄｓ ｅｔ ａｌ．Ｊ Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．９（２）：６５９１－６６０４（２００１）には、ＦｃＲへの結合が改善又は減少した抗体変異型について記載されている。これらの刊行物の内容は、参照することにより具体的に本明細書に組み込まれる。

【０５１０】

抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）は、腫瘍細胞に対する治療抗体の作用機序である。ＡＤＣＣは、細胞媒介性免疫防御であり、それによって、免疫系のエフェクタ細胞が、その膜表面抗原が特異的抗体（例えば、抗ＧＰＣ３抗体）により結合している標的細胞（例えば、癌細胞）を能動的に溶解する。典型的なＡＤＣＣは、抗体によるＮＫ細胞

の活性化を伴う。ＮＫ細胞は、Ｆｃ受容体であるＣＤ１６を発現する。この受容体は、標的細胞の表面に結合している抗体のＦｃ部分を認識し、結合する。ＮＫ細胞の表面上の最も一般的なＦｃ受容体は、ＣＤ１６又はＦｃγＲＩＩＩと呼ばれる。抗体のＦｃ領域にＦｃ受容体が結合した結果、ＮＫ細胞が活性化し、細胞溶解性顆粒が放出され、結果として、標的細胞のアポトーシスとなる。ＡＤＣＣの腫瘍細胞殺傷への寄与は、高親和性ＦｃＲでトランスフェクトされたＮＫ－９２細胞を使用する特異的試験で測定することができる。結果を、ＦｃＲを発現しない野生型ＮＫ－９２細胞と比較する。

【０５１１】

いくつかの実施形態では、本発明は、全てではないがいくつかのエフェクタ機能を保有しており、これによって、インビボにおける抗ＧＰＣ３コンストラクトの半減期が重要であるが、特定のエフェクタ機能（ＣＤＣ及びＡＤＣＣなど）は不必要であるか又は有害である用途にとって望ましい候補となる、Ｆｃ領域を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト変異型（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト変異型など）を想到する。ＣＤＣ及び／又はＡＤＣＣの活性の低減／枯渇を確認するために、インビトロ及び／又はインビボ細胞傷害性アッセイを実施してよい。例えば、抗体がＦｃγＲ結合を欠いている（したがって、ＡＤＣＣ活性を欠いている可能性が高い）が、ＦｃＲｎ結合能力を保持していることを保証するために、Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）結合アッセイを実施してよい。ＡＤＣＣを媒介する主要な細胞であるＮＫ細胞は、ＦｃγＲＩＩＩのみを発現するが、単球は、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、及びＦｃγＲＩＩＩを発現する。造血細胞におけるＦｃＲ発現は、Ｒａｖｅｔｃｈ ａｎｄ Ｋｉｎｅｔ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．９：４５７－４９２（１９９１）の４６４ページの表３にまとめられている。対象となる分子のＡＤＣＣ活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定的な例は、米国特許第５，５００，３６２号（例えば、Ｈｅｌｌｓｔｒｏｍ，Ｉ．ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８３：７０５９－７０６３（１９８６）を参照されたい）及びＨｅｌｌｓｔｒｏｍ，Ｉ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８２：１４９９－１５０２（１９８５）；米国特許第５，８２１，３３７号（Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎ，Ｍ．ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１６６：１３５１－１３６１（１９８７）を参照されたい）に記載されている。あるいは、非放射アッセイ法を用いてもよい（例えば、フローサイトメトリーのためのＡＣＴＩ（商標）非放射細胞傷害性アッセイ（ＣｅｌｌＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．（Ｍｏｕｎｔａｉｎ Ｖｉｅｗ，Ｃａｌｉｆ．）；及びＣｙｔｏＴｏｘ ９６（商標）非放射細胞傷害性アッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ（Ｍａｄｉｓｏｎ，Ｗｉｓ．）を参照されたい）。このようなアッセイに有用なエフェクタ細胞としては、末梢血単核球（ＰＢＭＣ）及びナチュラルキラー（ＮＫ）細胞が挙げられる。あるいは又は更に、インビボ、例えば、Ｃｌｙｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９５：６５２－６５６（１９９８）に開示されているものなどの動物モデルにおいて、対象となる分子のＡＤＣＣ活性を評価してもよい。また、抗体がＣ１ｑに結合することができず、したがってＣＤＣ活性を欠いていることを確認するためにＣ１ｑ結合アッセイを実施してもよい。例えば、国際公開第２００６／０２９８７９号及び同第２００５／１００４０２号におけるＣ１ｑ及びＣ３ｃ結合ＥＬＩＳＡを参照されたい。補体活性化を評価するために、ＣＤＣアッセイを実施してもよい（例えば、Ｇａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔｏｒｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２０２：１６３（１９９６）；Ｃｒａｇｇ，Ｍ．Ｓ．ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ １０１：１０４５－１０５２（２００３）；及びＣｒａｇｇ，Ｍ．Ｓ．ａｎｄ Ｍ．Ｊ．Ｇｌｅｎｎｉｅ，Ｂｌｏｏｄ １０３：２７３８－２７４３（２００４）を参照されたい）。当該技術分野において既知の方法（例えば、Ｐｅｔｋｏｖａ，Ｓ．Ｂ．ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔ’ｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８（１２）：１７５９－１７６９（２００６）を参照されたい）を使用して、ＦｃＲｎ結合及びインビボクリアランス／半減期決定を実施してもよい。

【０５１２】

エフェクタ機能の低減した抗体としては、Ｆｃ領域残基２３８、２６５、２６９、２７０、２９７、３２７、及び３２９のうちの１つ以上の置換を有するものが挙げられる（米

国特許第６，７３７，０５６号）。このようなＦｃ変異体としては、残基２６５及び２９７がアラニンに置換されている、いわゆる「ＤＡＮＡ」Ｆｃ変異体を含む、アミノ酸位置２６５、２６９、２７０、２９７、及び３２７のうちの２つ以上に置換を有するＦｃ変異体が挙げられる（米国特許第７，３３２，５８１号）。

【０５１３】

ＦｃＲに対する結合が改善又は減少した特定の抗体変異型が記載されている。（例えば、米国特許第６，７３７，０５６号、国際公開第２００４／０５６３１２号、及びＳｈｉｅｌｄｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．９（２）：６５９１－６６０４（２００１）を参照されたい）。

【０５１４】

いくつかの実施形態では、ＡＤＣＣを改善する１つ以上のアミノ酸置換を含む変異型Ｆｃ領域を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質、完全長抗ＧＰＣ３抗体など）変異型が提供される。いくつかの実施形態では、変異型Ｆｃ領域は、ＡＤＣＣを改善する１つ以上のアミノ酸置換を含み、当該置換は、変異型Ｆｃ領域の２９８、３３３、及び／又は３３４位に存在する（残基のＥＵ付番）。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、完全長抗ＧＰＣ３抗体）変異型は、その変異型Ｆｃ領域において以下のアミノ酸置換：Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、及びＫ３３４Ａを含む。

【０５１５】

いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域が変更され、その結果、例えば、米国特許第６，１９４，５５１号、国際公開第９９／５１６４２号、及びＩｄｕｓｏｇｉｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６４：４１７８－４１８４（２０００）に記載されているとおり、Ｃ１ｑ結合及び／又は補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）が変化する（すなわち、改善又は減少のいずれか）。

【０５１６】

いくつかの実施形態では、半減期を増大させる及び／又は新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）への結合を改善する１つ以上のアミノ酸置換を含む変異型Ｆｃ領域を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質、完全長抗ＧＰＣ３抗体など）変異型が提供される。半減期が増大し、ＦｃＲｎに対する結合が改善された抗体は、米国特許出願公開第２００５／００１４９３４（Ａ１）号（Ｈｉｎｔｏｎら）に記載されている。これらの抗体は、Ｆｃ領域のＦｃＲｎへの結合を改善する１つ以上の置換を有するＦｃ領域を含む。このようなＦｃ変異型としては、Ｆｃ領域残基：２３８、２５６、２６５、２７２、２８６、３０３、３０５、３０７、３１１、３１２、３１７、３４０、３５６、３６０、３６２、３７６、３７８、３８０、３８２、４１３、４２４、又は４３４のうちの１つ以上に置換を有するもの、例えば、Ｆｃ領域残基４３４の置換（米国特許第７，３７１，８２６号）を有するものが挙げられる。

【０５１７】

また、Ｆｃ領域変異型の他の例に関しては、Ｄｕｎｃａｎ　＆　Ｗｉｎｔｅｒ，Ｎａｔｕｒｅ　３２２：７３８－４０（１９８８）；米国特許第５，６４８，２６０号；同第５，６２４，８２１号；及び国際公開第９４／２９３５１号を参照されたい。

【０５１８】

本明細書に記載のＦｃ変異型のいずれか又はその組み合わせを含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質、完全長抗ＧＰＣ３抗体など）が想到される。

グリコシル化変異型

【０５１９】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質、完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、抗ＧＰＣ３コンストラクトがグリコシル化される程度が増大又は低減するように変更される。グリコシル化部位の抗ＧＰＣ３コンストラクトへの付加又は欠失

は、１つ以上のグリコシル化部位が生成又は除去されるように、抗ＧＰＣ３コンストラクト又はそのポリペプチド部分のアミノ酸配列を変化させることによって好都合に達成され得る。

【０５２０】

抗ＧＰＣ３コンストラクトがＦｃ領域を含む場合、それに結合している炭水化物を変更してもよい。哺乳類細胞によって生成されるネイティブ抗体は、典型的には、Ｆｃ領域のＣＨ２ドメインのＡｓｎ２９７へのＮ結合によって一般的に結合されている分枝状二分岐オリゴ糖を含む。例えば、Ｗｒｉｇｈｔ　ｅｔ　ａｌ．，ＴＩＢＴＥＣＨ　１５：２６－３２（１９９７）を参照されたい。オリゴ糖は、様々な炭水化物、例えば、マンノース、Ｎ－アセチルグルコサミン（ＧｌｃＮＡｃ）、ガラクトース、及びシアル酸、並びに二分岐オリゴ糖構造の「ステム」内のＧｌｃＮＡｃに結合しているフコースを含み得る。いくつかの実施形態では、特定の改善された特性を有する抗ＧＰＣ３コンストラクト変異体を作製するために、本発明の抗ＧＰＣ３コンストラクトにおけるオリゴ糖の修飾を行ってよい。

【０５２１】

ＦｃのＣＨ２ドメインに結合しているＮ－グリカンは、不均質である。ＣＨＯ細胞で生成された抗体又はＦｃ融合タンパク質は、フコシルトランスフェラーゼ活性によってフコシル化される。Ｓｈｏｊｉ－Ｈｏｓａｋａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．２００６，１４０：７７７－８３を参照されたい。通常、天然に生じるアフコシル化ＩｇＧのうちのほんのわずかな割合しかヒト血清中で検出することができない。ＦｃのＮ－グリコシル化は、ＦｃγＲへの結合にとって重要であり、Ｎ－グリカンのアフコシル化は、ＦｃγＲＩＩＩａへのＦｃの結合能力を増大させる。ＦｃγＲＩＩＩａ結合の増加は、ＡＤＣＣを増強することができ、このことは、細胞傷害が望ましい特定の抗体治療用途において有利であり得る。

【０５２２】

いくつかの実施形態では、増強されたエフェクタ機能は、Ｆｃ媒介性細胞傷害が望ましくない場合には有害であり得る。いくつかの実施形態では、Ｆｃ断片又はＣＨ２ドメインはグリコシル化されていない。いくつかの実施形態では、ＣＨ２ドメイン内のＮ－グリコシル化部位は、グリコシル化を阻止するように変異される。

【０５２３】

いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域に結合している炭水化物構造のフコースが減少しているか又はフコースを欠いており、これによって、ＡＤＣＣ機能を改善することができるＦｃ領域を含む、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質、完全長抗ＧＰＣ３抗体など）変異型が提供される。具体的には、野生型ＣＨＯ細胞で生成された同じ抗ＧＰＣ３コンストラクトにおけるフコースの量に対して減少したフコース（fusose）を有する抗ＧＰＣ３コンストラクトが本明細書で想到される。すなわち、ネイティブＣＨＯ細胞（例えば、ネイティブＦＵＴ８遺伝子を含有するＣＨＯ細胞などのネイティブグリコシル化パターンを生成するＣＨＯ細胞）によって生成される場合よりも少ない量のフコースを有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、そのＮ－結合グリカンの約５０％、４０％、３０％、２０％、１０％、又は５％未満がフコースを含むものである。例えば、このような抗ＧＰＣ３コンストラクト中のフコースの量は、１％～８０％、１％～６５％、５％～６５％、又は２０％～４０％であってよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、そのＮ－結合グリカンがいずれもフコースを含まない、すなわち、抗ＧＰＣ３コンストラクトが完全にフコースなしであるか、又はフコースを有さないか、又はアフコシル化されているものである。フコースの量は、例えば国際公開第２００８／０７７５４６号に記載されているように、ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ質量分析によって測定したとき、Ａｓｎ２９７に結合している全ての糖構造（例えば、複合体、ハイブリッド、及び高マンノース構造）の合計に対する、Ａｓｎ２９７における糖鎖内のフコースの平均量を計算することによって決定される。Ａｓｎ２９７は、Ｆｃ領域内の約２９７位（Ｆｃ領域残基のＥＵ付番）に位置するアスパラギン残基を指す。しかしながら、Ａｓｎ２９７は、

抗体におけるわずかな配列多様性に起因して、２９７位の約±３アミノ酸上流又は下流、すなわち、２９４位と３００位との間に位置していてもよい。このようなフコシル化変異型は、改善されたＡＤＣＣ機能を有し得る。例えば、米国特許出願公開第２００３／０１５７１０８号（Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ）；同第２００４／００９３６２１号（Ｋｙｏｗａ Ｈａｋｋｏ Ｋｏｇｙｏ Ｃｏ．，Ｌｔｄ）を参照されたい。「デフコシル化」又は「フコース欠損」抗体変異型に関する刊行物の例としては、米国特許出願公開第２００３／０１５７１０８号、国際公開第２０００／６１７３９号、同第２００１／２９２４６号、米国特許出願公開第２００３／０１１５６１４号、同第２００２／０１６４３２８号、同第２００４／００９３６２１号、同第２００４／０１３２１４０号、同第２００４／０１１０７０４号、同第２００４／０１１０２８２号、同第２００４／０１０９８６５号、国際公開第２００３／０８５１１９号、同第２００３／０８４５７０号、同第２００５／０３５５８６号、同第２００５／０３５７７８号、同第２００５／０５３７４２号、同第２００２／０３１１４０号、Ｏｋａｚａｋｉ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３６：１２３９－１２４９（２００４）、Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉ ｅｔ ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．８７：６１４（２００４）が挙げられる。デフコシル化抗体を生成することができる細胞株の例としては、タンパク質のフコシル化が欠損しているＬｅｃ１３ ＣＨＯ細胞（Ｒｉｐｋａ ｅｔ ａｌ．Ａｒｃｈ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．２４９：５３３－５４５（１９８６）；米国特許出願公開第２００３／０１５７１０８（Ａ１）号、Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ；及び国際公開第２００４／０５６３１２（Ａ１）号、Ａｄａｍｓら、特に実施例１１）、及びノックアウト細胞株、例えば、α－１，６－フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、ＦＵＴ８、ノックアウトＣＨＯ細胞（例えば、Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉ ｅｔ ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．８７：６１４（２００４）；Ｋａｎｄａ，Ｙ．ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｂｉｏｅｎｇ．，９４（４）：６８０－６８８（２００６）；及び国際公開第２００３／０８５１０７号を参照されたい）が挙げられる。

【０５２４】

例えば、抗ＧＰＣ３コンストラクトのＦｃ領域に結合している二分岐オリゴ糖がＧｌｃＮＡｃによって二分されている二分オリゴ糖を有する抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質、完全長抗ＧＰＣ３抗体など）変異型が更に提供される。このような抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質、完全長抗ＧＰＣ３抗体など）変異型は、減少したフコシル化及び／又は改善されたＡＤＣＣ機能を有し得る。このような抗体変異型の例は、例えば、国際公開第２００３／０１１８７８号（Ｊｅａｎ－Ｍａｉｒｅｔら）；米国特許第６，６０２，６８４号（Ｕｍａｎａら）；米国特許出願公開第２００５／０１２３５４６号（Ｕｍａｎａら）、及びＦｅｒｒａｒａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｂｉｏｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，９３（５）：８５１－８６１（２００６）に記載されている。Ｆｃ領域に結合しているオリゴ糖中に少なくとも１つのガラクトース残基を有する抗ＧＰＣ３コンストラクト（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）変異型も提供される。このような抗ＧＰＣ３コンストラクト変異型は、改善されたＣＤＣ機能を有し得る。このような抗体変異型は、例えば、国際公開第１９９７／３００８７号（Ｐａｔｅｌら）、同第１９９８／５８９６４号（Ｒａｊｕ，Ｓ．）；及び同第１９９９／２２７６４号（Ｒａｊｕ，Ｓ．）に記載されている。

【０５２５】

いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質、完全長抗ＧＰＣ３抗体など）変異型は、ＦｃγＲＩＩＩに結合することができる。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質、完全長抗ＧＰＣ３抗体など）変異型は、ヒトエフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞）の存在下でＡＤＣＣ活性を有する、又はヒト野生型ＩｇＧ１Ｆｃ領域を含むこと以外は同じ抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コン

ストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質、完全長抗ＧＰＣ３抗体など）と比べて、ヒトエフェクタ細胞の存在下で増大したＡＤＣＣ活性を有する。

システイン改変変異型

【０５２６】

いくつかの実施形態では、１つ以上のアミノ酸残基がシステイン残基で置換された、システイン改変抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質、完全長抗ＧＰＣ３抗体など）を作製することが望ましい場合がある。いくつかの実施形態では、置換される残基は、抗ＧＰＣ３コンストラクトのアクセス可能な部位に生じる。これらの残基をシステインで置換することにより、反応性チオール基が抗ＧＰＣ３コンストラクトのアクセス可能な部位に配置され、本明細書で更に説明するように、抗ＧＰＣ３コンストラクトを薬物部分又はリンカー薬物部分などの他の部分に複合体化させて、抗ＧＰＣ３免疫複合体を作製するために使用することができる。システイン改変抗ＧＰＣ３コンストラクト（完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、例えば、米国特許第７，５２１，５４１号に記載されているように生成することができる。

誘導体

【０５２７】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３－Ｆｃ融合タンパク質、完全長抗ＧＰＣ３抗体など）は、当該技術分野において既知であり、容易に入手可能な更なる非タンパク質性部分を含有するように更に改変されてもよい。抗ＧＰＣ３コンストラクトの誘導体化に好適な部分としては、水溶性ポリマーが挙げられるが、これらに限定されない。水溶性ポリマーの非限定例として、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ－１，３－ジオキソラン、ポリ－１，３，６－トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマー又はランダムコポリマーのいずれか）、及びデキストラン又はポリ（ｎ－ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールホモポリマー（propropylene glycol homopolymers）、ポリプロピレンオキシド（prolypropylene）／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール、及びこれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、その水中安定性から、製造における利点を有し得る。ポリマーは、任意の分子量であってよく、分枝型又は非分枝型であってよい。抗ＧＰＣ３コンストラクトに結合されるポリマー数は変動し得、１つより多いポリマーが結合する場合、それらは同一の分子であっても異なる分子であってもよい。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数及び／又は種類は、改善される抗ＧＰＣ３コンストラクトの特定の特性又は機能、抗ＧＰＣ３コンストラクト誘導体を規定の条件下で治療に使用するかどうかが挙げられるが、これらに限定されない考慮事項に基づいて決定することができる。

【０５２８】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、完全長抗ＧＰＣ３抗体など）と放射線への曝露によって選択的に加熱され得る非タンパク質性部分との複合体が提供される。いくつかの実施形態では、非タンパク質性部分は、カーボンナノチューブである（Ｋａｍ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １０２：１１６００－１１６０５（２００５））。放射線は、任意の波長であってよく、通常の細胞は害しないが、抗ＧＰＣ３コンストラクト－非タンパク質性部分に近接する細胞は殺傷される温度まで非タンパク質性部分を加熱する波長が挙げられるが、これらに限定されない。

ＣＡＲエフェクタ細胞及びｃａＴＣＲエフェクタ細胞の調製

【０５２９】

本発明は、一態様では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現するエフェクタ細胞（リンパ球、例

えばＴ細胞など）を提供する。抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ（抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞などの抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞）を発現するエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を調製する例示的な方法が、本明細書に提供される。

【０５３０】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ（例えば、抗ＧＰＣ３抗体部分並びにＣＤ２８及びＣＤ３ζの細胞内シグナル配列を含むＣＡＲ）を含むベクター（例えば、レンチウイルスベクターを含む）をエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）に導入することによって生成することができる。いくつかの実施形態では、本発明の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）は、インビボで複製することができるので、その結果、ＧＰＣ３陽性疾患（癌、例えば、ＨＣＣなど）の持続的管理をもたらし得る長期存続性が得られる。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）を含むベクター（例えば、レンチウイルスベクターを含む）をエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）に導入することによって、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）は、本明細書に記載の多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子を更に発現する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子をコードしている核酸は、同じベクターに含まれる。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子をコードしている核酸は、誘導性プロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子の発現は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲの活性化を介して誘導可能である。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のプロモータである。

【０５３１】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞は、抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現する（本明細書では「抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞」とも称される）。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞は、抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ＣＤ３ζ及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内ドメインと、を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞は、抗ＧＰＣ３抗体部分と、本明細書に記載の多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）を含む抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現する。本発明の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞は、ロバストなインビボＴ細胞増殖を受けることができ、血液及び骨髄中で長期間にわたって高レベルで存続するＧＰＣ３特異的メモリ細胞を樹立することができる。いくつかの実施形態では、患者に注入された本発明の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞は、ＧＰＣ３陽性疾患を有する患者においてインビボでＧＰＣ３$^{+}$癌細胞（例えば、ＨＣＣ細胞）などのＧＰＣ３$^{+}$細胞を排除することができる。

【０５３２】

本発明は、別の態様では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現するエフェクタ細胞（リンパ球、例えばＴ細胞など）を提供する。抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ（抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞などの抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞）を発現するエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を調製する例示的な方法が、本明細書に提供される。

【０５３３】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）は、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを含むベクター（例えば、レンチウイルスベクターを含む）をエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）に導入することによって生成することができる。いくつかの実施形態では、本発明の抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）は、インビボで複製することができるので、その結果、ＧＰＣ３陽性疾患（癌、例えば、ＨＣＣなど）の持続的管理をもたらし得る長期存続性が得られる。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）を含むベクター（例えば、レンチウイルスベクターを含

む）をエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）に導入することによって、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）は、本明細書に記載の多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子を更に発現する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子をコードしている核酸は、同じベクターに含まれる。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子をコードしている核酸は、誘導性プロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子の発現は、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲの活性化を介して誘導可能である。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のプロモータである。

【０５３４】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞は、抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現する（本明細書では「抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞」とも称される）。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞は、抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含む抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現し、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子の動員を促進する。いくつかの実施形態では、ＴＣＲ－ＴＭは、αβＴＣＲ又はγδＴＣＲに由来する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞は、抗ＧＰＣ３抗体部分と、本明細書に記載の多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）を含む抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現する。本発明の抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞は、ロバストなインビボＴ細胞増殖を受けることができ、血液及び骨髄中で長期間にわたって高レベルで存続するＧＰＣ３特異的メモリ細胞を樹立することができる。いくつかの実施形態では、患者に注入された本発明の抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞は、ＧＰＣ３陽性疾患を有する患者においてインビボでＧＰＣ３$^{+}$癌細胞（例えば、ＨＣＣ細胞）などのＧＰＣ３$^{+}$細胞を排除することができる。

【０５３５】

いくつかの実施形態では、本発明は、リンパ球注入を使用してＧＰＣ３陽性疾患を有するか又はＧＰＣ３陽性疾患を有するリスクのある患者を治療するために、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現する遺伝子操作されたＴ細胞又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現する遺伝子操作されたＴ細胞を投与することに関する。いくつかの実施形態では、自己リンパ球注入が、治療に使用される。治療を必要としている患者から自己ＰＢＭＣを回収し、本明細書に記載されており、当該技術分野において既知の方法を使用してＴ細胞を活性化及び増殖させ、次いで、患者に注入し戻す。

【０５３６】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞は、均一に細胞表面に分布している抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞は、均一に細胞表面に分布している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現する。均一な細胞表面分布は、例えば、連続的な外観及び均一な厚さ又はシグナル強度を有する染色パターンによって特徴付けることができる。例えば、いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞（又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞）を含む医薬組成物などの組成物は、細胞表面上で抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ（又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ）が凝集している細胞を約１０％未満（約１０、９、８、７、６、５、４、３、２、又は１％未満など）含む。凝集は、例えば、不均一な厚さ若しくはシグナル強度を有する染色パターン、又は非連続的な、塊の多い、点状の、及び／若しくは不均一な分布パターンによって特徴付けることができる。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞は、細胞表面上の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲの約１０％未満（約１０、９、８、７、６、５、４、３、２、又は１％未満など）が凝集している抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞は、細胞表面上の抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲの約１０％未満（約１０、９、８、７、６、５、４、３、２、又は１％未満など）が凝集している抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣ

Ｒを発現する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞は、低レベルの抗原非依存性抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ活性化を有する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞は、低レベルの抗原非依存性抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ活性化を有する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞は、低レベルのＴ細胞疲弊を有する。Ｔ細胞疲弊は、癌又は慢性感染症などの長期にわたる免疫活性化の状態の間に天然に生じ、この場合、Ｔ細胞が機能不全になる。Ｔ細胞疲弊は、エフェクタ機能障害、阻害受容体の長期発現、及び／又は機能的エフェクタ若しくはメモリＴ細胞と比べて変化した転写状態によって特徴付けることができる。腫瘍細胞及び感染の最適なクリアランスは、Ｔ細胞疲弊によって防止される。抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞のＴ細胞疲弊は、当該技術分野において既知の任意の手段によって、例えば、その機能的及び／又は表現型プロファイルを決定することによって特徴付けることができる（Ｗｈｅｒｒｙ，Ｅ．Ｊ．，Ｎａｔｕｒｅ　ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ１２（６）：４９２－４９９，２０１１；Ｊｉａｎｇ，Ｙ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ　ｄｅａｔｈ　＆　ｄｉｓｅａｓｅ６（６）：ｅ１７９２，２０１５）。例えば、いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞は、例えば、ＰＤ－１、ＬＡＧ－３、ＴＩＭ－３、ＣＴＬＡ－４、ＢＴＬＡ、及びＴＩＧＩＴを含むＴ細胞疲弊の１つ以上のマーカーを低レベルで発現する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞は、ＩＬ－２産生、ＴＮＦα産生、ＩＦＮγ産生、及びグランザイムＢ産生のために疲弊していないＴ細胞に特徴的なレベルを維持しており、並びに／又は標的細胞の存在下におけるエクスビボ殺傷能力を維持しており、このことは、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞が自己活性化及び早期疲弊を経験していないことを示唆している。

【０５３７】

Ｔ細胞の増殖及び遺伝子改変の前に、被験体からＴ細胞源を得る。Ｔ細胞は、末梢血単核球、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位からの組織、腹水、胸水、脾臓組織、及び腫瘍を含む多数の源から得ることができる。本発明のいくつかの実施形態では、当該技術分野において利用可能な任意の数のＴ細胞株を使用することができる。本発明のいくつかの実施形態では、Ｆｉｃｏｌｌ（商標）分離などの当業者に既知の任意の数の技術を使用して、被験体から採取された血液のユニットからＴ細胞を得ることができる。いくつかの実施形態では、個体の循環血液由来の細胞は、アフェレーシスによって得られる。アフェレーシス生成物は、典型的には、Ｔ細胞、単球、顆粒球、Ｂ細胞、他の有核白血球、赤血球、及び血小板を含むリンパ球を含有する。いくつかの実施形態では、アフェレーシスによって回収された細胞を洗浄して血漿画分を除去し、後続の処理工程に適した緩衝液又は培地中に細胞を入れてよい。いくつかの実施形態では、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）で細胞を洗浄する。いくつかの実施形態では、洗浄溶液はカルシウムを含まず、マグネシウムを含んでいなくてもよく、又は全てではないが多くの二価カチオンを含んでいなくてもよい。洗浄工程は、製造業者の指示に従って半自動化「フロースルー」遠心分離器（例えば、Ｃｏｂｅ　２９９１細胞プロセッサ、Ｂａｘｔｅｒ　ＣｙｔｏＭａｔｅ、又はＨａｅｍｏｎｅｔｉｃｓ　Ｃｅｌｌ　Ｓａｖｅｒ　５）を使用することによるなど、当該技術分野において既知の方法によって達成され得ることを、当業者であれば容易に理解するであろう。洗浄後、Ca^{2+}フリー、Mg^{2+}フリーＰＢＳ、ＰｌａｓｍａＬｙｔｅＡ、又は緩衝剤を有する若しくは有さない他の生理食塩水溶液などの様々な生体適合性緩衝液中に細胞を再懸濁させてもよい。あるいは、アフェレーシスサンプルの望ましくない成分を除去し、細胞を培養培地に直接再懸濁させてもよい。

【０５３８】

いくつかの実施形態では、赤血球を溶解し、単球を枯渇させることによって、例えば、ＰＥＲＣＯＬＬ（商標）勾配を介した遠心分離によって又は向流遠心溶出によって、末梢血リンパ球からＴ細胞を単離する。$CD3^{+}$、$CD28^{+}$、$CD4^{+}$、$CD8^{+}$、ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$、及びＣＤ４５ＲＯ$^{+}$Ｔ細胞などのＴ細胞の特定の亜集団を、正又は負の選択技術によって更に単離することができる。例えば、いくつかの実施形態では、所望のＴ細胞の

正の選択に十分な時間にわたって、抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８（すなわち、３×２８）コンジュゲートビーズ、例えば、ＤＹＮＡＢＥＡＤＳ（登録商標）Ｍ－４５０　ＣＤ３／ＣＤ２８Ｔと共にインキュベートすることによって、Ｔ細胞を単離する。いくつかの実施形態では、当該時間は、約３０分間である。いくつかの実施形態では、当該時間は、３０分間～３６時間以上の範囲、及びこれらの間の全ての整数値である。いくつかの実施形態では、当該時間は、少なくとも１、２、３、４、５、又は６時間である。いくつかの実施形態では、当該時間は、１０～２４時間である。いくつかの実施形態では、インキュベーション時間は、２４時間である。白血病患者からＴ細胞を単離する場合、２４時間などのより長いインキュベーション時間を使用することによって、細胞収量を増加させることができる。例えば、腫瘍組織又は免疫不全個体から腫瘍浸潤リンパ球（ＴＩＬ）を単離する際など、他の細胞型と比べてＴ細胞がわずかしか存在しない任意の状況でＴ細胞を単離するために、より長いインキュベーション時間を使用してよい。更に、より長いインキュベーション時間を使用すると、ＣＤ８$^+$Ｔ細胞の捕捉効率を高めることができる。したがって、Ｔ細胞をＣＤ３／ＣＤ２８ビーズに結合させる時間を単に短縮又は延長することによって、及び／又はビーズのＴ細胞に対する比を増加又は減少させることによって、培養開始時若しくはプロセス中の他の時点で、Ｔ細胞の亜集団を正又は負に（for or against）優先的に選択することができる。更に、ビーズ又は他の表面上の抗ＣＤ３抗体及び／又は抗ＣＤ２８抗体の比を増加又は減少させることによって、培養開始時若しくはプロセス中の他の所望の時点で、Ｔ細胞の亜集団を正又は負に優先的に選択することができる。当業者であれば、本発明の状況において、複数の選択ラウンドを使用してもよいことを認識するであろう。いくつかの実施形態では、選択手順を実施し、活性化及び増殖プロセスにおいて「選択されなかった」細胞を使用することが望ましい場合がある。「選択されなかった」細胞を更なる選択ラウンドに供してもよい。

【０５３９】

負の選択によるＴ細胞集団の濃縮は、負に選択された細胞に固有の表面マーカーに対する抗体の組み合わせを用いて達成することができる。１つの方法は、負に選択された細胞上に存在する細胞表面マーカーに対するモノクローナル抗体のカクテルを使用する、陰性磁気免疫付着又はフローサイトメトリーを介した細胞選別及び／又は選択である。例えば、負の選択によってＣＤ４＋細胞を濃縮するために、モノクローナル抗体カクテルは、典型的には、ＣＤ－１４、ＣＤ２０、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ－１６、ＨＬＡ－ＤＲ、及びＣＤ８に対する抗体を含む。いくつかの実施形態では、典型的には、ＣＤ４$^+$、ＣＤ２５$^+$、ＣＤ６２Ｌｈｉ、ＧＩＴＲ$^+$、及びＦｏｘＰ３$^+$を発現する調節性Ｔ細胞を濃縮又は正に選択することが望ましい場合がある。あるいは、いくつかの実施形態では、抗ＣＤ２５コンジュゲートビーズ又は他の同様の選択方法によって、調節性Ｔ細胞を枯渇させる。

【０５４０】

正又は負の選択によって所望の集団の細胞を単離するために、細胞及び表面（例えば、ビーズなどの粒子）の濃度を変化させてもよい。いくつかの実施形態では、細胞とビーズを確実に最大限接触させるために、ビーズと細胞が一緒に混合される体積を著しく減少させる（すなわち、細胞の濃度を増加させる）ことが望ましい場合がある。例えば、いくつかの実施形態では、約２０億細胞／ｍＬの濃度が使用される。いくつかの実施形態では、約１０億細胞／ｍＬの濃度が使用される。いくつかの実施形態では、約１億細胞／ｍＬ超が使用される。いくつかの実施形態では、約１０００、１５００、２０００、２５００、３０００、３５００、４０００、４５００、又は５０００万細胞／ｍＬのいずれかの細胞濃度が使用される。いくつかの実施形態では、約７５００、８０００、８５００、９０００、９５００万、又は１億細胞／ｍＬのいずれかの細胞濃度が使用される。いくつかの実施形態では、約１億２５００万又は約１億５０００万細胞／ｍＬの濃度が使用される。高濃度を使用すると、細胞収量、細胞活性化、及び細胞増殖を増加させることができる。更に、高い細胞濃度の使用によって、ＣＤ２８陰性Ｔ細胞などの対象とする標的抗原を弱く発現し得るか、又は多くの腫瘍細胞が存在するサンプル（すなわち、白血病血液、腫瘍組織など）に由来する細胞をより効率的に捕捉することが可能になる。このような細胞集団

は、治療的価値を有している場合があり、入手することが望ましい。例えば、高濃度の細胞を使用することにより、通常ＣＤ２８発現の弱いＣＤ８＋Ｔ細胞をより効率的に選択することが可能になる。

【０５４１】

本発明のいくつかの実施形態では、Ｔ細胞は、治療直後に患者から得られる。これに関連して、特定の癌治療後、特に、免疫系に損傷を与える薬物による治療後、患者が通常治療から回復する期間中の治療直後に、得られるＴ細胞の品質が、エクスビボで増殖する能力に関して最適であり得る又は改善され得ることが観察されている。同様に、本明細書に記載の方法を使用したエクスビボ操作後、これらの細胞は、増強された生着及びインビボ増殖にとって好ましい状態であり得る。したがって、この回復期の間にＴ細胞、樹状細胞、又は造血系の他の細胞を含む血液細胞を回収することが、本発明の状況内で想到される。更に、いくつかの実施形態では、可動化（例えば、ＧＭ－ＣＳＦによる可動化）及びコンディショニングレジメンを使用して、特に治療後の規定の時間枠の間に、特定の細胞型の再増殖、再循環、再生、及び／又は増殖に好都合な、被験体における状態を作り出すことができる。例示的な細胞型としては、Ｔ細胞、Ｂ細胞、樹状細胞、及び免疫系の他の細胞が挙げられる。

【０５４２】

所望の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現する（いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子を更に共発現する）のがＴ細胞の遺伝子改変の前であろうと後であろうと、一般に、例えば、米国特許第６，３５２，６９４号、同第６，５３４，０５５号、同第６，９０５，６８０号、同第６，６９２，９６４号、同第５，８５８，３５８号、同第６，８８７，４６６号、同第６，９０５，６８１号、同第７，１４４，５７５号、同第７，０６７，３１８号、同第７，１７２，８６９号、同第７，２３２，５６６号、同第７，１７５，８４３号、同第５，８８３，２２３号、同第６，９０５，８７４号、同第６，７９７，５１４号、同第６，８６７，０４１号、及び米国特許出願公開第２００６０１２１００５号に記載されている方法を使用して、Ｔ細胞を活性化及び増殖させることができる。

【０５４３】

一般的に、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体関連シグナルを刺激する剤及びＴ細胞の表面上の共刺激分子を刺激するリガンドが結合している表面と接触させることによって、本発明のＴ細胞を増殖させる。具体的には、抗ＣＤ３抗体、若しくはその抗原結合断片、又は表面上に固定化された抗ＣＤ３抗体と接触させることによって、あるいはカルシウムイオノフォアと合わせてタンパク質キナーゼＣ活性化因子（例えば、ブリオスタチン）と接触させることによって、Ｔ細胞集団を刺激することができる。Ｔ細胞の表面上のアクセサリ分子の共刺激については、アクセサリ分子に結合するリガンドが使用される。例えば、Ｔ細胞の増殖を刺激するのに適した条件下で、Ｔ細胞の集団を抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体と接触させてよい。ＣＤ４＋Ｔ細胞又はＣＤ８＋Ｔ細胞のいずれかの増殖を刺激するために、抗ＣＤ３抗体、及び抗ＣＤ２８抗体。抗ＣＤ２８抗体の例としては、９．３、Ｂ－Ｔ３、ＸＲＲ－ＣＤ２８（Ｄｉａｃｌｏｎｅ，Ｂｅｓａｎｃｏｎ，Ｆｒａｎｃｅ）が挙げられ、当該技術分野において一般的に知られている他の方法（Ｂｅｒｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔ　Ｐｒｏｃ．３０（８）：３９７５－３９７７，１９９８；Ｈａａｎｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１９０（９）：１３１９１３２８，１９９９；Ｇａｒｌａｎｄ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈ．２２７（１－２）：５３－６３，１９９９）のように使用してよい。

免疫複合体の調製

【０５４４】

抗ＧＰＣ３免疫複合体は、当該技術分野において既知の任意の方法を用いて調製することができる。例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２００９／０６７８００号、同第２０１１／１３３８８６号、及び米国特許出願公開第２０１４３２２１２９号を参照されたい。

【０５４５】
抗ＧＰＣ３免疫複合体の抗ＧＰＣ３抗体部分は、抗ＧＰＣ３抗体部分をエフェクタ分子と会合又は連結させることができる任意の手段によって、エフェクタ分子に「結合」させることができる。例えば、抗ＧＰＣ３免疫複合体の抗ＧＰＣ３抗体部分は、化学的又は組み換え的手段によってエフェクタ分子に結合させてもよい。融合物又は複合体を調製するための化学的手段は、当該技術分野において既知であり、抗ＧＰＣ３免疫複合体を調製するために使用することができる。抗ＧＰＣ３抗体部分及びエフェクタ分子を複合体化するために使用される方法は、標的細胞上の抗原に結合する結合タンパク質の能力に干渉することなく、結合タンパク質をエフェクタ分子と接合させることができなければならない。
【０５４６】
抗ＧＰＣ３免疫複合体の抗ＧＰＣ３抗体部分は、エフェクタ分子に間接的に連結させてもよい。例えば、抗ＧＰＣ３免疫複合体の抗ＧＰＣ３抗体部分を、数種のうちの１種のエフェクタ分子を含有するリポソームに直接連結させてもよい。エフェクタ分子及び／又は抗ＧＰＣ３抗体部分を、固体表面に結合させてもよい。
【０５４７】
いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３免疫複合体の抗ＧＰＣ３抗体部分及びエフェクタ分子は両方ともタンパク質であり、当該技術分野において周知の技術を用いて複合体化することができる。２つのタンパク質を複合体することができる、利用可能な数百の架橋剤が存在する。（例えば、「Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｃｏｎｊｕｇａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｃｒｏｓｓｌｉｎｋｉｎｇ」．１９９１，Ｓｈａｎｓ Ｗｏｎｇ，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，Ａｎｎ Ａｒｂｏｒを参照されたい）。架橋剤は、一般に、抗ＧＰＣ３抗体部分及び／又はエフェクタ分子上で利用可能又は挿入される反応性官能基に基づいて選択される。更に、反応性基が存在しない場合、光活性化可能な架橋剤を使用してもよい。特定の例では、抗ＧＰＣ３抗体部分とエフェクタ分子との間にスペーサを含むことが望ましい場合がある。当該技術分野において既知の架橋剤としては、ホモ二官能性剤：グルタルアルデヒド、ジメチルアジピミテート、及びビス（ジアザベンジジン）、並びにヘテロ二官能性剤：ｍマレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド及びスルホ－ｍマレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドが挙げられる。
【０５４８】
いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３免疫複合体の抗ＧＰＣ３抗体部分は、エフェクタ分子の化学的結合のために特定の残基で遺伝子操作されてもよい。当該技術分野で既知の分子の化学的結合に使用される特定の残基としては、リジン及びシステインが挙げられる。架橋剤は、抗ＧＰＣ３抗体部分上に挿入され、エフェクタ分子上で利用可能な反応性官能基に基づいて選択される。
【０５４９】
また、抗ＧＰＣ３免疫複合体は、組み換えＤＮＡ技術を使用して調製することもできる。このような場合、抗ＧＰＣ３抗体部分をコードしているＤＮＡ配列を、エフェクタ分子をコードしているＤＮＡ配列に融合させて、キメラＤＮＡ分子を得る。キメラＤＮＡ配列を、融合タンパク質を発現する宿主細胞にトランスフェクトする。融合タンパク質を細胞培養物から回収し、当該技術分野において既知の技術を用いて精製することができる。
【０５５０】
標識であるエフェクタ分子を結合タンパク質に結合させる例としては、Ｈｕｎｔｅｒ，ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ １４４：９４５（１９６２）；Ｄａｖｉｄ，ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ １３：１０１４（１９７４）；Ｐａｉｎ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈ．４０：２１９（１９８１）；Ｎｙｇｒｅｎ，Ｊ．Ｈｉｓｔｏｃｈｅｍ．ａｎｄ Ｃｙｔｏｃｈｅｍ．３０：４０７（１９８２）；Ｗｅｎｓｅｌ ａｎｄ Ｍｅａｒｅｓ，Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏｉｍａｇｉｎｇ Ａｎｄ Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ，Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．（１９８３）；及びＣｏｌｃｈｅｒ ｅｔ ａｌ．，「Ｕｓｅ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｓ Ｒａｄｉｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ ｆｏｒ ｔｈｅ Ｌｏｃａｌｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ

Ｈｕｍａｎ Ｃａｒｃｉｎｏｍａ Ｘｅｎｏｇｒａｆｔｓ ｉｎ Ａｔｈｙｍｉｃ Ｍｉｃｅ」，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．，１２１：８０２－１６（１９８６）に記載されている方法が挙げられる。

【０５５１】

既知の方法で、放射標識又は他の標識を免疫複合体に組み込んでもよい。例えば、ペプチドは、生合成してもよく、又は例えば水素の代わりにフッ素－１９を含む好適なアミノ酸前駆体を使用して、化学的アミノ酸合成によって合成してもよい。^{99}Ｔｃ又は^{123}Ｉ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、及び^{111}Ｉｎなどの標識は、ペプチド中のシステイン残基を介して結合させることができる。イットリウム－９０は、リジン残基を介して結合させることができる。ＩＯＤＯＧＥＮ法（Ｆｒａｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．８０：４９－５７（１９７８））を使用して、ヨウ素－１２３を組み込むことができる。「Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｓｃｉｎｔｉｇｒａｐｈｙ」（Ｃｈａｔａｌ，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ １９８９）には、他の方法が詳細に記載されている。

【０５５２】

抗ＧＰＣ３抗体部分及び細胞傷害性剤の免疫複合体は、Ｎ－スクシンイミジル－３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート（ＳＰＤＰ）、スクシンイミジル－４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート（ＳＭＣＣ）、イミノチオラン（ＩＴ）、イミドエステルの二官能性誘導体（アジプイミド酸ジメチルＨＣＩなど）、活性エステル（スベリン酸ジサクシンイミジルなど）、アルデヒド（グルタルアルデヒドなど）、ビスアジド化合物（ビス（ｐ－アジドベンゾイル）ヘキサンジアミン）、ビス－ジアゾニウム誘導体（ビス－（ｐ－ジアゾニウムベンゾイル）－エチレンジアミンなど）、ジイソシアネート（トルエン２，６－ジイソシアネートなど）、及びビス－活性フッ素化合物（１，５－ジフルオロ－２，４－ジニトロベンゼンなど）などの様々な二官能性タンパク質カップリング剤を使用して作製することができる。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。炭素－１４で標識された１－イソチオシアナトベンジル－３－メチルジエチレントリアミン五酢酸（tnaminepentaacetic acid）（ＭＸ－ＤＴＰＡ）は、放射性ヌクレオチドを抗体と複合体化させるための例示的なキレート剤である。例えば、国際公開第９４／１１０２６号を参照されたい。リンカーは、細胞内の細胞傷害性薬の放出を促進する「切断可能なリンカー」であってもよい。例えば、酸不安定性リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、光解離性リンカー、ジメチルリンカー、又はジスルフィド含有リンカー（Ｃｈａｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ５２：１２７－１３１（１９９２）；米国特許第５，２０８，０２０号）を使用してよい。

【０５５３】

本発明の抗ＧＰＣ３免疫複合体は、（例えば、Ｐｉｅｒｃｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．（Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ，Ｕ．Ｓ．Ａ．）から）市販されている架橋剤試薬：ＢＭＰＳ、ＥＭＣＳ、ＧＭＢＳ、ＨＢＶＳ、ＬＣ－ＳＭＣＣ、ＭＢＳ、ＭＰＢＨ、ＳＢＡＰ、ＳＩＡ、ＳＩＡＢ、ＳＭＣＣ、ＳＭＰＢ、ＳＭＰＨ、スルホ－ＥＭＣＳ、スルホ－ＧＭＢＳ、スルホ－ＫＭＵＳ、スルホ－ＭＢＳ、スルホ－ＳＩＡＢ、スルホ－ＳＭＣＣ、及びスルホ－ＳＭＰＢ、及びＳＶＳＢ（スクシンイミジル－（４－ビニルスルホン）ベンゾエート）を用いて調製されるＡＤＣを明示的に想到するが、これに限定されない。２００３－２００４ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ Ｈａｎｄｂｏｏｋ ａｎｄ Ｃａｔａｌｏｇの４６７～４９８ページを参照されたい。

医薬組成物

【０５５４】

また、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）、当該コンストラクトをコードしている核酸、当該コンストラクトをコードしている当該核酸を含むベクター、当該核酸若しくは当該ベクターを含む宿主細胞、又は当該核酸若しくは当該ベクターを含むエフェクタ細胞を含む組成物（医薬組成物など、本明細書では製剤とも

称される）も本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、組成物は、抗ＧＰＣ３コンストラクトに会合する細胞（エフェクタ細胞、例えばＴ細胞など）を更に含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトと、場合により医薬的に許容される担体と、を含む医薬組成物が提供される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、抗ＧＰＣ３コンストラクトに会合する細胞（エフェクタ細胞、例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞など）を更に含む。

【０５５５】

抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）の好適な製剤は、所望の純度を有する抗ＧＰＣ３コンストラクトを、凍結乾燥製剤又は水溶液の形態である任意選択の医薬的に許容される担体、賦形剤又は安定剤（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ １６ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．Ｅｄ．（１９８０））と混合することによって得られる。許容される担体、賦形剤、又は安定剤は、使用される投薬量及び濃度においてレシピエントに対して非毒性であり、以下を含む：リン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸などの緩衝剤；アスコルビン酸及びメチオニンを含む抗酸化剤；防腐剤（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチル、又はベンジルアルコール；メチル又はプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；３－ペンタノール、及びｍ－クレゾールなど）；低分子量（約１０残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、若しくは免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドン（olyvinylpyrrolidone）などの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、若しくはリジンなどのアミノ酸；グルコース、マンノース、若しくはデキストリンを含む単糖類、二糖類、及び他の炭水化物；ＥＤＴＡなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース、若しくはソルビトールなどの糖；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えば、Ｚｎ－タンパク質複合体）；並びに／又はＴＷＥＥＮ（商標）、ＰＬＵＲＯＮＩＣＳ（商標）、又はポリエチレングリコール（ＰＥＧ）などの非イオン性界面活性剤。例示的な製剤は、参照により本明細書に明示的に組み込まれる国際公開第９８／５６４１８号に記載されている。皮下投与に適合した凍結乾燥製剤は、国際公開第９７／０４８０１号に記載されている。このような凍結乾燥製剤を、好適な希釈剤を用いて高タンパク質濃度に再構成してよく、再構成された製剤を、本明細書で治療される個体に皮下投与してよい。リポフェクチン又はリポソームを使用して、本発明の抗ＧＰＣ３コンストラクトを細胞に送達することができる。

【０５５６】

また、本明細書における製剤は、治療される具体的な適応症に必要な場合、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）に加えて１つ以上の活性化合物、好ましくは、互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を有するものを含有していてもよい。例えば、抗ＧＰＣ３コンストラクトに加えて、抗新生物薬、成長阻害剤、細胞傷害性剤、又は化学療法剤を更に提供することが望ましい場合がある。このような分子は、意図する目的に有効な量の組み合わせで好適に存在する。このような他の剤の有効量は、製剤中に存在する抗ＧＰＣ３コンストラクトの量、疾患又は障害又は治療の種類、及び上述の他の要因に依存する。これらは、一般に、本明細書に記載されるのと同じ投薬量及び投与経路で、又は従来使用されている投薬量の約１～９９％で使用される。

【０５５７】

また、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）は、例えば、コアセルベーション技術又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又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）マイクロカプセルに、コロイド薬物送達系（例えば、リポソーム、アルブミンミクロスフェア、マイクロエマルション、ナノ粒子、及びナノカプセル）に、又はマクロエマルションに封入してもよい。このような技術は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ １６ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ

，Ａ．Ｅｄ．（１９８０）に開示されている。持続放出性製剤を調製してもよい。
【０５５８】
抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）の持続放出性調製品を調製することができる。好適な持続放出性調製品の例としては、抗体（又はその断片）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、このマトリックスは、成形品、例えば、フィルム又はマイクロカプセルの形態である。持続放出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）又はポリ（ビニルアルコール））、ポリ乳酸（米国特許第３，７７３，９１９号）、Ｌ－グルタミン酸とエチル－Ｌ－グルタミン酸とのコポリマー、非分解性エチレン－酢酸ビニル、ＬＵＰＲＯＮ　ＤＥＰＯＴ（商標）（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可能なミクロスフェア）などの分解性乳酸－グリコール酸コポリマー、及びポリ－Ｄ－（－）－３－ヒドロキシ酪酸が挙げられる。エチレン－酢酸ビニル及び乳酸－グリコール酸などのポリマーは、１００日間超にわたる分子の放出を可能にするが、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。封入された抗体が長期にわたって体内に残存すると、３７℃で水分に曝露された結果変性又は凝集して、生物活性が喪失し、免疫原性が変化する可能性がある。関与する機序に応じて、抗ＧＰＣ３コンストラクトを安定化するための合理的ストラテジーを考案することができる。例えば、凝集機序がチオ－ジスルフィド交換を介した分子間Ｓ－Ｓ結合形成であることが見出された場合、スルフヒドリル残基を修飾し、酸性溶液から凍結乾燥し、適切な添加剤を使用して含水量を制御し、特定のポリマーマトリックス組成物を開発することによって、安定化を達成することができる。
【０５５９】
いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）は、クエン酸塩、ＮａＣｌ、酢酸塩、コハク酸塩、グリシン、ポリソルベート８０（Ｔｗｅｅｎ　８０）、又は前述の任意の組み合わせを含む緩衝液中で製剤化される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、約１００ｍＭ～約１５０ｍＭグリシンを含む緩衝液中で製剤化される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、約５０ｍＭ～約１００ｍＭ　ＮａＣｌを含む緩衝液中で製剤化される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、約１０ｍＭ～約５０ｍＭ酢酸塩を含む緩衝液中で製剤化される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、約１０ｍＭ～約５０ｍＭコハク酸塩を含む緩衝液中で製剤化される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、約０．００５％～約０．０２％ポリソルベート８０を含む緩衝液中で製剤化される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、約５．１～５．６のｐＨを有する緩衝液中で製剤化される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、１０ｍＭクエン酸塩、１００ｍＭ　ＮａＣｌ、１００ｍＭグリシン、及び０．０１％ポリソルベート８０を含む緩衝液中で製剤化され、製剤はｐＨ５．５である。
【０５６０】
インビボ投与に使用される製剤は、無菌でなければならない。これは、例えば、滅菌濾過膜に通すた濾過によって容易に達成される。
抗ＧＰＣ３コンストラクトを使用する治療方法
【０５６１】
本発明の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）及び／又は組成物は、例えば癌（肝細胞癌（ＨＣＣ）など）を含む、異常に高いＧＰＣ３発現を伴う疾患及び／又は障害（本明細書では「ＧＰＣ３陽性」疾患又は障害とも称される）を治療するために、個体（例えば、ヒトなどの哺乳類）に投与することができる。したがって、本出願は、いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（癌など）を治療する方法であって、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つなどの、抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクトを含む有効量の組成物（医薬組成物など）を当該個体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、

組成物は、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ）に関連する細胞（エフェクタ細胞、例えばＴ細胞など）を更に含む。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（癌など）を治療する方法であって、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）を含む有効量の組成物（医薬組成物など）を当該個体に投与することを含み、当該抗ＧＰＣ３コンストラクトの発現が、エフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞）上のシグナル伝達受容体（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）を介したシグナル伝達の際に誘導可能である方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（癌など）を治療する方法であって、エフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞）を含む有効量の組成物（医薬組成物など）を当該個体に投与することを含み、当該エフェクタ細胞が、エフェクタ細胞シグナル伝達受容体（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）の活性化を介して抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現を誘導する方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸は、シグナル伝達受容体（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）活性化依存性プロモータなどの誘導性プロモータに動作可能に連結される。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ－Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞である。

【０５６２】

いくつかの実施形態では、癌は、例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、及び脂肪肉腫からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、癌は、ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌は、肝細胞癌であり、治療することは、癌の広がりを予防すること、例えば、癌の転移を阻害（予防など）することを含む。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。

【０５６３】

例えば、いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を治療する方法であって、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、完全長抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、多重特異性分子（例えば、二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ＣＡＲ又はｃａＴＣＲである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、免疫複合体である。いくつかの実施形態では、組成物は、抗ＧＰＣ３コンストラクトに会合する細胞（エフェクタ細胞、例えばＴ細胞など）を更に含む。いくつかの実

施形態では、組成物は、エフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞）を含み、当該エフェクタ細胞が、エフェクタ細胞シグナル伝達受容体（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）の活性化を介して抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現を誘導する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸は、シグナル伝達受容体（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）活性化依存性プロモータなどの誘導性プロモータに動作可能に連結される。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ－Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患は、癌である。いくつかの実施形態では、癌は、例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫である。いくつかの実施形態では、癌は、ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌はＨＣＣであり、治療することは、癌の広がりを予防すること、例えば、癌の転移を阻害（予防など）することを含む。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。

【０５６４】

いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患（例えば、癌）を有する個体を治療する方法であって、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６２のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６３のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸１～３５８（配列番号４６８）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６４のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０（配列番号４６５）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５８０（配列番号４６６）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸R^{358}／S^{359}におけるフューリン切断部位にまたがるエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、完全長成熟ヒトＧＰＣ３（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０又は２５～５８０）に特異的に結合することができるが、ヒトＧＰＣ３のＮ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８）又はヒトＧＰＣ３のＣ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０又は３５９～５８０）には結合

しない。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患（例えば、癌）を有する個体を治療する方法であって、ｎＧＰＣ３への結合について本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合する、抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患（例えば、癌）を有する個体を治療する方法であって、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する、抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、完全長抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、多重特異性分子（例えば、二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ＣＡＲ又はｃａＴＣＲである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、免疫複合体である。いくつかの実施形態では、組成物は、抗ＧＰＣ３コンストラクトに会合する細胞（エフェクタ細胞、例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞など）を更に含む。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞）は、エフェクタ細胞シグナル伝達受容体（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）の活性化を介して抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現を誘導する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、シグナル伝達受容体（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）活性化依存性プロモータなどの誘導性プロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ－Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患は、癌である。いくつかの実施形態では、癌は、例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫である。いくつかの実施形態では、癌は、ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌はＨＣＣであり、治療することは、癌の広がりを予防すること、例えば、癌の転移を阻害（予防など）することを含む。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。

【０５６５】

いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患（例えば、癌）を有する個体を治療する方法であって、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大

約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を治療する方法であって、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を治療する方法であって、ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を治療する方法であって、配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患（例えば、癌）を有する個体を治療する方法であって、ｎＧＰＣ３への結合について本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患（例えば、癌）を有する個体を治療する方法であって、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、完全長抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、多重特異性分子（例えば、二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ＣＡＲ又はｃａＴＣＲである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、免疫複合体である。いくつかの実施形態では、組成物は、抗ＧＰＣ３コンストラクトに会合する細胞（エフェクタ細胞、例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞など）を更に含む。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞）は、エフェクタ細胞シグナル伝達受容体（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）の活性化を介して抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タ

ンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現を誘導する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、シグナル伝達受容体（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）活性化依存性プロモータなどの誘導性プロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ－Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患は、癌である。いくつかの実施形態では、癌は、例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫である。いくつかの実施形態では、癌は、ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌はＨＣＣであり、治療することは、癌の広がりを予防すること、例えば、癌の転移を阻害（予防など）することを含む。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。

【０５６６】

いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を治療する方法であって、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を治療する方法であって、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を治療する方法であって、ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を治療する方法であって、配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３８

９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{L}$のＬＣ－ＣＤＲとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患（例えば、癌）を有する個体を治療する方法であって、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）への結合について競合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患（例えば、癌）を有する個体を治療する方法であって、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、完全長抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、多重特異性分子（例えば、二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ＣＡＲ又はｃａＴＣＲである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、免疫複合体である。いくつかの実施形態では、組成物は、抗ＧＰＣ３コンストラクトに会合する細胞（エフェクタ細胞、例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞など）を更に含む。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞）は、エフェクタ細胞シグナル伝達受容体（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）の活性化を介して抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現を誘導する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、シグナル伝達受容体（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）活性化依存性プロモータなどの誘導性プロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ－Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患は、癌である。いくつかの実施形態では、癌は、例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫である。いくつかの実施形態では、癌は、ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌はＨＣＣであり、治療することは、癌の広がりを予防すること、例えば、癌の転移を阻害（予防など）することを含む。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。

【０５６７】
いくつかの実施形態では、個体における転移性ＨＣＣを治療する方法であって、上記の実施形態のいずれかによる抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、組成物は、抗ＧＰＣ３コンストラクトに会合する細胞（エフェクタ細胞、例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞など）を更に含む。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。
【０５６８】
いくつかの実施形態では、個体における肝細胞癌の転移を阻害（予防など）する方法であって、上記の実施形態のいずれかによる抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。
【０５６９】
上記ＧＰＣ３陽性疾患を治療するための方法のいずれかのいくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）は、個体に投与される前に、細胞（免疫細胞、例えばＴ細胞など）に複合体化される。したがって、例えば、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つを細胞（免疫細胞、例えばＴ細胞など）に複合体化させて、抗ＧＰＣ３コンストラクト／細胞複合体を形成することと、ｂ）当該抗ＧＰＣ３コンストラクト／細胞複合体を含む有効量の組成物を当該個体に投与することと、を含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、細胞は、個体に由来する。いくつかの実施形態では、細胞は、個体に由来しない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、細胞の表面上の分子に対する共有結合によって細胞に複合体化される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、細胞の表面上の分子に対する非共有結合によって細胞に複合体化される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、抗ＧＰＣ３コンストラクトの一部を細胞の外膜に挿入することによって、細胞に複合体化される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、完全長抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、多重特異性（二重特異性）分子である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、キメラ抗原受容体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ｃａＴＣＲである。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を治療する方法は、有効量の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞を当該個体に投与することを含む。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を治療する方法は、有効量の抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞を当該個体に投与することを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、免疫複合体である。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患は、癌である。いくつかの実施形態では、癌は、例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫である。いくつかの実施形態では、癌は、ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌はＨＣＣであり、治療することは、癌の広がりを予防すること、例えば、癌の転移を阻害（予防など）することを含む。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。
【０５７０】
上記ＧＰＣ３陽性疾患を治療するための方法のいずれかのいくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャなど）は、そのシグナル伝達受容体（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）を介したエフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞）の活性化の際に発現する。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、シグナル伝達受容体（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）活性化依存性プロモータなどの誘導性プロモータに動作可能に連結された、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離

された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャなど）をコードしている核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ－Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞は、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞である。したがって、例えば、個体においてＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つをコードしている核酸をエフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞）に導入することであって、当該核酸が、誘導性プロモータ（シグナル伝達受容体（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）活性化依存性プロモータなど）に動作可能に連結されている、導入することと、ｂ）当該エフェクタ細胞を含む有効量の組成物を当該個体に投与することと、を含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、細胞は、個体に由来する。いくつかの実施形態では、細胞は、個体に由来しない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、天然には生じない。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、完全長抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、多重特異性（二重特異性）分子である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、キメラ抗原受容体である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、ｃａＴＣＲである。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を治療する方法は、有効量の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞を当該個体に投与することを含む。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を治療する方法は、有効量の抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞を当該個体に投与することを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクトは、免疫複合体である。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患は、癌である。いくつかの実施形態では、癌は、例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫である。いくつかの実施形態では、癌は、ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌はＨＣＣであり、治療することは、癌の広がりを予防すること、例えば、癌の転移を阻害（予防など）することを含む。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。

【０５７１】

いくつかの実施形態では、個体は、哺乳類（例えば、ヒト、非ヒト霊長類、ラット、マウス、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコなど）である。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。いくつかの実施形態では、個体は、臨床患者、臨床試験ボランティア、実験動物などである。いくつかの実施形態では、個体は、約６０歳未満である（例えば、約５０、４０、３０、２５、２０、１５、又は１０歳のいずれか未満を含む）。いくつかの実施形態では、個体は、約６０歳超である（例えば、約７０、８０、９０、又は１００歳のいずれか超を含む）。いくつかの実施形態では、個体は、本明細書に記載の疾患又は障害（ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫など）のうちの１つ以上であると診断されているか又は遺伝的に罹りやすい。いくつかの実施形態では、個体は、本明細書に記載の１つ以上の疾患又は障害に関連する１つ以上のリスク因子を有する。

【０５７２】

本出願は、いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つ、例えば、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を、個体におけるその表面上でＧＰＣ３を発現している細胞、又は可溶性ＧＰＣ３を有する（例えば、循環ＧＰＣ３タンパク質又は血清中の遊離ＧＰＣ３ペプチドを有する）個体に送達する方法であって、当該抗ＧＰＣ３コンストラクトを含む組成物を当該個体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、送達される抗ＧＰＣ３

コンストラクトは、細胞（エフェクタ細胞、例えばＴ細胞など）に会合する。いくつかの実施形態では、方法は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞を個体に投与することを含む。いくつかの実施形態では、方法は、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞を個体に投与することを含む。

【０５７３】

癌（ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫など）、又は異常なＧＰＣ３発現を示す任意の他の疾患、及びこれらの疾患の臨床的描写の多くの診断方法が当該技術分野において既知である。このような方法としては、例えば、免疫組織化学、ＰＣＲ、及び蛍光インサイチュハイブリダイゼーション（ＦＩＳＨ）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０５７４】

いくつかの実施形態では、本発明の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）及び／又は組成物は、異常なＧＰＣ３発現を伴う疾患又は障害を治療するために、第２、第３、又は第４の剤（例えば、抗新生物薬、成長阻害剤、細胞傷害性剤、又は化学療法剤を含む）と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、剤は、例えば、ＩＦＮ受容体アゴニスト、Ｈｓｐ９０阻害剤、ｐ５３発現のエンハンサ、及び化学療法剤を含む。いくつかの実施形態では、剤は、例えば、ＩＦＮγ、ＩＦＮβ、及びＩＦＮαを含むＩＦＮ受容体アゴニストである。いくつかの実施形態では、剤は、例えば、タネスピマイシン（１７－ＡＡＧ）、アルベスピマイシン（１７－ＤＭＡＧ）、レタスピマイシン（ＩＰＩ－５０４）、ＩＰＩ－４９３、ＣＮＦ２０２４／ＢＩＩＢ０２１、ＭＰＣ－３１００、Ｄｅｂｉｏ　０９３２（ＣＵＤＣ－３０５）、ＰＵ－Ｈ７１、ガネテスピブ（ＳＴＡ－９０９０）、ＮＶＰ－ＡＵＹ９２２（ＶＥＲ－５２２６９）、ＨＳＰ９９０、ＫＷ－２４７８、ＡＴ１３３８７、ＳＮＸ－５４２２、ＤＳ－２２４８、及びＸＬ８８８を含むＨｓｐ９０阻害剤である。いくつかの実施形態では、剤は、例えば、５－フルオロウラシル及びヌトリン－３を含むｐ５３発現のエンハンサである。いくつかの実施形態では、剤は、例えば、トポテカン、エトポシド、シスプラチン、パクリタキセル、及びビンブラスチンを含む化学療法剤である。

【０５７５】

癌治療は、例えば、腫瘍の退縮、腫瘍の重量又はサイズの収縮、増殖抑制時間、生存期間、無増悪生存期間、全奏効率、奏功期間、生活の質、タンパク質発現、及び／又は活性によって評価することができる。例えば、放射線撮像を通した応答の測定を含む、治療の有効性を決定するためのアプローチを使用してよい。

【０５７６】

いくつかの実施形態では、治療の有効性は、式１００－（Ｔ／Ｃ×１００）（式中、Ｔは、治療された腫瘍の平均相対腫瘍体積であり、Ｃは、未治療腫瘍の平均相対腫瘍体積である）を使用して計算される、腫瘍成長阻害率（％ＴＧＩ）として測定される。いくつかの実施形態では、％ＴＧＩは、約１０％、約２０％、約３０％、約４０％、約５０％、約６０％、約７０％、約８０％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、又は９５％超である。

【０５７７】

抗ＧＰＣ３コンストラクト組成物の投薬及び投与方法

【０５７８】

個体（ヒトなど）に投与される抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど、又は抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞若しくは抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞のフォーマットで投与される）組成物の用量は、具体的な組成物、投与モード、及び治療される疾患の種類に伴って変化してよい。いくつかの実施形態では、組成物（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞、又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞を含む組成物など）の量は、客観的応答（部分奏効又は完全奏効など）をもたらすのに有効である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト組成物の量は、個体において完全奏効をもたらすのに十分である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コ

ンストラクト組成物の量は、個体において部分奏効をもたらすのに十分である。いくつかの実施形態では、投与される抗ＧＰＣ３コンストラクト組成物の量（例えば、単独で投与される場合）は、抗ＧＰＣ３コンストラクト組成物で治療される個体の集団の中で、約２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６４％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、又は９０％のいずれかを超える全奏効率を得るのに十分である。本明細書に記載の方法の治療に対する個体の奏功は、例えば、ＲＥＣＩＳＴレベルに基づいて判定することができる。

【０５７９】

いくつかの実施形態では、組成物（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、抗ＧＰＣ３ＣＡＲ Ｔ細胞、又は抗ＧＰＣ３ ｃａＴＣＲ Ｔ細胞を含む組成物など）の量は、個体の無増悪生存期間を延長するのに十分である。いくつかの実施形態では、組成物の量は、個体の全生存期間を延長するのに十分である。いくつかの実施形態では、組成物の量（例えば、単独（along）で投与される場合）は、抗ＧＰＣ３コンストラクト組成物で治療される個体の集団の中で、約５０％、６０％、７０％、又は７７％のいずれかを超える臨床的有用性を生じさせるのに十分である。

【０５８０】

いくつかの実施形態では、組成物の量（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、抗ＧＰＣ３ ＣＡＲ Ｔ細胞、又は抗ＧＰＣ３ ｃａＴＣＲ Ｔ細胞を含む組成物など）の量は、単独で、又は第２、第３、及び／若しくは第４の剤と組み合わせて、治療を受ける前の同じ被験体における対応する腫瘍サイズ、癌細胞の数、若しくは腫瘍成長速度と比べて、又は治療を受けていない他の被験体における対応する活性と比べて、少なくとも約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％又は１００％のいずれかだけ腫瘍のサイズを減少させる、癌細胞の数を減少させる、又は腫瘍の成長速度を減少させるのに十分な量である。精製酵素を使用するインビトロアッセイ、細胞ベースのアッセイ、動物モデル、又はヒト試験などの標準的な方法を使用して、この効果の大きさを測定することができる。

【０５８１】

いくつかの実施形態では、組成物中の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３ ｓｃＦｖ、完全長抗ＧＰＣ３抗体、多重特異性抗ＧＰＣ３分子、抗ＧＰＣ３ ＣＡＲ、抗ＧＰＣ３ ｃａＴＣＲ、抗ＧＰＣ３免疫複合体など）の量は、毒性作用（すなわち、臨床的に許容できるレベルの毒性を上回る作用）を誘発するレベルを下回るか、又は組成物を個体に投与したときに潜在的な副作用を管理若しくは許容することができるレベルである。

【０５８２】

いくつかの実施形態では、組成物の量は、同じ投与レジメンに従った組成物の最大許容用量（ＭＴＤ）に近い。いくつかの実施形態では、組成物の量は、ＭＴＤの約８０％、９０％、９５％、又は９８％のいずれかを上回る。

【０５８３】

いくつかの実施形態では、組成物中の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、完全長抗ＧＰＣ３抗体、多重特異性抗ＧＰＣ３分子、又は抗ＧＰＣ３免疫複合体など）の量は、約０．００１μｇ～約１０００μｇの範囲内に含まれる。

【０５８４】

上記態様のいずれかのいくつかの実施形態では、組成物中の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、完全長抗ＧＰＣ３抗体、多重特異性抗ＧＰＣ３分子、又は抗ＧＰＣ３免疫複合体など）の有効量は、総体重の約０．１μｇ／ｋｇ～約１００ｍｇ／ｋｇの範囲内である。

【０５８５】

抗ＧＰＣ３コンストラクト組成物は、例えば、静脈内、動脈内、腹腔内、肺内、経口、吸入、静脈内、筋肉内、気管内、皮下、眼内、髄腔内、経粘膜、及び経皮を含む様々な経

路を介して、個体（ヒトなど）に投与することができる。いくつかの実施形態では、組成物の連続徐放性製剤を使用してよい。いくつかの実施形態では、組成物は、静脈内投与される。いくつかの実施形態では、組成物は、門脈内投与される。いくつかの実施形態では、組成物は、動脈内投与される。いくつかの実施形態では、組成物は、腹腔内投与される。いくつかの実施形態では、組成物は、肝内投与される。いくつかの実施形態では、組成物は、肝動脈注入によって投与される。いくつかの実施形態では、投与は、第１の疾患部位に対して遠位の注入部位に行われる。

【０５８６】

抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞療法及び抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞療法

【０５８７】

本出願はまた、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを使用して、ＧＰＣ３（細胞表面結合ＧＰＣ３又は可溶性ＧＰＣ３など）に対するエフェクタ細胞（一次Ｔ細胞など）の特異性をリダイレクトする方法も提供する。したがって、本発明はまた、哺乳類におけるＧＰＣ発現細胞を含む標的細胞集団又は組織に対するエフェクタ細胞媒介性応答（Ｔ細胞媒介性免疫応答など）を刺激する方法であって、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現するエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を当該哺乳類に投与する工程を含む方法も提供する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞は、誘導性プロモータに動作可能に連結された多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸を更に含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞における多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、（それぞれ）抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを介したシグナル伝達の際に誘導可能である。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。

【０５８８】

抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現している（場合により、抗ＧＰＣ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャを更に発現している）抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を、それを必要としているレシピエントに注入してよい。抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現している（場合により、抗ＧＰＣ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャを更に発現している）抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を、それを必要としているレシピエントに注入してよい。注入された細胞は、レシピエントにおけるその細胞表面上でＧＰＣ３を発現している細胞を殺傷することができる。いくつかの実施形態では、抗体療法とは異なり、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）は、インビボで複製することができ、その結果、持続的な腫瘍管理につながり得る長期存続性が得られる。

【０５８９】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞は、ロバストなインビボＴ細胞増殖を受けることができ、長期間にわたって存続することができる抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、本発明の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞は、再活性化されて、任意の更なる腫瘍の形成又は成長を阻害することができる特異的メモリＴ細胞に発達する。

【０５９０】

いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞は、ロバストなインビボＴ細胞増殖を受けることができ、長期間にわたって存続することができる抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、本発明の抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞は、再活性化されて、任意の更なる腫瘍の形成又は成長を阻害することができる特異的メモリＴ細胞に発達する。

【０５９１】

また、本発明の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞は、エクスビボ免疫及び／又は哺乳類におけるインビボ療法のための一種のワクチンとしても機能し得る。いくつかの実施形態では、哺乳類は、ヒトである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞は、誘導性プロモータに動作可能に連結された多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸を更に含む。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを介したシグナル伝達の際に誘導可能である。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。

【０５９２】

エクスビボ免疫に関しては、細胞を哺乳類に投与する前に以下のうちの少なくとも１つをインビトロで行う：ｉ）細胞の増殖、ｉｉ）抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲをコードしている核酸の細胞への導入、及び／又はｉｉｉ）細胞の冷凍保存。いくつかの実施形態では、細胞は、誘導性プロモータに動作可能に連結された多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸を導入することによって更にインビトロで操作される。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。

【０５９３】

エクスビボ手順は、当該技術分野において周知であり、以下でより詳細に論じる。簡潔に述べると、哺乳類（好ましくはヒト）から細胞を単離し、本明細書に開示される抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現するベクターで遺伝子改変（すなわち、インビトロで形質導入又はトランスフェクト）する。抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞を哺乳類レシピエントに投与して、治療効果を提供することができる。哺乳類レシピエントはヒトであってよく、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ細胞（又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ細胞）は、レシピエントに対して自己であってよい。あるいは、細胞は、レシピエントに対して同種、同系、又は異種であってもよい。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞は、誘導性プロモータに動作可能に連結された多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸であって、当該誘導性プロモータが、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを介したシグナル伝達に応答する核酸を更に含む。

【０５９４】

造血幹細胞及び前駆細胞のエクスビボ増殖の手順は、参照により本明細書に組み込まれる米国特許第５，１９９，９４２号に記載されており、本発明の細胞に適用することができる。他の好適な方法は、当該技術分野において既知である。したがって、本発明は、細胞のエクスビボ増殖の任意の特定の方法には限定されない。簡潔には、エクスビボ培養及びＴ細胞の増殖は、（１）末梢血採取物又は骨髄外植片から哺乳類由来のＣＤ３４$^{+}$造血幹細胞及び前駆細胞を回収することと、（２）このような細胞をエクスビボで増殖させることと、を含む。米国特許第５，１９９，９４２号に記載の細胞成長因子に加えて、ｆｌｔ３－Ｌ、ＩＬ－１、ＩＬ－３、及びｃ－ｋｉｔリガンドなどの他の因子を、細胞の培養及び増殖のために使用することができる。

【０５９５】

エクスビボ免疫に関して細胞ベースのワクチンを使用することに加えて、本発明はまた、患者において抗原に対する免疫応答を誘発するためのインビボ免疫のための組成物及び方法も提供する。

【０５９６】
本発明の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）は、単独で、あるいは希釈剤及び／又はＩＬ－２若しくは他のサイトカイン若しくは細胞集団などの他の成分と組み合わせた医薬組成物としてのいずれかで投与してよい。簡潔に述べると、本発明の医薬組成物は、１つ以上の医薬的に又は生理学的に許容できる担体、希釈剤、又は賦形剤と組み合わせて、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含んでいてもよい。このような組成物は、以下を含んでいてもよい：中性緩衝生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水などの緩衝剤；グルコース、マンノース、スクロース、又はデキストランなどの炭水化物、マンニトール；タンパク質；ポリペプチド又はグリシンなどのアミノ酸；酸化防止剤；ＥＤＴＡ又はグルタチオンなどのキレート剤；アジュバント（例えば、水酸化アルミニウム）；及び防腐剤。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）組成物又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）組成物は、静脈内投与用に製剤化される。

【０５９７】
投与される本発明の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）組成物又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）組成物の正確な量は、年齢、体重、腫瘍サイズ、感染又は転移の程度、及び患者（被験体）の状態における個体差を考慮して医師が決定することができる。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む医薬組成物は、約10^4～約10^9細胞／ｋｇ（体重）、例えば、約10^4～約10^5、約10^5～約10^6、約10^6～約10^7、約10^7～約10^8、又は約10^8～約10^9細胞／ｋｇ（体重）（これらの範囲内の全ての整数値を含む）のいずれかの投薬量で投与される。抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）組成物又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）組成物は、これらの投薬量で複数回投与されてもよい。細胞は、免疫療法において一般的に知られている注入技術を使用することによって投与することができる（例えば、Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｅｗ　Ｅｎｇ．Ｊ．ｏｆ　Ｍｅｄ．３１９：１６７６，１９８８を参照されたい）。特定の患者に対する最適な投薬量及び治療レジメンは、疾患の兆候について患者をモニタリングし、それに応じて治療を調整することによって、医療分野の当業者が容易に決定できる。

【０５９８】
いくつかの実施形態では、活性化抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ　Ｔ細胞又は活性化抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞を被験体に投与し、次いで、再採血し（又はアフェレーシスを実施し）、本発明に従ってそれに由来するＴ細胞を活性化し、これらの活性化及び増殖されたＴ細胞を患者に再注入することが望ましい場合がある。このプロセスを数週間ごとに複数回実施してよい。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞は、１０ｃｃ～４００ｃｃの採血から活性化され得る。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞は、２０ｃｃ、３０ｃｃ、４０ｃｃ、５０ｃｃ、６０ｃｃ、７０ｃｃ、８０ｃｃ、９０ｃｃ、又は１００ｃｃの採血から活性化される。

【０５９９】
抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）の投与は、エアロゾル吸入、注射、摂食、輸血、注入（implantation）、又は移植を含む任意の好都合な方法で実施してよい。本明細書に記載の組成物は、皮下、皮内、腫瘍内、節内、髄内、筋肉内に、静脈内（ｉ．ｖ．）注射によって、又は腹腔内に患者に投与され得る。いくつかの実施形態では、本発明の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）組成物又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）組成物は、皮内又は皮下注射によって患者に投与される。いくつかの実施形態では、本発明の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）組成物又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）組成物は、ｉ．ｖ．注射によって投与される。抗ＧＰＣ３　ＣＡＲエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞（

Ｔ細胞など）の組成物は、腫瘍、リンパ節、又は感染部位に直接注射してもよい。
【０６００】
したがって、例えば、いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６２のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６３のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸１～３５８（配列番号４６８）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６４のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０（配列番号４６５）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５８０（配列番号４６６）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸R^{358}／S^{359}におけるフューリン切断部位にまたがるエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、完全長成熟ヒトＧＰＣ３（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０又は２５～５８０）に特異的に結合することができるが、ヒトＧＰＣ３のＮ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８）又はヒトＧＰＣ３のＣ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０又は３５９～５８０）には結合しない。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する、抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する、抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合

親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、配列番号４９４のＮ末端に融合している、本明細書に記載の細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）は、誘導性プロモータに動作可能に連結された多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸を更に含む。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを介したシグナル伝達の際に誘導可能である。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患は、癌である。いくつかの実施形態では、癌は、例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫である。いくつかの実施形態では、癌は、ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌はＨＣＣであり、治療することは、癌の広がりを予防すること、例えば、癌の転移を阻害（予防など）することを含む。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内、腹腔内、又は腫瘍内の経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、腫瘍内経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、ＧＰＣ３陽性疾患（ＧＰＣ３陽性腫瘍など）の部位に対して遠位の注射部位に局所注射することを含む。いくつかの実施形態では、注射部位は、第１のＧＰＣ３陽性腫瘍である（すなわち、投与は腫瘍内経路を介する）。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患の部位は、第２のＧＰＣ３陽性腫瘍である。いくつかの実施形態では、注射部位は、第１のＧＰＣ３陽性腫瘍であり、ＧＰＣ３陽性疾患の部位は、第２のＧＰＣ３陽性腫瘍である。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。

【０６０１】

いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうち

のいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、配列番号４９４のＮ末端に融合している、本明細書に記載の細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインを含む。例えば、いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、配列番号４９１及び５１６～５１２のいずれか１つのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）は、誘導性プロモータに動作可能に連結された多重特異性（例えば、二重特異性）抗Ｇ

ＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸を更に含む。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを介したシグナル伝達の際に誘導可能である。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患は、癌である。いくつかの実施形態では、癌は、例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫である。いくつかの実施形態では、癌は、ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌はＨＣＣであり、治療することは、癌の広がりを予防すること、例えば、癌の転移を阻害（予防など）することを含む。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内、腹腔内、又は腫瘍内の経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、腫瘍内経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、ＧＰＣ３陽性疾患（ＧＰＣ３陽性腫瘍など）の部位に対して遠位の注射部位に局所注射することを含む。いくつかの実施形態では、注射部位は、第１のＧＰＣ３陽性腫瘍である（すなわち、投与は腫瘍内経路を介する）。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患の部位は、第２のＧＰＣ３陽性腫瘍である。いくつかの実施形態では、注射部位は、第１のＧＰＣ３陽性腫瘍であり、ＧＰＣ３陽性疾患の部位は、第２のＧＰＣ３陽性腫瘍である。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。

【０６０２】

いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配

列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）への結合について競合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインと、ｂ）膜貫通ドメインと、ｃ）ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲは、配列番号４９４のＮ末端に融合している、本明細書に記載のＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）は、誘導性プロモータに動作可能に連結された多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸を更に含む。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを介したシグナル伝達の際に誘導可能である。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体

部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患は、癌である。いくつかの実施形態では、癌は、例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫である。いくつかの実施形態では、癌は、ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌はＨＣＣであり、治療することは、癌の広がりを予防すること、例えば、癌の転移を阻害（予防など）することを含む。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内、腹腔内、又は腫瘍内の経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、腫瘍内経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、ＧＰＣ３陽性疾患（ＧＰＣ３陽性腫瘍など）の部位に対して遠位の注射部位に局所注射することを含む。いくつかの実施形態では、注射部位は、第１のＧＰＣ３陽性腫瘍である（すなわち、投与は腫瘍内経路を介する）。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患の部位は、第２のＧＰＣ３陽性腫瘍である。いくつかの実施形態では、注射部位は、第１のＧＰＣ３陽性腫瘍であり、ＧＰＣ３陽性疾患の部位は、第２のＧＰＣ３陽性腫瘍である。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。

【０６０３】

いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６２のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６３のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎ

ＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸１～３５８（配列番号４６８）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６４のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０（配列番号４６５）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５８０（配列番号４６６）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸Ｒ^{３５８}／Ｓ^{３５９}におけるフューリン切断部位にまたがるエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、完全長成熟ヒトＧＰＣ３（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０又は２５～５８０）に特異的に結合することができるが、ヒトＧＰＣ３のＮ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８）又はヒトＧＰＣ３のＣ末端断片（例えば、配列番号４６０のアミノ酸３５９～５６０又は３５９～５８０）には結合しない。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する、抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分（例えば、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又は抗ｎＧＰＣ３抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）V_H及び$C_H１$抗体ドメインを含む第１の抗原結合ドメインと、第１のＴＣＲサブユニットの第１の膜貫通ドメインを含む第１のＴ細胞受容体ドメイン（Ｔ

ＣＲＤ）とを含む第１のポリペプチド鎖と、ｂ）V_L及びC_L抗体ドメインを含む第２の抗原結合ドメインと、第２のＴＣＲサブユニットの第２の膜貫通ドメインを含む第２のＴＣＲＤとを含む第２のポリペプチド鎖とを含み、当該第１の抗原結合ドメインのV_H及びC_H1ドメイン、並びに当該第２の抗原結合ドメインのV_L及びC_Lドメインが、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する（例えば、V_H及びV_Lの細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又はV_H及びV_Lが、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）抗原結合モジュールを形成し、当該第１のＴＣＲＤ及び当該第２のＴＣＲＤが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達モジュールを動員することができるＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）を形成する、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗原結合モジュールは、C_H1ドメイン内の残基とC_Lドメイン内の残基との間にジスルフィド結合を含む。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）V_H抗体ドメインを含む第１の抗原結合ドメインと、第１のＴＣＲサブユニットの第１の膜貫通ドメインを含む第１のＴＣＲＤとを含む第１のポリペプチド鎖と、ｂ）V_L抗体ドメインを含む第２の抗原結合ドメインと、第２のＴＣＲサブユニットの第２の膜貫通ドメインを含む第２のＴＣＲＤとを含む第２のポリペプチド鎖とを含み、当該第１の抗原結合ドメインのV_Hドメイン及び当該第２の抗原結合ドメインのV_Lドメインが、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する（例えば、V_H及びV_Lの細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性が、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高いか、又はV_H及びV_Lが、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する）抗原結合モジュールを形成し、当該第１のＴＣＲＤ及び当該第２のＴＣＲＤが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達モジュールを動員することができるＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）を形成する、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）は、誘導性プロモータに動作可能に連結された多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸を更に含む。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを介したシグナル伝達の際に誘導可能である。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。いくつかの実施形態では、第１のＴＣＲ－ＴＭは、天然に生じるＴ細胞受容体（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患は、癌である。いくつかの実施形態では、癌は、例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫である。いくつかの実施形態では、癌は、ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌はＨＣＣであり、治療することは、癌の広がりを予防すること、例えば、癌の転移を阻害（予防など）することを含む。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内、腹腔内、又は腫瘍内の経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、腫瘍内経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、ＧＰＣ３陽性疾患（ＧＰＣ３陽性腫瘍など）の部位に対

して遠位の注射部位に局所注射することを含む。いくつかの実施形態では、注射部位は、第１のＧＰＣ３陽性腫瘍である（すなわち、投与は腫瘍内経路を介する）。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患の部位は、第２のＧＰＣ３陽性腫瘍である。いくつかの実施形態では、注射部位は、第１のＧＰＣ３陽性腫瘍であ

り、ＧＰＣ３陽性疾患の部位は、第２のＧＰＣ３陽性腫瘍である。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。

【０６０４】

いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配

列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{L}$を含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{H}$のＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{L}$のＬＣ－ＣＤＲを含む、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとｎＧＰＣ３への結合について競合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じｎＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ｎＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{H}$及びＣ$_{H}$１抗体ドメインを含む第１の抗原結合ドメインと、第１のＴＣＲサブユニットの第１の膜貫通ドメインを含む第１のＴ細胞受容体ドメイン（ＴＣＲＤ）とを含む第１のポリペプチド鎖と、ｂ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_{L}$及びＣ$_{L}$抗体

ドメインを含む第２の抗原結合ドメインと、第２のＴＣＲサブユニットの第２の膜貫通ドメインを含む第２のＴＣＲＤとを含む第２のポリペプチド鎖とを含み、当該第１の抗原結合ドメインのV_H及びC_H1ドメイン、並びに当該第２の抗原結合ドメインのV_L及びC_Lドメインが、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗原結合モジュールを形成し、当該第１のＴＣＲＤ及び当該第２のＴＣＲＤが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達モジュールを動員することができるＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）を形成する、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗原結合モジュールは、C_H1ドメイン内の残基とC_Lドメイン内の残基との間にジスルフィド結合を含む。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H抗体ドメインを含む第１の抗原結合ドメインと、第１のＴＣＲサブユニットの第１の膜貫通ドメインを含む第１のＴＣＲＤとを含む第１のポリペプチド鎖と、ｂ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_L抗体ドメインを含む第２の抗原結合ドメインと、第２のＴＣＲサブユニットの第２の膜貫通ドメインを含む第２のＴＣＲＤとを含む第２のポリペプチド鎖とを含み、当該第１の抗原結合ドメインのV_Hドメイン及び当該第２の抗原結合ドメインのV_Lドメインが、細胞表面結合ＧＰＣ３に特異的に結合する抗原結合モジュールを形成し、当該第１のＴＣＲＤ及び当該第２のＴＣＲＤが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達モジュールを動員することができるＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）を形成する、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲは、配列番号４９２及び配列番号４９３のアミノ酸配列を含む２本のポリペプチド鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）は、誘導性プロモータに動作可能に連結された多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸を更に含む。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを介したシグナル伝達の際に誘導可能である。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。いくつかの実施形態では、第１のＴＣＲ－ＴＭは、天然に生じるＴ細胞受容体（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ

３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患は、癌である。いくつかの実施形態では、癌は、例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫である。いくつかの実施形態では、癌は、ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌はＨＣＣであり、治療することは、癌の広がりを予防すること、例えば、癌の転移を阻害（予防など）することを含む。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内、腹腔内、又は腫瘍内の経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、腫瘍内経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、ＧＰＣ３陽性疾患（ＧＰＣ３陽性腫瘍など）の部位に対して遠位の注射部位に局所注射することを含む。いくつかの実施形態では、注射部位は、第１のＧＰＣ３陽性腫瘍である（すなわち、投与は腫瘍内経路を介する）。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患の部

位は、第２のＧＰＣ３陽性腫瘍である。いくつかの実施形態では、注射部位は、第１のＧＰＣ３陽性腫瘍であり、ＧＰＣ３陽性疾患の部位は、第２のＧＰＣ３陽性腫瘍である。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。

【０６０５】

いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個（約１、２、又は３個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個（約１、２、３、４、又は５個のうちのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインの

うちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患（例えば、ＨＣＣ）を治療する方法であって、ａ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲ及び配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲを含む、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つとＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）への結合について競合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結している、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクトのいずれか１つと競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗ＧＰＣ３抗体部分を含む抗原結合モジュールと、ｂ）天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び天然に生じるＴＣＲ（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子（ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及び／又はζζなど）の動員を促進し、当該抗体部分が、当該第１及び／又は第２のＴＣＲＤに連結しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_H及びC_H1抗体ドメインを含む第１の抗原結合ドメインと、第１のＴＣＲサブユニットの第１の膜貫通ドメインを含む第１のＴ細胞受容体ドメイン（ＴＣＲＤ）とを含む第１のポリペプチド鎖と、ｂ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_L及びC_L抗体ドメインを含む第２の抗原結合ドメインと、第２のＴＣＲサブユニットの第２の膜貫通ドメインを含む第２のＴＣＲＤとを含む第２のポリペプチド鎖とを含み、当該第１の抗原

結合ドメインのＶ$_H$及びＣ$_H$１ドメイン、並びに当該第２の抗原結合ドメインのＶ$_L$及びＣ$_L$ドメインが、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗原結合モジュールを形成し、当該第１のＴＣＲＤ及び当該第２のＴＣＲＤが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達モジュールを動員することができるＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）を形成する、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗原結合モジュールは、Ｃ$_H$１ドメイン内の残基とＣ$_L$ドメイン内の残基との間にジスルフィド結合を含む。いくつかの実施形態では、個体におけるＧＰＣ３陽性疾患を治療する方法であって、ａ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_H$抗体ドメインを含む第１の抗原結合ドメインと、第１のＴＣＲサブユニットの第１の膜貫通ドメインを含む第１のＴＣＲＤとを含む第１のポリペプチド鎖と、ｂ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_L$抗体ドメインを含む第２の抗原結合ドメインと、第２のＴＣＲサブユニットの第２の膜貫通ドメインを含む第２のＴＣＲＤとを含む第２のポリペプチド鎖とを含み、当該第１の抗原結合ドメインのＶ$_H$ドメイン及び当該第２の抗原結合ドメインのＶ$_L$ドメインが、ＧＰＣ３（例えば、ｎＧＰＣ３及び／又はｓＧＰＣ３）に特異的に結合する抗原結合モジュールを形成し、当該第１のＴＣＲＤ及び当該第２のＴＣＲＤが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達モジュールを動員することができるＴ細胞受容体モジュール（ＴＣＲＭ）を形成する、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）は、誘導性プロモータに動作可能に連結された多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸を更に含む。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを介したシグナル伝達の際に誘導可能である。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。いくつかの実施形態では、第１のＴＣＲ－ＴＭは、天然に生じるＴ細胞受容体（αβＴＣＲ又はγδＴＣＲなど）の膜貫通ドメインのうちの１つに由来する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分の細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性は、可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｎＧＰＣ３抗体部分は、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、可溶性ＧＰＣ３を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分の可溶性ＧＰＣ３に対する結合親和性は、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する結合親和性よりも高い。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６１のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ｓＧＰＣ３抗体部分は、配列番号４６０のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）内のエピトープを特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、細胞表面結合ＧＰＣ３及び可溶性ＧＰＣ３の両方を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、Ｆａｂ又はＦａｂ’である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３抗体部分は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患は、癌である。いくつかの実施形態では、癌は、例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂

肪肉腫である。いくつかの実施形態では、癌は、ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌はＨＣＣであり、治療することは、癌の広がりを予防すること、例えば、癌の転移を阻害（予防など）することを含む。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内、腹腔内、又は腫瘍内の経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、腫瘍内経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、ＧＰＣ３陽性疾患（ＧＰＣ３陽性腫瘍など）の部位に対して遠位の注射部位に局所注射することを含む。いくつかの実施形態では、注射部位は、第１のＧＰＣ３陽性腫瘍である（すなわち、投与は腫瘍内経路を介する）。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患の部位は、第２のＧＰＣ３陽性腫瘍である。いくつかの実施形態では、注射部位は、第１のＧＰＣ３陽性腫瘍であり、ＧＰＣ３陽性疾患の部位は、第２のＧＰＣ３陽性腫瘍である。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。

【０６０６】

いくつかの実施形態では、個体における転移性ＨＣＣを治療する方法であって、上記の実施形態のいずれかによる抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）は、誘導性プロモータに動作可能に連結された多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸を更に含む。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを介したシグナル伝達の際に誘導可能である。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。

【０６０７】

いくつかの実施形態では、個体におけるＨＣＣの転移を阻害（予防など）する方法であって、上記の実施形態のいずれかによる抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）は、誘導性プロモータに動作可能に連結された多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸を更に含む。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ又は抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを介したシグナル伝達の際に誘導可能である。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータなどのＮＦＡＴ由来プロモータである。いくつかの実施形態では、誘導性プロモータは、ＩＬ－２プロモータである。

【０６０８】

いくつかの実施形態では、個体におけるＴ細胞を予備刺激する方法であって、上記の抗ＧＰＣ３　ＣＡＲのいずれかによる抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体におけるＴ細胞を予備刺激する方法であって、上記の抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲのいずれかによる抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲを発現しているエフェクタ細胞（Ｔ細胞など）を含む有効量の組成物を当該個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、個体は、ＧＰＣ３陽性疾患を有している。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患は、癌である。いくつかの実施形態では、癌は、例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞

腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫である。いくつかの実施形態では、癌は、ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内、腹腔内、又は腫瘍内の経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、腫瘍内経路を介する。いくつかの実施形態では、投与は、第１の疾患部位に対して遠位の注入部位に行われる。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。

【０６０９】

いくつかの実施形態では、上記の方法のいずれかによれば、方法は、抗原提示細胞又はＡＰＣ（単球又は単球分化樹状細胞など）を個体に投与することを更に含む。樹状細胞は、特定のサイトカインと共に単球を培養することを介してエクスビボで生成することができる（Ｐａｌｕｃｋａ ａｎｄ Ｂａｎｃｈｅｒｅａｕ，Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖｉｅｗｓ Ｃａｎｃｅｒ １２：２６５－２７７，２０１２）。いくつかの実施形態では、ＡＰＣは、エフェクタ細胞組成物と同時に投与される。いくつかの実施形態では、ＡＰＣは、エフェクタ細胞組成物と一斉に投与される。いくつかの実施形態では、ＡＰＣは、エフェクタ細胞組成物と逐次投与される。いくつかの実施形態では、ＡＰＣは、エフェクタ細胞組成物と同じ経路を介して投与される。いくつかの実施形態では、ＡＰＣは、エフェクタ細胞組成物と同じ部位に投与される。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞組成物は、ＡＰＣを含む。

癌

【０６１０】

抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ細胞、及び抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ細胞は、いくつかの実施形態では、癌を治療するのに有用であり得る。本明細書に記載の方法のいずれかを使用して治療することができる癌としては、脈管化されていないか、又はまだ実質的に脈管化されていない腫瘍に加えて、脈管化された腫瘍が挙げられる。癌は、固形腫瘍を含み得る。本発明の抗ＧＰＣ３コンストラクト、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ細胞、及び抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ細胞で治療される癌の種類としては、癌腫、芽腫、肉腫、良性及び悪性の腫瘍、並びに悪性腫瘍、例えば、肉腫、癌腫、及び黒色腫が挙げられるが、これらに限定されない。成人腫瘍／癌及び小児腫瘍／癌も含まれる。

【０６１１】

固形腫瘍は、通常、嚢胞も液体領域も含まない異常な組織塊である。固形腫瘍は、良性であっても悪性であってもよい。様々な種類の固形腫瘍は、それを形成する細胞の種類に由来する名称を有する（例えば、肉腫、癌腫、及びリンパ腫）。肉腫及び癌腫などの固形腫瘍の例としては、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨肉腫、及び他の肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、リンパ性腫瘍、膵臓癌、乳癌、肺癌（例えば、肺扁平上皮癌）、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍（内胚葉洞腫瘍）、前立腺癌、肝細胞癌（ＨＣＣ）、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、髄様甲状腺癌、甲状腺乳頭癌、褐色細胞腫脂腺癌、乳頭癌、乳頭腺癌、髄様癌、気管支癌、腎細胞癌、肝細胞腫、胆管癌、絨毛癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、精巣腫瘍、セミノーマ、膀胱癌、黒色腫、及びＣＮＳ腫瘍（神経膠腫（脳幹神経膠腫及び混合膠腫など）、神経膠芽腫（多形性膠芽腫としても知られている）星状細胞腫、ＣＮＳリンパ腫、胚細胞腫、髄芽腫、シュワン腫頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽腫、聴神経腫、乏突起神経膠腫、髄膜腫、神経芽細胞腫、網膜芽腫、及び脳転移症など）が挙げられる。

【０６１２】

いくつかの実施形態では、本発明によって治療され得る癌は、ＨＣＣである。ＧＰＣ３は、ＨＣＣ及びＨＣＣ細胞株、例えば、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、ＨＴ１７、ＨｕＨ６、ＨｕＨ７、及びＰＬＣ／ＰＲＦ／５で高度に発現する。ＧＰＣ３発現は、ＨＣＣにおける予後不良と相関する。いくつかの実施形態では、ＨＣＣは、初期ＨＣＣ、非転移性ＨＣＣ、原発ＨＣＣ、進行ＨＣＣ、局所進行ＨＣＣ、転移性ＨＣＣ、寛解期のＨＣＣ、又は再発性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、ＨＣＣは、限局性切除可能（すなわち、完全

に外科的に除去することができる肝臓の部分に限られている腫瘍）、限局性切除不能（すなわち、重要な血管構造に浸潤しているため又は肝臓に障害が生じるため、限局性腫瘍が切除不能であり得る）、又は切除不能（すなわち、腫瘍が肝臓のすべての葉に浸潤している及び／又は転移して他の臓器（例えば、肺、リンパ節、骨）に浸潤している）である。いくつかの実施形態では、ＨＣＣは、ＴＮＭ分類によれば、病期Ｉ腫瘍（脈管浸潤のない単発性腫瘍）、病期ＩＩ腫瘍（脈管浸潤のある単発性腫瘍、又はすべて５ｃｍ以下の多発性腫瘍）、病期ＩＩＩ腫瘍（すべて５ｃｍを超えている多発性腫瘍、又は門脈若しくは肝静脈の主要分枝に浸潤している腫瘍）、病期ＩＶ腫瘍（胆嚢以外の隣接臓器への直接浸潤、又は臓側腹膜への穿孔のある腫瘍）、Ｎ１腫瘍（所属リンパ節転移）、又はＭ１腫瘍（遠隔転移）である。いくつかの実施形態では、ＨＣＣは、ＡＪＣＣ（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｊｏｉｎｔ Ｃｏｍｍｉｓｓｉｏｎ ｏｎ Ｃａｎｃｅｒ）病期分類基準によれば、病期Ｔ１、Ｔ２、Ｔ３、又はＴ４ ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、ＨＣＣは、肝細胞癌腫、ＨＣＣの線維層板型変異体、及び混合型肝細胞性胆管癌のうちのいずれか１つである。

【０６１３】

いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性癌は、卵黄嚢腫瘍（ＹＳＴ、内胚葉洞腫瘍）である。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性癌は、卵巣癌である。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性癌は、絨毛癌である。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性癌は、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍である。

【０６１４】

ＹＳＴは、３歳未満の小児における最も一般的な精巣腫瘍であり、乳児胎生期癌としても知られている。乳児に典型的な純粋形態とは異なり、成人ＹＳＴは、多くの場合、他の種類の胚細胞腫瘍、特に奇形腫及び胎生期癌と組み合わせてみられる。純粋な奇形腫は通常良性であるが、ＹＳＴは悪性である。

【０６１５】

ＧＰＣ３は、卵巣癌の２０％未満であるが、卵巣明細胞癌の６０％超で発現し、このことは、ＧＰＣ３が、卵巣明細胞癌の潜在的バイオマーカーとなり得ることを示唆している。ＧＰＣ３免疫染色は、ＹＳＴ及び絨毛癌の診断において有益であり得る。

【０６１６】

絨毛癌は、通常胎盤における悪性の絨毛性癌である。絨毛癌は、胎盤以外の原発巣で稀に発生し、非常に稀に、精巣で発生する。成人精巣の純粋な絨毛癌は稀であるが、成人における胚細胞腫瘍（ＧＣＴ）の最も侵襲性の高い病理的変異型を表す。早期血行性及びリンパ性転移拡散を特徴とする。患者は、初期の拡散及び抗癌剤に対する固有の耐性に起因して、予後が非常に悪い。

【０６１７】

ＧＰＣ３は、黒色腫の診断のための腫瘍マーカーとして、特に疾患の初期段階で使用することができるが、その理由は、ＧＰＣ３のｍＲＮＡ及びタンパク質が、黒色腫及びメラノサイト母斑の＞８０％にみられるためである。

【０６１８】

また、ＧＰＣ３の発現は、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍細胞、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、及びＧＰＣ３－ＧＣと呼ばれる異なる胃癌群においてもみられる。したがって、いくつかの実施形態では、本発明は、これらのＧＰＣ３陽性疾患を治療又は診断するために使用することができる。

【０６１９】

癌治療は、例えば、腫瘍の退縮、腫瘍の重量又はサイズの収縮、増殖抑制時間、生存期間、無増悪生存期間、全奏効率、奏功期間、生活の質、タンパク質発現、及び／又は活性によって評価することができる。例えば、放射線撮像を通した応答の測定を含む、治療の有効性を決定するためのアプローチを使用してよい。

【０６２０】

抗ＧＰＣ３コンストラクトを使用する診断、検出、及び撮像の方法

【０６２１】
ＧＰＣ３（細胞表面結合又は可溶性のいずれか）に特異的に結合する、標識された抗ＧＰＣ３抗体部分並びにその誘導体及びアナログ（例えば、標識を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体）は、癌（例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫）などの上記疾患及び障害のいずれかを含む、ＧＰＣ３の発現、異常な発現、及び／又は活性に関連する疾患及び／又は障害を検出、診断、又はモニタリングするために診断目的で使用することができる。例えば、本発明の抗ＧＰＣ３抗体部分は、インサイチュ、インビボ、エクスビボ、及びインビトロの診断アッセイ又は撮像アッセイで使用することができる。

【０６２２】
本発明の更なる実施形態は、サンプル中のＧＰＣ３を検出する方法であって、当該サンプルを、本明細書に記載の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、標識を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体など）と接触させることと、標識の存在を検出することと、を含む。いくつかの実施形態では、サンプルは、細胞表面結合ＧＰＣ３を有する細胞を含む。いくつかの実施形態では、サンプルは、可溶性ＧＰＣ３を含む。

【０６２３】
本発明の更なる実施形態は、個体（例えば、ヒトなどの哺乳類）におけるＧＰＣ３の発現又は異常な発現に関連する疾患又は障害を診断する方法を含む。方法は、個体における細胞表面結合ＧＰＣ３又は可溶性ＧＰＣ３を検出することを含む。いくつかの実施形態では、個体（例えば、ヒトなどの哺乳類）におけるＧＰＣ３の発現又は異常な発現に関連する疾患又は障害を診断する方法であって、（ａ）上記の実施形態のいずれかによる標識された抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、標識を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体）の有効量を当該個体に投与することと、（ｂ）閾値レベルを上回る当該標識のレベルが、当該個体がＧＰＣ３陽性疾患又は障害を有することを示すように、当該個体における当該標識のレベルを決定することと、を含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、ＧＰＣ３陽性疾患又は障害は、癌である。いくつかの実施形態では、癌は、例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、及び脂肪肉腫からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、癌は、ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣであり、方法は、個体の血液中の標識のレベルを決定することを更に含む。いくつかの実施形態では、個体（例えば、ヒトなどの哺乳類）におけるＨＣＣ（例えば、転移性ＨＣＣ）を診断する方法であって、（ａ）上記の実施形態のいずれかによる標識された抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、標識を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体）の有効量を当該個体に投与することと、（ｂ）閾値レベルを上回る当該標識のレベルが、当該個体がＨＣＣ（例えば、転移性ＨＣＣ）を有することを示すように、当該個体における当該標識のレベルを決定することと、を含む方法が提供される。閾値レベルは、例えば、疾患又は障害を有する個体の第１のセット及び疾患又は障害を有さない個体の第２のセットにおいて、上記の診断方法に従って標識を検出し、第１のセットと第２のセットとの識別を可能にするレベルに当該閾値を設定することを含む、様々な方法によって決定することができる。いくつかの実施形態では、閾値レベルはゼロであり、方法は、個体における標識の有無を判定することを含む。いくつかの実施形態では、方法は、標識された抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、標識を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体）を、ＧＰＣ３が発現する個体の部位（例えば、ＧＰＣ３陽性腫瘍部位、及び未結合の標識された抗ＧＰＣ３抗体部分がクリアランスされる）で優先的に濃縮することを可能にするために、工程（ａ）の投与後に一定期間待つことを更に含む。いくつかの実施形態では、方法は、標識のバックグラウンドレベルを減じることを更に含む。バックグラウンドレベルは、例えば、標識された抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、標識を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体）を投与する前に個体における標識を検出すること、又は疾患若しくは障害を有さない個体において上記の診断方法に従って標識を検出することを含む、様々な方法によって決定

することができる。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。
【０６２４】
いくつかの実施形態では、個体（例えば、ヒトなどの哺乳類）におけるＧＰＣ３の発現又は異常な発現に関連する疾患又は障害を診断する方法であって、（ａ）上記の実施形態のいずれかによる標識された抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、標識を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体）を当該個体に由来するサンプル（全血又はホモジナイズされた組織など）と接触させることと、（ｂ）閾値レベルを上回る、当該標識された抗ＧＰＣ３抗体部分に結合した細胞の数の値が、個体が当該疾患又は障害を有することを示すように、当該サンプル中の当該標識された抗ＧＰＣ３抗体部分に結合した細胞の数を決定することと、を含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、疾患又は障害は、癌である。いくつかの実施形態では、癌は、例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、及び脂肪肉腫からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、癌は、ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣであり、サンプルは、血液サンプル（全血など）である。いくつかの実施形態では、癌は、転移性ＨＣＣである。いくつかの実施形態では、個体（例えば、ヒトなどの哺乳類）におけるＨＣＣ（例えば、転移性ＨＣＣ）を診断する方法であって、（ａ）上記の実施形態のいずれかによる標識された抗ＧＰＣ３抗体部分を当該個体に由来するサンプル（全血など）と接触させることと、（ｂ）閾値レベルを上回る、当該標識された抗ＧＰＣ３抗体部分に結合した細胞の数の値が、当該個体がＨＣＣ（例えば、転移性ＨＣＣ）を有することを示すように、当該サンプル中の当該標識された抗ＧＰＣ３抗体部分に結合した細胞の数を決定することと、を含む方法が提供される。閾値レベルは、例えば、疾患又は障害を有する個体の第１のセット及び疾患又は障害を有さない個体の第２のセットにおいて、上記の診断方法に従って、標識された抗ＧＰＣ３抗体部分に結合した細胞の数を決定し、第１のセットと第２のセットとの識別を可能にするレベルに当該閾値を設定することを含む、様々な方法によって決定することができる。いくつかの実施形態では、閾値レベルはゼロであり、方法は、サンプル中の標識された抗ＧＰＣ３抗体部分に結合した細胞の有無を判定することを含む。いくつかの実施形態では、方法は、標識された抗ＧＰＣ３抗体部分と結合した細胞の数のバックグラウンドレベルを減じることを更に含む。バックグラウンドレベルは、例えば、標識された抗ＧＰＣ３抗体部分を投与する前に個体における当該標識された抗ＧＰＣ３抗体部分に結合した細胞の数を決定すること、又は疾患若しくは障害を有さない個体において上記の診断方法に従って、当該標識された抗ＧＰＣ３抗体部分に結合した細胞の数を決定することを含む、様々な方法によって決定することができる。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。
【０６２５】
本発明の抗ＧＰＣ３抗体部分を使用して、当業者に既知の方法を使用して、生体サンプル中のＧＰＣ３のレベルをアッセイすることができる。好適な抗体標識は、当該技術分野において既知であり、以下を含む：グルコースオキシダーゼなどの酵素標識；ヨウ素（^{131}Ｉ、^{125}Ｉ、^{123}Ｉ、^{121}Ｉ）、炭素（^{14}Ｃ）、硫黄（^{35}Ｓ）、トリチウム（^{3}Ｈ）、インジウム（^{115m}Ｉｎ、^{113m}Ｉｎ、^{112}Ｉｎ、^{111}Ｉｎ）、テクネチウム（^{99}Ｔｃ、^{99m}Ｔｃ）、タリウム（^{201}Ｔｉ）、ガリウム（^{68}Ｇａ、^{67}Ｇａ）、パラジウム（^{103}Ｐｄ）、モリブデン（^{99}Ｍｏ）、キセノン（^{133}Ｘｅ）、フッ素（^{18}Ｆ）、サマリウム（^{153}Ｓｍ）、ルテチウム（^{177}Ｌｕ）、ガドリニウム（^{159}Ｇｄ）、プロメチウム（^{149}Ｐｍ）、ランタン（^{140}Ｌａ）、イッテルビウム（^{175}Ｙｂ）、ホルミウム（^{166}Ｈｏ）、イットリウム（^{90}Ｙ）、スカンジウム（^{47}Ｓｃ）、レニウム（^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ）、プラセオジム（^{142}Ｐｒ）、ロジウム（^{105}Ｒｈ）、及びルテニウム（^{97}Ｒｕ）などの放射性同位体；ルミノール；フルオレセイン及びローダミンなどの蛍光標識；並びにビオチン。
【０６２６】
当該技術分野において既知の技術を、本発明の標識された抗ＧＰＣ３抗体部分（例えば、標識を含む抗ＧＰＣ３免疫複合体）に適用することができる。このような技術としては

、二官能性複合体化剤の使用が挙げられるが、これらに限定されない（例えば、米国特許第５，７５６，０６５号、同第５，７１４，６３１号、同第５，６９６，２３９号、同第５，６５２，３６１号、同第５，５０５，９３１号、同第５，４８９，４２５号、同第５，４３５，９９０号、同第５，４２８，１３９号、同第５，３４２，６０４号、同第５，２７４，１１９号、同第４，９９４，５６０号、及び同第５，８０８，００３号を参照されたい）。上記アッセイとは別に、様々なインビボ及びエクスビボアッセイが、当業者に利用可能である。例えば、被験体の体内の細胞を、場合により、検出可能な標識、例えば放射性同位体で標識された抗ＧＰＣ３抗体部分に曝露してよく、例えば、放射活性を外部走査することによって、又は抗ＧＰＣ３抗体部分に以前に曝露された被験体に由来するサンプル（例えば、生検又は他の生体サンプル）を分析することによって、当該抗ＧＰＣ３抗体部分の当該細胞への結合を評価してよい。

製品及びキット

【０６２７】

本発明のいくつかの実施形態では、癌（例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫）などのＧＰＣ３陽性疾患の治療のため、その表面上でＧＰＣ３を発現している細胞に抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を送達するため、又は細胞表面上でＧＰＣ３を発現している細胞を単離若しくは検出するため、又は個体における可溶性ＧＰＣ３を単離若しくは検出するために有用な物質を含有する製品が提供される。製品は、容器と、この容器上にある又はこの容器に付随したラベル又は添付文書と、を含むことができる。好適な容器としては、例えば、瓶、バイアル、シリンジなどが挙げられる。容器は、ガラス又はプラスチックなどの様々な材料から形成されていてよい。一般に、容器は、本明細書に記載の疾患又は障害を治療するのに有効な組成物を保持し、無菌アクセスポートを有し得る（例えば、容器は、皮下注射針によって貫通可能な栓を有する静脈注射用溶液のバッグ又はバイアルであってよい）。組成物中の少なくとも１つの活性剤は、本発明の抗ＧＰＣ３コンストラクトである。ラベル又は添付文書は、特定の病態を治療するために組成物が使用されることを示す。ラベル又は添付文書は、抗ＧＰＣ３コンストラクト組成物を患者に投与するための説明書を更に含む。本明細書に記載の併用療法を含む製品及びキットも想到される。

【０６２８】

添付文書は、治療用製品の商品パッケージに習慣的に含まれている、このような治療用製品の使用に関しての指示、使用法、投薬量、投与、禁忌及び／又は警告に関する情報を記載している説明書を参照する。いくつかの実施形態では、添付文書は、癌（例えば、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、又は脂肪肉腫）を治療するために組成物が使用されることを示す。

【０６２９】

加えて、製品は、静菌注射用水（ＢＷＦＩ）、リン酸緩衝食塩水、リンガー液及びブドウ糖液など、医薬上許容される緩衝液を含む第２の容器を更に含んでよい。これは、他の緩衝液、希釈液、濾過器、針、及び注射器を含めて、商業上及び利用者の立場からの他の好ましい材料を更に含んでよい。

【０６３０】

場合により製品と組み合わせて、様々な目的、例えば、本明細書に記載のＧＰＣ３陽性疾患若しくは障害を治療するため、その表面上でＧＰＣ３を発現している細胞に抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトなど）を送達するため、又は細胞表面上でＧＰＣ３を発現している細胞を単離若しくは検出するため、又は個体における可溶性ＧＰＣ３を単離若しくは検出するために有用なキットも提供される。本発明のキットは、抗ＧＰＣ３コンストラクト組成物（又は単位剤形及び／又は製品）を含む１つ以上の容器を含み、いくつかの実施形態では、別の剤（本明細書に記載の剤など）及び／又は本明細書に記載の方法のいずれかに従って使用するための説明書を更に含む。このキット

は、処置に適している個体の選択についての説明を更に含んでよい。本発明のキットで提供される説明書は、典型的には、ラベル又は添付文書（例えば、キットに含まれる紙シート）に書かれた説明書であるが、機械で読み取り可能な説明書（例えば、磁気又は光学保存ディスクに保持された説明書）も許容可能である。

【０６３１】

例えば、いくつかの実施形態では、キットは、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖ、完全長抗ＧＰＣ３抗体、多重特異性抗ＧＰＣ３分子（二重特異性抗ＧＰＣ３抗体など）、又は抗ＧＰＣ３免疫複合体など）を含む組成物を含む。いくつかの実施形態では、キットは、ａ）抗ＧＰＣ３コンストラクトを含む組成物と、ｂ）有効量の少なくとも１つの他の剤であって、抗ＧＰＣ３コンストラクトの効果（例えば、治療効果、検出効果）を増強する他の剤と、を含む。いくつかの実施形態では、キットは、ａ）抗ＧＰＣ３コンストラクトを含む組成物と、ｂ）ＨＣＣなどのＧＰＣ３陽性疾患の治療のために、抗ＧＰＣ３コンストラクト組成物を個体に投与するための説明書と、を含む。いくつかの実施形態では、キットは、ａ）抗ＧＰＣ３コンストラクトを含む組成物と、ｂ）有効量の少なくとも１つの他の剤であって、抗ＧＰＣ３コンストラクトの効果（例えば、治療効果、検出効果）を増強する他の剤と、ｃ）ＨＣＣなどのＧＰＣ３陽性疾患の治療のために、抗ＧＰＣ３コンストラクト組成物及び他の剤を個体に投与するための説明書と、を含む。抗ＧＰＣ３コンストラクト及び他の剤は、別個の容器内に又は単一の容器内に存在し得る。例えば、キットは、１つの明確な組成物を含んでいてもよく、又は１つの組成物が抗ＧＰＣ３コンストラクトを含み、別の組成物が別の剤を含む２つ以上の組成物を含んでいてもよい。

【０６３２】

いくつかの実施形態では、キットは、ａ）抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖ、完全長抗ＧＰＣ３抗体、多重特異性抗ＧＰＣ３分子（二重特異性抗ＧＰＣ３抗体など）、又は抗ＧＰＣ３免疫複合体など）を含む組成物と、ｂ）抗ＧＰＣ３コンストラクト／細胞複合体を含む組成物を形成するために当該抗ＧＰＣ３コンストラクトを細胞（エフェクタ細胞、例えば、個体に由来する免疫細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、又はｃａＴＣＲ－Ｔ細胞など）と組み合わせ、ＧＰＣ３陽性疾患（ＨＣＣなど）の治療のために、抗ＧＰＣ３コンストラクト／細胞複合体組成物を個体に投与するための説明書と、を含む。いくつかの実施形態では、キットは、ａ）抗ＧＰＣ３コンストラクトを含む組成物と、ｂ）細胞（細胞傷害性細胞、例えば、細胞傷害性Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、又はｃａＴＣＲ－Ｔ細胞など）と、を含む。いくつかの実施形態では、キットは、ａ）抗ＧＰＣ３コンストラクトを含む組成物と、ｂ）細胞（細胞傷害性細胞、例えば、細胞傷害性Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、又はｃａＴＣＲ－Ｔ細胞など）と、ｃ）抗ＧＰＣ３コンストラクト／細胞複合体を含む組成物を形成するために当該抗ＧＰＣ３コンストラクトを当該細胞と組み合わせ、ＨＣＣなどのＧＰＣ３陽性疾患の治療のために、抗ＧＰＣ３コンストラクト／細胞複合体組成物を個体に投与するための説明書と、を含む。いくつかの実施形態では、キットは、細胞（細胞傷害性細胞、例えば、細胞傷害性Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、又はｃａＴＣＲ－Ｔ細胞など）と会合している抗ＧＰＣ３コンストラクトを含む組成物を含む。いくつかの実施形態では、キットは、ａ）細胞（細胞傷害性細胞、例えば、細胞傷害性Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、又はｃａＴＣＲ－Ｔ細胞など）と会合している抗ＧＰＣ３コンストラクトを含む組成物と、ｂ）ＨＣＣなどのＧＰＣ３陽性疾患の治療のために、当該組成物を個体に投与するための説明書と、を含む。いくつかの実施形態では、会合は、抗ＧＰＣ３コンストラクトを細胞の表面上の分子と複合体化させることによる。いくつかの実施形態では、会合は、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ）の一部を細胞の外膜に挿入することによる。

【０６３３】

いくつかの実施形態では、キットは、抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖ、完全長抗ＧＰＣ３抗体、多重特異性

抗ＧＰＣ３分子（二重特異性抗ＧＰＣ３抗体など）、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ、又は抗ＧＰＣ３免疫複合体など）又はこれらのポリペプチド部分をコードしている核酸（又は核酸のセット）を含む。いくつかの実施形態では、キットは、ａ）抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）又はそのポリペプチド部分をコードしている核酸（又は核酸のセット）と、ｂ）核酸（又は核酸のセット）を発現させるための宿主細胞（エフェクタ細胞、例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、又はｃａＴＣＲ－Ｔ細胞など）と、を含む。いくつかの実施形態では、キットは、ａ）抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）又はそのポリペプチド部分をコードしている核酸（又は核酸のセット）と、ｂ）ｉ）宿主細胞（エフェクタ細胞、例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、又はｃａＴＣＲ－Ｔ細胞など）において当該抗ＧＰＣ３コンストラクトを発現させ、ｉｉ）当該抗ＧＰＣ３コンストラクト又は当該抗ＧＰＣ３コンストラクトを発現している宿主細胞を含む組成物を調製し、ｉｉｉ）ＨＣＣなどのＧＰＣ３陽性疾患の治療のために、当該抗ＧＰＣ３コンストラクト又は当該抗ＧＰＣ３コンストラクトを発現している宿主細胞を含む組成物を個体に投与するための説明書と、を含む。いくつかの実施形態では、宿主細胞は個体に由来する。いくつかの実施形態では、キットは、ａ）抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）又はそのポリペプチド部分をコードしている核酸（又は核酸のセット）と、ｂ）当該核酸（又は核酸のセット）を発現させるための宿主細胞（エフェクタ細胞、例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、又はｃａＴＣＲ－Ｔ細胞など）と、ｃ）ｉ）当該宿主細胞において当該抗ＧＰＣ３コンストラクトを発現させ、ｉｉ）当該抗ＧＰＣ３コンストラクト又は当該抗ＧＰＣ３コンストラクトを発現している宿主細胞を含む組成物を調製し、ｉｉｉ）ＨＣＣなどのＧＰＣ３陽性疾患の治療のために、当該抗ＧＰＣ３コンストラクト又は当該抗ＧＰＣ３コンストラクトを発現している宿主細胞を含む組成物を個体に投与するための説明書と、を含む。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）又はそのポリペプチド部分の発現は、誘導性である。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）又はそのポリペプチド部分をコードしている核酸（又は核酸のセット）は、誘導性プロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、エフェクタ細胞（例えば、Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞、ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞）における抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）又はそのポリペプチド部分の発現は、エフェクタ細胞（例えば、ＴＣＲ、ＣＡＲ、ｃａＴＣＲ）上のシグナル伝達受容体を介したシグナル伝達の際に誘導可能である。例えば、いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）又はそのポリペプチド部分をコードしている核酸（又は核酸のセット）は、キットの説明書に従って、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）又はそのポリペプチド部分をコードしている核酸（又は核酸のセット）をＣＡＲ－Ｔ細胞に導入し、当該抗ＧＰＣ３コンストラクト又は当該抗ＧＰＣ３コンストラクトを発現している宿主細胞を含む組成物を、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体に導入した際に、ＣＡＲ－Ｔ細胞上のＣＡＲを介したシグナル伝達に応答する誘導性プロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）又はそのポリペプチド部分をコードしている核酸（又は核酸のセット）は、キットの説明書に従って、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）又はそのポリペプチド部分をコードしている核酸（又は核酸のセット）をｃａＴＣＲ－Ｔ細胞に導入し、当該抗ＧＰＣ３コンストラクト又は当該抗ＧＰＣ３コンストラクトを発現している宿主細胞を含む組成物を、ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体に導入した際に、ｃａＴＣＲ－Ｔ細胞上のｃａＴＣＲを介したシグナル伝達に応答する誘導性プロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ

Ｔ細胞エンゲージャ）又はそのポリペプチド部分をコードしている核酸（又は核酸のセット）は、ＮＦＡＴ由来プロモータに動作可能に連結している。いくつかの実施形態では、ＮＦＡＴ由来プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータである。いくつかの実施形態では、抗ＧＰＣ３コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ Ｔ細胞エンゲージャ）又はそのポリペプチド部分をコードしている核酸（又は核酸のセット）は、ＩＬ－２プロモータに動作可能に連結している。

【０６３４】

いくつかの実施形態では、キットは、抗ＧＰＣ３ ＣＡＲをコードしている核酸を含む。いくつかの実施形態では、キットは、抗ＧＰＣ３ ＣＡＲをコードしている核酸を含むベクターを含む。いくつかの実施形態では、キットは、ａ）抗ＧＰＣ３ ＣＡＲをコードしている核酸を含むベクターと、ｂ）ｉ）個体由来のＴ細胞などのエフェクタ細胞に当該ベクターを導入し、ｉｉ）抗ＧＰＣ３ ＣＡＲエフェクタ細胞を含む組成物を調製し、ｉｉｉ）ＨＣＣなどのＧＰＣ３陽性疾患の治療のために、抗ＧＰＣ３ ＣＡＲエフェクタ細胞組成物を当該個体に投与するための説明書と、を含む。

【０６３５】

いくつかの実施形態では、キットは、抗ＧＰＣ３ ＣＡＲをコードしている第１の核酸と、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている第２の核酸と、を含む。いくつかの実施形態では、キットは、抗ＧＰＣ３ ＣＡＲをコードしている核酸を含む第１のベクターと、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸を含む第２のベクターと、を含む。いくつかの実施形態では、キットは、抗ＧＰＣ３ ＣＡＲをコードしている第１の核酸と、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている第２の核酸と、を含むベクターを含む。いくつかの実施形態では、キットは、ａ）抗ＧＰＣ３ ＣＡＲをコードしている核酸を含む第１のベクター及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸を含む第２のベクターと、ｂ）ｉ）個体由来のＴ細胞などのエフェクタ細胞に当該ベクターを導入し、ｉｉ）抗ＧＰＣ３ ＣＡＲエフェクタ細胞及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子を含む組成物を調製し、ｉｉｉ）ＨＣＣなどのＧＰＣ３陽性疾患の治療のために、抗ＧＰＣ３ ＣＡＲエフェクタ細胞及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子組成物を当該個体に投与するための説明書と、を含む。いくつかの実施形態では、キットは、ａ）抗ＧＰＣ３ ＣＡＲをコードしている第１の核酸及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている第２の核酸を含むベクターと、ｂ）ｉ）個体由来のＴ細胞などのエフェクタ細胞に当該ベクターを導入し、ｉｉ）抗ＧＰＣ３ ＣＡＲエフェクタ細胞及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子を含む組成物を調製し、ｉｉｉ）ＨＣＣなどのＧＰＣ３陽性疾患の治療のために、抗ＧＰＣ３ ＣＡＲエフェクタ細胞及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子組成物を当該個体に投与するための説明書と、を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸は、誘導性プロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、（例えば、ＧＰＣ３陽性疾患環境における）抗ＧＰＣ３－ＣＡＲのシグナル伝達を介して誘導可能である。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸は、ＮＦＡＴ由来プロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、ＮＦＡＴ由来プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータである。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タ

ンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸は、ＩＬ－２プロモータの制御下にある。

【０６３６】

いくつかの実施形態では、キットは、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲをコードしている核酸を含む。いくつかの実施形態では、キットは、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲをコードしている核酸を含むベクターを含む。いくつかの実施形態では、キットは、ａ）抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲをコードしている核酸を含むベクターと、ｂ）ｉ）個体由来のＴ細胞などのエフェクタ細胞に当該ベクターを導入し、ｉｉ）抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞を含む組成物を調製し、ｉｉｉ）ＨＣＣなどのＧＰＣ３陽性疾患の治療のために、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞組成物を当該個体に投与するための説明書と、を含む。

【０６３７】

いくつかの実施形態では、キットは、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲをコードしている第１の核酸と、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている第２の核酸と、を含む。いくつかの実施形態では、キットは、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲをコードしている核酸を含む第１のベクターと、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸を含む第２のベクターと、を含む。いくつかの実施形態では、キットは、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲをコードしている第１の核酸と、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている第２の核酸と、を含むベクターを含む。いくつかの実施形態では、キットは、ａ）抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲをコードしている核酸を含む第１のベクター及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸を含む第２のベクターと、ｂ）ｉ）個体由来のＴ細胞などのエフェクタ細胞に当該ベクターを導入し、ｉｉ）抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子を含む組成物を調製し、ｉｉｉ）ＨＣＣなどのＧＰＣ３陽性疾患の治療のために、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子組成物を当該個体に投与するための説明書と、を含む。いくつかの実施形態では、キットは、ａ）抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲをコードしている第１の核酸及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている第２の核酸を含むベクターと、ｂ）ｉ）個体由来のＴ細胞などのエフェクタ細胞に当該ベクターを導入し、ｉｉ）抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子を含む組成物を調製し、ｉｉｉ）ＨＣＣなどのＧＰＣ３陽性疾患の治療のために、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲエフェクタ細胞及び多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子組成物を当該個体に投与するための説明書と、を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸は、誘導性プロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）の発現は、（例えば、ＧＰＣ３陽性疾患環境における）抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲのシグナル伝達を介して誘導可能である。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸は、ＮＦＡＴ由来プロモータの制御下にある。いくつかの実施形態では、ＮＦＡＴ由来プロモータは、ＮＦＡＴ由来のミニマルプロモータである。いくつかの実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗ＧＰＣ３分子（例えば、抗ＧＰＣ３×ＣＤ３タンデムジｓｃＦｖ　Ｔ細胞エンゲージャ）をコードしている核酸は、ＩＬ－２プロモータの制御下にある。

【０６３８】

本発明のキットは、好適なパッケージに入っている。好適なパッケージには、バイアル

、ボトル、ジャー、可撓性パッケージ（例えば、密閉Ｍｙｌａｒ又はプラスチック袋）などが挙げられるが、これらに限定されない。キットは、場合により、緩衝材及び解釈的情報など追加構成要素を提供してよい。したがって、本願はまた、バイアル（密閉バイアルなど）、ボトル、ジャー、可撓性パッケージなどを含む製品を提供する。

【０６３９】

抗ＧＰＣ３コンストラクト組成物の使用に関する説明書は、一般に、意図する治療のための投薬量、投与スケジュール、及び投与経路に関する情報を含む。容器は、単位用量、大量容器（例えば、複数回用量パッケージ）又は亜単位用量であってよい。例えば、１週間、８日間、９日間、１０日間、１１日間、１２日間、１３日間、２週間、３週間、４週間、６週間、８週間、３ヶ月間、４ヶ月間、５ヶ月間、７ヶ月間、８ヶ月間、９ヶ月間、又はそれ以上のいずれかなどの長期間にわたって個体の有効な治療を提供するために、本明細書に開示の抗ＧＰＣ３コンストラクト（単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、例えば、抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖ、完全長抗ＧＰＣ３抗体、多重特異性抗ＧＰＣ３分子（二重特異性抗ＧＰＣ３抗体など）、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲ、抗ＧＰＣ３　ｃａＴＣＲ、又は抗ＧＰＣ３免疫複合体など）の十分な投薬量を含むキットが提供され得る。キットはまた、複数の単位用量の抗ＧＰＣ３コンストラクト及び医薬組成物と、使用説明書とを含んでいてもよく、例えば、院内薬局及び調剤薬局など薬局で保管及び使用するのに十分な量でパッケージ化される。

【０６４０】

当業者は、本発明の範囲及び趣旨内でいくつかの実施形態が可能であることを理解するであろう。次に、以下の非限定的な実施例を参照して、本発明を更に詳細に説明する。以下の実施例は、本発明を更に説明するが、当然のことながら、決してその範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。

例示的な実施形態

【０６４１】

実施形態１．細胞表面結合グリピカン３（ＧＰＣ３）を特異的に認識する抗体部分を含む、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０６４２】

実施形態２．当該抗体部分が、高い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、低い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する、実施形態１に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０６４３】

実施形態３．当該抗ＧＰＣ３コンストラクトの当該細胞表面結合ＧＰＣ３に対するK_dが、約０．１ｎＭ～約２ｎＭである、実施形態２に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０６４４】

実施形態４．当該抗ＧＰＣ３コンストラクトと当該細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合に競合する可溶性ＧＰＣ３のＩＣ５０が、約１μｇ／ｍＬ～約１００μｇ／ｍＬである、実施形態２又は３に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０６４５】

実施形態５．当該抗体部分が、低い結合親和性で細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識し、高い結合親和性で可溶性ＧＰＣ３に結合する、実施形態１に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０６４６】

実施形態６．当該抗ＧＰＣ３コンストラクトの当該細胞表面結合ＧＰＣ３に対するK_dが、約１０ｎＭ～約１００ｎＭである、実施形態５に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０６４７】

実施形態７．当該抗ＧＰＣ３コンストラクトと当該細胞表面結合ＧＰＣ３との間の結合に競合する可溶性ＧＰＣ３のＩＣ５０が、約０．０１μｇ／ｍＬ～約１μｇ／ｍＬである

、実施形態５又は６に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６４８】
実施形態８．当該細胞表面結合ＧＰＣ３が、ＨｅｐＧ２細胞で発現するＧＰＣ３である、実施形態３～７のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６４９】
実施形態９．当該細胞表面結合ＧＰＣ３が、配列番号４６０又は配列番号４６２のアミノ酸配列を含む、実施形態１～８のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６５０】
実施形態１０．当該可溶性ＧＰＣ３が、配列番号４６１又は配列番号４６３のアミノ酸配列を含む、実施形態１～９のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６５１】
実施形態１１．当該抗体部分が、配列番号４６０のアミノ酸配列を含むヒトＧＰＣ３内のエピトープを特異的に認識する、実施形態１～１０のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６５２】
実施形態１２．当該抗体部分が、配列番号４６０のアミノ酸１～５６０（配列番号４６１）内のエピトープを特異的に認識する、実施形態１１に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６５３】
実施形態１３．当該抗体部分が、配列番号４６０のアミノ酸２５～５８０（配列番号４６２）内のエピトープを特異的に認識する、実施形態１１に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６５４】
実施形態１４．当該抗体部分が、配列番号４６０のアミノ酸２５～５６０（配列番号４６３）内のエピトープを特異的に認識する、実施形態１１又は１２に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６５５】
実施形態１５．当該抗体部分が、ＧＰＣ３のＮ末端断片内のエピトープを特異的に認識する、実施形態１～１５のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６５６】
実施形態１６．当該抗体部分が、配列番号４６０のアミノ酸２５～３５８（配列番号４６４）内のエピトープを特異的に認識する、実施形態１５に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６５７】
実施形態１７．当該抗体部分が、ＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する、実施形態１～１５のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６５８】
実施形態１８．当該抗体部分が、ヘパリン硫酸側鎖を欠いているＧＰＣ３のＣ末端断片内のエピトープを特異的に認識する、実施形態１７に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６５９】
実施形態１９．当該抗体部分が、ＧＣ３３と競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合しない、実施形態１～１８のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６６０】
実施形態２０．当該抗体部分が、配列番号４６０のアミノ酸５２４～５６５（配列番号５３６）内のエピトープには結合しない、実施形態１９に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０６６１】
実施形態２１．当該抗体部分が、配列番号４６０のアミノ酸５２４～５６５（配列番号５３６）を含む断片には結合しない、実施形態１９又は２０に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６６２】
実施形態２２．当該ＧＰＣ３が、ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ、Ｈｕｈ７、ＪＨＨ－７、及び２９３からなる群から選択される細胞の表面上で発現する、実施形態１～２１のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６６３】
実施形態２３．当該ＧＰＣ３が癌細胞の表面上で発現する、実施形態１～２２のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６６４】
実施形態２４．当該癌細胞が肝臓癌細胞である、実施形態２３に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６６５】
実施形態２５．当該癌細胞が肝細胞癌（ＨＣＣ）である、実施形態２４に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６６６】
実施形態２６．細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトであって、当該抗体部分が、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含む重鎖相補性決定領域（ＨＣ－ＣＤＲ）１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含む重鎖可変ドメイン（V_H）と、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含む軽鎖相補性決定領域（ＬＣ－ＣＤＲ）１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含む軽鎖可変ドメイン（V_L）とを含む、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６６７】
実施形態２７．当該抗体部分が、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、実施形態２６に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６６８】
実施形態２８．当該抗体部分が、ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列又は配列番号３０７～３３７のいずれか１つに対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列又は配列番号３５８～３８８のいずれか１つに対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む、実施形態２６又は２７に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６６９】
実施形態２９．当該抗体部分が、ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lとを含む、実施形態２８に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０６７０】
実施形態３０．細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトであって、当該抗体部分が、ｉ）配列番号３０７～３３７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、ｉｉ）配列番号３５８～３８８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_LのＬＣ－ＣＤＲとを含む、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６７１】
実施形態３１．細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトであって、当該抗体部分が、ｉ）配列番号１～３１のいずれか１つのアミノ酸配列、配列番号５２～８２のいずれか１つのアミノ酸配列、及び配列番号１０３～１３３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨと、ｉｉ）配列番号１５４～１８４のいずれか１つのアミノ酸配列、配列番号２０５～２３５のいずれか１つのアミノ酸配列、及び配列番号２５６～２８６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lとを含む、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６７２】
実施形態３２．ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトであって、当該抗体部分が、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約３個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列又は最大約５個のアミノ酸置換を含むその変異型を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６７３】
実施形態３３．当該抗体部分が、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ１、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＨＣ－ＣＤＲ３を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ１、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ２、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＬＣ－ＣＤＲ３を含むV_Lとを含む、実施形態３２に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６７４】
実施形態３４．当該抗体部分が、ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列又は配列番号３３８～３５７のいずれか１つに対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するその変異型を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列又は配列番号３８９～４０８のいずれか１つに対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するその変異型を含むV_Lとを含む、実施形態３２又は３３に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６７５】
実施形態３５．当該抗体部分が、ｉ）配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Hと、ｉｉ）配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_Lとを含む、実施形態３４に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６７６】
実施形態３６．ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトであって、当該抗体部分が、配列番号３３８～３５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むV_HのＨＣ－ＣＤＲと、配列番号３８９～４０８のいずれか１つのアミノ酸

配列を含むＶ$_L$のＬＣ－ＣＤＲとを含む、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６７７】
実施形態３７．細胞表面結合ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分を含む単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトであって、当該抗体部分が、ｉ）配列番号３２～５１のいずれか１つのアミノ酸配列、配列番号８３～１０２のいずれか１つのアミノ酸配列、及び配列番号１３４～１５３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨと、ｉｉ）配列番号１８５～２０４のいずれか１つのアミノ酸配列、配列番号２３６～２５５のいずれか１つのアミノ酸配列、及び配列番号２８７～３０６のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶ$_L$とを含む、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６７８】
実施形態３８．実施形態１～３７のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトと競合的にＧＰＣ３に特異的に結合する抗体部分を含む、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６７９】
実施形態３９．実施形態１～３７のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトと競合的に同じ又は実質的に同じＧＰＣ３エピトープに特異的に結合する抗体部分を含む、単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６８０】
実施形態４０．当該ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分が、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である、実施形態１～３９のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６８１】
実施形態４１．当該ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分が、完全長抗体、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又は単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）である、実施形態１～４０のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６８２】
実施形態４２．当該ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分がｓｃＦｖである、実施形態４１に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６８３】
実施形態４３．当該ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分がＦａｂ又はＦａｂ’である、実施形態４１に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６８４】
実施形態４４．当該ＧＰＣ３を特異的に認識する抗体部分が、場合によりリンカーを介してＦｃ断片に融合している、実施形態１～４３のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６８５】
実施形態４５．当該Ｆｃ断片がＩｇＧ１　Ｆｃ断片である、実施形態４４に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６８６】
実施形態４６．当該単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが、完全長抗体である、実施形態１～４０及び４４～４５のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６８７】
実施形態４７．当該単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが、単一特異性である、実施形態１～４６のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６８８】
実施形態４８．当該単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが、多重特異性である、実施形態１～４６のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６８９】
実施形態４９．当該単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが、二重特異性である、実施

形態４８に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６９０】
実施形態５０．当該単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが、タンデムｓｃＦｖ、ダイアボディ（Ｄｂ）、単鎖ダイアボディ（ｓｃＤｂ）、二重親和性リターゲティング（ＤＡＲＴ）抗体、Ｆ（ａｂ’）２、二重可変ドメイン（ＤＶＤ）抗体、ノブ・インツー・ホール（ＫｉＨ）抗体、ドック・アンド・ロック（ＤＮＬ）抗体、化学的に架橋された抗体、ヘテロ多量体抗体、又はヘテロコンジュゲート抗体である、実施形態４８又は４９に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６９１】
実施形態５１．当該単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが、ペプチドリンカーによって連結された２つのｓｃＦｖを含むタンデムｓｃＦｖである、実施形態５０に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６９２】
実施形態５２．当該ペプチドリンカーが、ＴＳＧＧＧＧＳ（配列番号４７４）のアミノ酸配列を含む、実施形態５１に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６９３】
実施形態５３．当該単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが、第２の抗原を特異的に認識する第２の抗体部分を更に含む、実施形態４８～５２のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６９４】
実施形態５４．当該第２の抗原が、Ｔ細胞の表面上における抗原である、実施形態５３に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６９５】
実施形態５５．当該第２の抗原が、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、ＣＤ３ε、ＣＤ３ζ、ＣＤ２８、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＣＤ１３７、ＣＤ２７、ＣＤ４０Ｌ、及びＨＶＥＭからなる群から選択される、実施形態５４に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６９６】
実施形態５６．当該第２の抗原がＣＤ３εである、実施形態５５に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６９７】
実施形態５７．当該単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが、ＧＰＣ３を特異的に認識するＮ末端ｓｃＦｖと、ＣＤ３εを特異的に認識するＣ末端ｓｃＦｖとを含むタンデムｓｃＦｖである、実施形態５６に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６９８】
実施形態５８．当該第２の抗原が、Ｂ細胞、ナチュラルキラー細胞、樹状細胞、マクロファージ、単球、又は好中球の表面上における抗原である、実施形態５３に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０６９９】
実施形態５９．当該単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが、（ａ）当該抗体部分を含む細胞外ドメインと、（ｂ）膜貫通ドメインと、（ｃ）細胞内シグナル伝達ドメインと、を含むキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）である、実施形態１～４３のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０７００】
実施形態６０．当該細胞内シグナル伝達ドメインが、ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達配列及びＣＤ２８の細胞内シグナル伝達配列を含む、実施形態５９に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。
【０７０１】
実施形態６１．当該単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが、（ａ）当該抗体部分を含む細胞外ドメインと、（ｂ）第１のＴＣＲ膜貫通ドメイン（ＴＣＲ－ＴＭ）を含む第１のＴＣＲドメイン（ＴＣＲＤ）及び第２のＴＣＲ－ＴＭを含む第２のＴＣＲＤを含むＴ細胞

受容体モジュール（ＴＣＲＭ）と、を含み、当該ＴＣＲＭが、少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子の動員を促進する、キメラ抗体－Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）コンストラクト（ｃａＴＣＲ）である、実施形態１～４３のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０７０２】

実施形態６２．当該第１のＴＣＲ－ＴＭが、第１の天然に生じるＴＣＲの膜貫通ドメインのうちの１つに由来し、当該第２のＴＣＲ－ＴＭが、当該第１の天然に生じるＴＣＲの他の膜貫通ドメインに由来する、実施形態６１に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０７０３】

実施形態６３．当該ＴＣＲ－ＴＭのうちの少なくとも１つが天然には生じない、実施形態６１に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０７０４】

実施形態６４．当該ＴＣＲＭが、当該第１の天然に生じるＴ細胞受容体膜貫通ドメインを含むＴＣＲＭと比べて、当該少なくとも１つのＴＣＲ会合シグナル伝達分子の動員を増強させる、実施形態６３に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０７０５】

実施形態６５．当該第１の天然に生じるＴＣＲがγ／δＴＣＲである、実施形態６２に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０７０６】

実施形態６６．当該第１の天然に生じるＴＣＲがα／βＴＣＲである、実施形態６２に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０７０７】

実施形態６７．当該ＴＣＲ会合シグナル伝達分子が、ＣＤ３δε、ＣＤ３γε、及びζζからなる群から選択される、実施形態６１～６６のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０７０８】

実施形態６８．当該単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトが、当該抗体部分及びエフェクタ分子を含む免疫複合体である、実施形態１～５８のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０７０９】

実施形態６９．当該エフェクタ分子が、薬物、毒素、放射性同位体、タンパク質、ペプチド、及び核酸からなる群から選択される治療薬である、実施形態６８に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０７１０】

実施形態７０．当該治療薬が薬物又は毒素である、実施形態６９に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０７１１】

実施形態７１．当該エフェクタ分子が標識である、実施形態６８に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト。

【０７１２】

実施形態７２．実施形態１～７１のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトのポリペプチド構成要素をコードしている、単離された核酸。

【０７１３】

実施形態７３．実施形態７２に記載の単離された核酸を含む、ベクター。

【０７１４】

実施形態７４．実施形態１～７１のいずれか１つに記載の抗ＧＰＣ３コンストラクト、実施形態７２に記載の単離された核酸、又は実施形態７３に記載のベクターを含む、単離された宿主細胞。

【０７１５】

実施形態７５．実施形態５３～６７のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトを発現する、エフェクタ細胞。

【０７１６】

実施形態７６．当該エフェクタ細胞がＴ細胞である、実施形態７５に記載のエフェクタ細胞。

【０７１７】

実施形態７７．当該Ｔ細胞が、細胞傷害性Ｔ細胞、ヘルパーＴ細胞、及びナチュラルキラーＴ細胞からなる群から選択される、実施形態７６に記載のエフェクタ細胞。

【０７１８】

実施形態７８．当該抗ＧＰＣ３コンストラクトの発現が、当該エフェクタ細胞の活性化によって誘導される、実施形態７５～７７のいずれか１つに記載のエフェクタ細胞。

【０７１９】

実施形態７９．当該エフェクタ細胞が、キメラ抗体－Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）コンストラクト（ｃａＴＣＲ）を更に含む、実施形態７５～７８のいずれか１つに記載のエフェクタ細胞。

【０７２０】

実施形態８０．実施形態１～７１のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト又は実施形態７５～７９のいずれか１つに記載のエフェクタ細胞と、医薬的に許容される担体と、を含む医薬組成物。

【０７２１】

実施形態８１．実施形態１～７１のいずれか１つに記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクト、実施形態７２に記載の単離された核酸、実施形態７３に記載のベクター、実施形態７４に記載の単離された宿主細胞、実施形態７５～７９のいずれか１つに記載のエフェクタ細胞、又は実施形態８０に記載の医薬組成物を含むキット。

【０７２２】

実施形態８２．サンプル中のＧＰＣ３を検出する方法であって、当該サンプルを、実施形態７１に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトと接触させることと、標識の存在を検出することと、を含む、方法。

【０７２３】

実施形態８３．当該サンプルが、細胞表面結合ＧＰＣ３を有する細胞を含む、実施形態８２に記載の方法。

【０７２４】

実施形態８４．当該サンプルが可溶性ＧＰＣ３を含む、実施形態８３に記載の方法。

【０７２５】

実施形態８５．ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を治療する方法であって、有効量の実施形態８０に記載の医薬組成物を当該個体に投与することを含む、方法。

【０７２６】

実施形態８６．当該投与が静脈内又は腫瘍内の経路を介する、実施形態８５に記載の方法。

【０７２７】

実施形態８７．当該投与が、第１の疾患部位に対して遠位の注入部位に行われる、実施形態８５に記載の方法。

【０７２８】

実施形態８８．付加療法を当該個体に投与することを更に含む、実施形態８５～８７のいずれか１つに記載の方法。

【０７２９】

実施形態８９．ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を診断する方法であって、ａ）有効量の実施形態７１に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトを当該個体に投与することと、ｂ）当該個体における標識のレベルを決定することであって、閾値レベルを上回る当該標識のレベルが、当該個体が当該ＧＰＣ３陽性疾患を有することを示す、決定することと

、を含む、方法。
【０７３０】
実施形態９０．ＧＰＣ３陽性疾患を有する個体を診断する方法であって、ａ）当該個体に由来するサンプルを、実施形態７１に記載の単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトと接触させることと、ｂ）当該サンプル中の当該単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトに結合している細胞の数を決定することであって、閾値レベルを上回る、当該単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトに結合している細胞の数の値が、当該個体が当該ＧＰＣ３陽性疾患を有することを示す、決定することと、を含む、方法。
【０７３１】
実施形態９１．当該ＧＰＣ３陽性疾患が癌である、実施形態８５～９０のいずれか１つに記載の方法。
【０７３２】
実施形態９２．当該癌が、ＨＣＣ、黒色腫、肺扁平上皮細胞癌、卵巣癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、神経芽細胞腫、肝芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、胃癌、及び脂肪肉腫からなる群から選択される、実施形態９１に記載の方法。
【０７３３】
実施形態９３．当該癌がＨＣＣである、実施形態９２に記載の方法。
【０７３４】
実施形態９４．当該癌が転移性ＨＣＣである、実施形態９３に記載の方法。
【０７３５】
実施形態９５．単離された抗ＧＰＣ３コンストラクトを生成する方法であって、（ａ）当該抗ＧＰＣ３コンストラクトを発現するのに有効な条件下で、実施形態７２に記載の単離された核酸、又は実施形態７３に記載のベクター、又は実施形態７４に記載の単離された宿主細胞を含む宿主細胞を培養することと、（ｂ）発現した抗ＧＰＣ３コンストラクトを当該宿主細胞から得ることと、を含む、方法。
【０７３６】
実施形態９６．工程（ａ）が、当該単離された核酸又は当該ベクターを含む宿主細胞を生成することを更に含む、実施形態９５に記載の方法。
【実施例】
【０７３７】
材料及び方法
細胞株ＨｅｐＧ２及びＳＫ－Ｈｅｐ１は、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎから入手した。ＨｅｐＧ２は、ヒト肝細胞癌細胞株（ＡＴＣＣ ＨＢ－８０６５）である。ＳＫ－Ｈｅｐ１は、肝内皮腺癌細胞株（ＡＴＣＣ ＨＴＢ－５２）である。細胞株を、３７℃／５％CO_2で１０％ＦＢＳを添加したＲＰＭＩ １６４０又はＤＭＥＭ中で培養した。
【０７３８】
ＦＩＴＣ標識抗Ｈｉｓ抗体は、本明細書に記載の二重特異性抗ＧＰＣ３ Ｔ細胞エンゲージャ抗体を検出するために、Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ（カタログＭＡ１－８１８９１）から購入し、これはＣ末端に６×Ｈｉｓタグを有している。
【０７３９】
ＧＣ３３は、アミノ酸５２４～５６５からなるヒトＣ末端ＧＰＣ３断片で免疫されたマウス由来のモノクローナル抗体である（Ｉｓｈｉｇｕｒｏ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ２００８；６８：９８３２－９８３８）。図７Ｂで使用したＧＣ３３抗体は、Ｒｏｃｈｅ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ（カタログ７９０－４５６４）から購入した。
組み換えヒトＧＰＣ３断片の生成
【０７４０】
組み換えヒトＧＰＣ３（５６０）タンパク質は、ＧＰＩアンカー部位を欠いているヒトＧＰＣ３の細胞外ドメインを含み、更にそのＣ末端で６×Ｈｉｓタグに融合している、完全長ヒトＧＰＣ３前駆体タンパク質のアミノ酸１～５６０（配列番号４６１）を含む。組み

換えヒトＧＰＣ３（５６０）タンパク質は、レンチウイルスベクターｐＣＤＨ　ＥＦ１－ＭＣＳ（Ｓｙｓｔｅｍ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）から発現させた。

【０７４１】

ビオチン化ＧＰＣ３（５６０）（ｂｔ－ＧＰＣ３（５６０））は、標準的なプロトコル（Ａｌｔｍａｎ，Ｊ．Ｄ．＆　Ｄａｖｉｓ，Ｍ．Ｍ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　１７．３．１－１７．３．３３，２００３）に従って調製した。簡潔に述べると、ＢｉｒＡ基質ペプチド（ＢＳＰ）をコードしているＤＮＡを、組み換えヒトＧＰＣ３（５６０）タンパク質（配列番号４６１）のＣ末端にライゲーションし、ベクターｐＥＴ－２７ｂにクローニングし、大腸菌ＢＬ２１細胞に形質転換し、次いで、細菌培養物から封入体として単離した。ＧＰＣ３（５６０）－ＢＳＰタンパク質を、限外濾過によって濃縮し、サイズ排除クロマトグラフィによって更に精製した。次いで、ＧＰＣ３（５６０）－ＢＳＰペプチドを、ＢｉｒＡ媒介性酵素反応を介してビオチン化し、続いて、高分解能アニオン交換クロマトグラフィによって精製した。

【０７４２】

ＧＰＣ３－５１ｍｅｒ断片は、完全長ヒトＧＰＣ３前駆体タンパク質のアミノ酸５１０～５６０（配列番号４６７）を表し、このペプチド及び当該ペプチドのビオチン化形態は、Ｅｌｉｍ　Ｂｉｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓによって合成された。

ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞の生成

【０７４３】

ＧＰＣ３タンパク質を過剰発現するＳＫ－Ｈｅｐ１細胞は、レンチウイルスベクター（ｐＣＤＨ　ＥＦ１－ＭＣＳ、Ｓｙｓｔｅｍ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）上に担持された完全長ヒトＧＰＣ３（配列番号４６０）を使用してＥｕｒｅｋａ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓによって作製され、本明細書では「ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３」と称される。

ＨｅｐＧ２　ＧＰＣ３ノックアウト（ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ）細胞の生成

【０７４４】

ＨｅｐＧ２　ＧＰＣ３ノックアウト細胞株ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２、ＫＯ－３、及びＫＯ－１１は、記載のとおり（ｌｅｎｔｉＣＲＩＳＰＲ－Ｖ２，ＯｒｉＧｅｎｅ；Ｓａｎｊａｎａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ　Ｍｅｔｈｏｄｓ．２０１４；１１：７８３－７８４）市販のＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９ベクターを使用して生成した。ＧＰＣ３特異的ガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）配列を、ｌｅｎｔｉＣＲＩＳＰＲ－Ｖ２主鎖にクローニングし、ベクターを使用してＳｔｂ１３細菌を形質転換した。陽性クローンの配列を決定し、ＨＥＫ２９３ＦＴ細胞にトランスフェクトして、ＧＰＣ３－ＣＲＩＳＰＲレンチウイルスを作製した。ＨｅｐＧ２細胞に感染させ、選択下で２週間培養し、ＦＡＣＳ分析によってＧＰＣ３発現について測定した。

ＦＡＣＳ分析

【０７４５】

ＦＡＣＳは、ＧＰＣ３のＣ末端部に結合する市販のマウス抗ヒトＧＰＣ３抗体（１Ｇ１２、Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ　Ｂｉｏｔｅｃｈ　ｓｃ－６５４４３）を使用して行った。５０μＬのＩＧ１２抗体をＰＢＳ＋５％　ＦＢＳ中で５０、１００、及び２００倍希釈し、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞と共に４℃で１時間インキュベートした。細胞をＰＢＳ中で洗浄し、ＰＥコンジュゲートマウス抗ＩｇＧ二次抗体（Ｖｅｃｔｏｒ　Ｌａｂｓ＃ＥＩ－２００７）を、５％　ＦＢＳを含むＰＢＳで１：２００希釈して添加し、暗所で４℃にて更に３０分間インキュベートした。細胞をＰＢＳで２回洗浄し、固定した。

【０７４６】

ＦＡＣＳ分析結果を図８に要約する。生成された１３個のＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞株全てが、抗ｈＧＰＣ３抗体（１Ｇ１２）結合について陰性であり、これによって、ＨｅｐＧ２細胞においてＧＰＣ３発現のノックアウトに成功したことが実証された。配列決定分析により、ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞株ＫＯ＃２、ＫＯ＃３、及びＫＯ＃１１がＧＰＣ３陰性であったことを更に確認した。１３個のＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞株のうち、ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２、ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－３、及び

ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－１１細胞株を更なる研究のために使用した。

ファージディスプレイライブラリのパニング

【０７４７】

Ｅｕｒｅｋａ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ Ｅ－ＡＬＰＨＡ（商標）ファージライブラリ（ヒトｓｃＦｖファージライブラリ）を、ＧＰＣ３反応性ファージクローンのパニングによってスクリーニングした。以下の試薬：マウス抗Ｍ１３ ｍＡｂ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ（＃ＭＡ１－１２９００）、ＰＥ抗マウスＩｇＧ（Ｖｅｃｔｏｒ Ｌａｂｓ（＃ＥＩ－２００７）、及び固定緩衝液（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ＃４２０８０１）を用いて、ファージクローンの単離及びＦＡＣＳ分析を実施した。対照マウス抗ＧＰＣ３抗体（クローン１Ｇ１２）は、Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ Ｂｉｏｔｅｃｈ（＃ＳＣ－６５４４３）から購入した。

ＥＬＩＳＡパニング

【０７４８】

ストレプトアビジンでコーティングされ、ビオチン化ＧＰＣ３ペプチド標的（ｂｔ－ＧＰＣ３（５６０）又はｂｔ－ＧＰＣ３－５１ｍｅｒ）でブロッキング及びコーティングされた９６ウェルプレートにおいてＥＬＩＳＡパニングを実施し、次いで、ファージライブラリ（ファージカプシド上で発現したヒトｓｃＦｖを含む）と共にインキュベートした。未結合のファージを洗い流した後、結合したファージを溶出し、増幅し、数ラウンドの選択の過程で再パニングした。次いで、ＥＬＩＳＡパニングされたクローンを、ＧＰＣ３を発現しているＨｅｐＧ２細胞への結合についてスクリーニングした。

ビーズパニング

【０７４９】

ストレプトアビジン及びｂｔ－ＧＰＣ３－５１ｍｅｒペプチドでコーティングされたＤＹＮＡＢＥＡＤＳ（登録商標）で、ビーズパニングを実施した。インキュベーションのためにファージライブラリを添加した。未結合のファージを洗い流した後、ビーズに結合しているファージをトリプシンで溶出し、数ラウンドのビーズ－ＧＰＣ３－５１ｍｅｒインキュベート、洗浄、及び溶出を行った。陽性ファージクローンを、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞及びＧＰＣ３－ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞への結合について更に試験した。

細胞パニング

【０７５０】

懸濁液中でＧＰＣ３を発現しているＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞と共にファージクローンをインキュベートすることによって、細胞パニングを実施した。未結合のファージを洗浄によって除去した。結合したファージを有する細胞を、マウス抗Ｍ１３抗体、続いて、ＰＥコンジュゲート抗マウス二次抗体と共にインキュベートし、次いで、フローサイトメトリーによって確認した。ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞に対して選択されたファージクローンを、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞及びＧＰＣ３－ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞に対して更にスクリーニングした。

実施例１．ヒトＧＰＣ３に特異的なヒト抗体コンストラクトの生成及び選択

【０７５１】

この実施例は、ヒトＧＰＣ３（ｈＧＰＣ３）に特異的なヒト抗体コンストラクトの生成を示す。具体的には、この実施例は、ネイティブフォーマットのヒトＧＰＣ３（細胞表面結合ＧＰＣ３）に特異的に結合するヒトｓｃＦｖの生成を示す。正常ドナー及び／又は自己免疫疾患ドナーから生成されたナイーブ又は半合成のヒト抗体ライブラリを使用して、本明細書に記載のヒト抗体コンストラクトを開発し、そのネイティブな立体構造の細胞表面結合ヒトＧＰＣ３に対するパニングを介して、ヒトＧＰＣ３に対する高い特異性に基づいて選択した。したがって、これらのヒト抗ＧＰＣ３抗体コンストラクト（例えば、抗ＧＰＣ３ ｓｃＦｖ）は、例えば、完全長ＩｇＧ、多重特異性抗ＧＰＣ３抗体分子、抗ＧＰＣ３ ＣＡＲ、又は抗ＧＰＣ３ ｃａＴＣＲを構築するための抗体構成要素の有用な供給源を提供する。

【０７５２】

抗ヒトＧＰＣ３コンストラクトを開発するための例示的な概略を表３に示す。このプロセスは、Ｅｕｒｅｋａ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ　Ｅ－ＡＬＰＨＡ（商標）ファージライブラリからのヒトＧＰＣ３特異的及び生物活性抗体コンストラクトの同定で始めた。

【表３】

表３

病期	方法
Ｅ－ＡＬＰＨＡ（商標）ファージライブラリを用いた一次パニング	細胞パニング、ＥＬＩＳＡパニング ファージクローンのＦＡＣＳスクリーニング
クローンの特性評価	ＨｅｐＧ２細胞への結合 標的癌細胞の殺傷 ヒト肝癌細胞結合 ＧＰＣ３ノックアウト細胞株に対するスクリーニング
二重特異性抗体の作製	ｈＧＰＣ３特異的ファージクローン及び抗ＣＤ３εｓｃＦｖの発現ベクターへのクローニング

【０７５３】

Ｅｕｒｅｋａ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓで構築されたヒトｓｃＦｖ抗体ファージディスプレイライブラリのコレクション（多様性＝１０×１０^{10}）（商標Ｅ－ＡＬＰＨＡ（商標）ファージライブラリ）を、ヒトＧＰＣ３に特異的なヒト抗体コンストラクト（例えば、ｓｃＦｖ）の選択に使用した。Ｅ－ＡＬＰＨＡ（商標）ファージライブラリは、完全にナイーブなヒト重鎖及び軽鎖レパートリーを含むナイーブライブラリ、並びに完全にナイーブなヒト軽鎖レパートリー及び完全にランダム化された重鎖ＣＤＲ３領域を有する半合成重鎖を含む半合成ライブラリを含んでいた。健常ドナーのＰＢＭＣ及び脾臓から、又は自己免疫疾患（全身性紅斑性狼瘡及び関節リウマチなど）ドナーのＰＢＭＣから、ナイーブ抗体レパートリーをクローニングした。

細胞表面結合ＧＰＣ３（ＧＰＣ３Ａ）に対するパニングストラテジー及びファージライブラリスクリーニング

ＧＰＣ３＋細胞に対するパニング

【０７５４】

Ｅ－ＡＬＰＨＡ（商標）ｓｃＦｖファージライブラリを、組み換えＧＰＣ３を発現しているＳＫ－Ｈｅｐ１細胞（ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３）とのコインキュベーションによってヒトＧＰＣ３に対してスクリーニング（パニング）し、次いで、いずれもフローサイトメトリー（方法の項を参照されたい）を用いて、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合によって確認した。２０万個のＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞を、ファージライブラリ（約１×１０^{7}ｐｆｕ）と共に４℃で１時間コインキュベートした。細胞／ファージ混合物をＰＢＳＴ中で洗浄し、マウス抗Ｍ１３抗体と共に４℃で１時間インキュベートし、ＰＢＳＴ中で再度洗浄し、次いで、ＰＥコンジュゲート抗マウスＩｇＧと共に暗所で４℃にて３０分間インキュベートし、ＦＡＣＳ分析に供した。

【０７５５】

最初のＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３スクリーニングから得られた３６個の陽性クローンを、同じ手順を用いて、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞株に対する細胞表面ｈＧＰＣ３結合について更に検証した。３３個のファージクローンは、ＦＡＣＳ分析を使用して、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞に対する特異的結合（表４）を示した。ＦＡＣＳは、方法の項に記載のとおり実施した。簡潔に述べると、市販のマウス抗ヒトＧＰＣ３抗体（１Ｇ１２、Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ　Ｂｉｏｔｅｃｈ　ｓｃ－６５４４３）を希釈し、４℃で１時間、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞と共にインキュベートした。細胞をＰＢＳ中で洗浄し、ＰＥコンジュゲートマウス抗ＩｇＧ二次抗体（Ｖｅｃｔｏｒ　Ｌａｂｓ＃ＥＩ－２００７）を添加し、暗所で４℃にて更に３０分間インキュベートした。次いで、細胞をＰＢＳで洗浄し、固定した。１４個の例示的なＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２結合クローンのＦＡＣＳ分析を図１Ａ～図１Ｇ

に示し、これによって、強力な細胞表面結合ＧＰＣ３結合が実証された。また、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞とのインキュベーションにヘルパーファージも使用し、対照とした。

【０７５６】

ＧＰＣ３Ａスクリーニングから得られたファージクローンを、Ｅｕｒｅｋａ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓによって作製されたＧＰＣ３ノックアウト細胞株ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－３への結合について更に試験した（方法の項における「ＨｅｐＧ２ ＧＰＣ３ノックアウト（ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ）細胞の生成」を参照されたい）。ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞株への結合によって同定された３３個のクローンのうち、５個のクローン（ＧＰＣ３Ａ－３４、３７、３８、５８、及び６２）は、ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞株（ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－３）に対する結合をほとんど又は全く示さず、これによって、ＧＰＣ３陽性細胞結合についての高い特異性が実証された。ＦＡＣＳ分析を図２Ａ～図２Ｆに例示する：ＧＰＣ３Ａ－３９（図２Ａ）、ＧＰＣ３Ａ－４６（図２Ｂ）、ＧＰＣ３Ａ－５６（図２Ｃ）、及びＧＰＣ３Ａ－６４（図２Ｅ）は、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞株への顕著な結合を示し、ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞株へは比較的低レベルの結合しか示さなかった。一方、ＧＰＣ３Ａ－５８（図２Ｄ）は、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞株に対して高レベルの結合を示し、ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞株にはほとんど結合を示さなかった。いくつかのクローンは、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞株の両方に対して高レベルの結合を示した（データは示さず）。

【０７５７】

ＧＰＣ３Ａファージクローンの可溶性ＧＰＣ３への結合を、ＥＬＩＳＡによって試験した。３つの形態の可溶性ビオチン化ＧＰＣ３タンパク質（ＧＰＣ３（５６０）、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ ＧＰＣ３タンパク質［カタログ２１１９－ＧＰ－０５０５］、及びＧＰＣ３－５１ｍｅｒ）を使用して、記載のとおり（方法の項を参照されたい）９６ウェルＥＬＩＳＡプレートをコーティングした。全てのクローンが、ＧＰＣ３（５６０）及びＧＰＣ３（Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ）に結合することができ、クローンＧＰＣ３Ａ－３７、－４２、－４３、及び－４７は、ＧＰＣ３（５６０）に対して最も少ない結合を示し、ＧＰＣ３－５１ｍｅｒに対する結合は示さなかった（データは示さず）。

【表４】

表４

	細胞パニング SK－Hep1－GPC3細胞（GPC3A）	細胞／ELISAパニング GPC3－51mer SK－Hep1－GPC3細胞（GPC3B）
クローン番号（FACSスクリーニング）	540	368
細胞表面GPC3結合固有クローン	33	14
GPC3ノックアウト細胞結合クローン	5	4
二重特異性抗体に変換されたクローン	20	14
二重特異性抗体による標的細胞の殺傷	16	1

５１ｍｅｒ ＧＰＣ３断片（ＧＰＣ３Ｂ）を使用するパニングストラテジー及びファージライブラリスクリーニング

【０７５８】

他方、ビオチン化Ｃ末端５１ｍｅｒ ｈＧＰＣ３断片（ｂｔ－ＧＰＣ３－５１ｍｅｒ、方法の項を参照されたい）を使用して、３種類のファージライブラリパニングを実施した。このスクリーニングストラテジーをＧＰＣ３Ｂと命名し、表４に概説した。

プレートパニング

【０７５９】

ＰＢＳ中２μｇ／ｍＬの体積１００μＬのビオチン化ＧＰＣ３－５１ｍｅｒ断片（方法

の項を参照されたい）を使用してプレートパニングスクリーニングを実施し、ストレプトアビジンでコーティングした９６ウェルＥＬＩＳＡプレートに添加して、４℃で一晩インキュベートした。室温で２時間、ＰＢＳ中５％脱脂粉乳（ＮＦＤＭ）でプレートをブロッキングした。更に２回洗浄した後、１００μＬのファージライブラリ（２×１０^{12}ｐｆｕ／ｍＬの力価を有する）を個々のウェルに添加した。１３８個のファージクローンを試験した。プレートを４℃で２時間インキュベートし、ＰＢＳＴＢで６回洗浄した。室温で１０分間、トリプシン（１ｍｇ／ｍＬで１００μＬ）によってウェルを溶出した。溶出したファージを標準的な方法に従って回収した。ｈＧＰＣ３－５１ｍｅｒ断片に対する特異的ファージ結合を濃縮するために、３ラウンドのプレートパニングを実施した。このスクリーニングを使用して、１３８個の単離されたファージクローンのうち９９個はＥＬＩＳＡによって陽性であり、５３個の固有のクローンが同定された。

プレート＋細胞パニング

【０７６０】

サブトラクションパニングについてはＳＫ－Ｈｅｐ１細胞株及びポジティブパニングについてはＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞株を使用して、１３８個の単離されたファージクローンに対して２ラウンドのプレートパニング、続いて、１ラウンドの細胞パニングの第２のパニングスクリーニングを実施した。３ラウンド目の細胞パニングでは、室温で２時間コインキュベートすることによって、約４×１０^{7}個のＳＫ－Ｈｅｐ１細胞を各ファージライブラリのサブトラクションパニングに使用した。同様に４℃で２時間コインキュベートすることによって、約１×１０^{7}個のＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞を各ファージライブラリのポジティブパニングに使用した。細胞／ファージ混合物をＰＢＳ中１０％　ＦＢＳで４回洗浄し、ＰＢＳのみで２回洗浄した。室温で１０分間、特異的に結合したファージをトリプシン（１ｍｇ／ｍＬで１ｍＬ）で溶出した。溶出したファージを、標準的な技術を用いてレスキューした。このパニング方法を使用して、１３８個のクローンのうち更に１４個の固有のクローンを単離した。

ビーズパニング

【０７６１】

追加の９２個の単離されたファージクローンについて、ビーズパニングスクリーニングもまた実施した。５０μＬのＤＹＮＡＢＥＡＤＳ（登録商標）をＰＢＳＴ中で２回洗浄し、５００μＬのファージライブラリ（２×１０^{12}ｐｆｕ／ｍＬの力価を有する）に再懸濁させた。ファージ／ビーズ混合物を室温で２時間インキュベートして、ストレプトアビジンに対して非特異的結合を示すファージを枯渇させた。同じ洗浄手順を使用して、別に５０μＬのＤＹＮＡＢＥＡＤＳ（登録商標）を調製し、２．５％　ＰＢＳＭ中２．４μｇ／ｍＬのｂｔ－ＧＰＣ３－５１ｍｅｒ断片溶液５００μＬに再懸濁させ、室温で１５分間インキュベートし、次いで、２回洗浄した。ファージライブラリを吸引し、ｂｔ－ＧＰＣ３－５１ｍｅｒ断片／ビーズ混合物と混合し、次いで、４℃で２時間インキュベートし、ＰＢＳＭで５～１０回洗浄した。室温で１０分間、トリプシン（１ｍｇ／ｍＬで４００μＬ）を使用して結合したファージを溶出させ、標準的な技術を用いてレスキューした。ｈＧＰＣ３－５１ｍｅｒ断片に対するＧＰＣ３特異的ファージ結合を濃縮するために、３ラウンドのビーズパニングを実施した。ビーズパニング法を使用して、更に６２個の固有のクローンを単離した。

【０７６２】

ＧＰＣ３Ｂスクリーニングから同定された全てのこれら１２９個の固有のクローンのうち２０個を、フローサイトメトリーを使用して、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞に結合する能力について試験した。陽性細胞パニングについては、２０万個のＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞をＰＢＳ中５％　ＦＢＳ及び０．０５％　NaN_3　５０μＬに懸濁させた。サブトラクションパニングについては、２０万個のＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３ノックアウト細胞（ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２）をＰＢＳ中５％　ＦＢＳ及び０．０５％NaN_3　５０μＬに懸濁させた。ＧＰＣ３Ｂファージ及び陰性対照ファージ（ヘルパーファージ）をＰＢＳ中約１．０×１０^{11}ｐｆｕ／ｍＬで添加し、４℃で１時間インキュベートした。混合物を

ＰＢＳＴ中で洗浄し、５％　ＦＢＳ（ＰＢＳ中）及び０．０５％　ＮａＮ$_3$中体積１００μＬのマウス抗Ｍ１３抗体の２００倍希釈物（方法の項を参照されたい）を添加し、４℃で更に１時間インキュベートした。混合物をＰＢＳ中で再度洗浄し、ＰＢＳ中５％ＦＢＳ及び０．０５％　ＮａＮ$_3$　１００μＬ中の２００倍希釈した二次ＰＥ抗マウスＩｇＧ抗体を添加し、４℃で更に１時間暗所でインキュベートした。混合物をＰＢＳ中で２回洗浄し、体積１５０μＬの３倍希釈した固定緩衝液で固定した。試験した２０個クローンのうち、いずれもＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２細胞への結合を示さなかった。図３Ａ～図３Ｄに例示されるように、ＧＰＣ３Ｂファージクローン＃８１、＃８７、及び＃１１５は、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への強い結合を示し、一方、ＧＰＣ３Ｂ－８０クローンは弱い結合を示したが、これらのうちのいずれも、ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ－２細胞への結合は全く示さなかった。

【０７６３】

ＧＰＣ３Ｂスクリーニングから得られたこれら２０個のクローンを、ＥＬＩＳＡアッセイ（方法の項を参照されたい）を用いて可溶性ビオチン化ＧＰＣ３（５６０）及びＧＰＣ３－５１ｍｅｒへの結合について更に試験した。２０個のクローンのうちの１６個は、ｂｔ－ＧＰＣ３－５１ｍｅｒへの強い結合を示し、可溶性ｂｔ－ＧＰＣ３（５６０）へは更に強い結合を示した。３個のクローンは、ｂｔ－ＧＰＣ３－５１ｍｅｒへの強い結合を示したが、可溶性ｂｔ－ＧＰＣ３（５６０）への結合は示さなかった。１個のクローンは、いずれの可溶性タンパク質にも結合できなかった（データは示さず）。

実施例２．抗ＧＰＣ３二重特異性抗体コンストラクト

ヒト抗ＧＰＣ３抗体を使用した二重特異性抗体コンストラクトの生成

【０７６４】

この実施例は、ヒトＧＰＣ３に特異的なヒトｓｃＦｖ断片を使用した多重特異性抗ＧＰＣ３分子の構築を示す。具体的には、この実施例は、ネイティブフォーマット（細胞表面で発現）のヒトＧＰＣ３に結合する第１の抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）と、Ｔ細胞上のＣＤ３に結合する第２の抗体部分（例えば、ｓｃＦｖ）とを有する二重特異性抗体の構築を示す。ヒトＧＰＣ３を発現する標的細胞を殺傷するようにＴ細胞をダイレクトするために、本明細書に記載のこれらの多重特異性抗ＧＰＣ３分子（例えば、タンデムジｓｃＦｖ抗ＧＰＣ３　Ｔ細胞エンゲージャ）を使用することができる。

【０７６５】

（ＧＰＣ３Ａ及びＧＰＣ３Ｂスクリーニングの両方からの）特異的細胞表面ＧＰＣ３結合は示すが、ＧＰＣ３－ＫＯ細胞結合はほとんど又は全く示さないヒトＧＰＣ３特異的ファージクローンのｓｃＦｖ配列を使用して、二重特異性抗体（「Ｌ２Ｋ」と称される）を生成した。Ｎ末端にヒトＧＰＣ３特異的ファージクローンのV_L－V_HｓｃＦｖ配列、そして、Ｃ末端に抗ヒトＣＤ３εマウスモノクローナルｓｃＦｖ（抗ＧＰＣ３×ＣＤ３ジ－ｓｃＦｖ；例えば、Ｂｒｉｓｃｈｗｅｉｎ，Ｋ．ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．４３：１１２９－１１４３，２００６を参照されたい）を含む単鎖フォーマットを用いて、二重特異性抗体を構築した。ＧＰＣ３Ａ－３４、ＧＰＣ３Ｂ－８７、ＧＰＣ３Ａ－３７、ＧＰＣ３Ａ－４５、ＧＰＣ３Ａ－４６、ＧＰＣ３Ａ－５５、及びＧＰＣ３Ａ－５８抗体クローン由来の例示的な抗ＧＰＣ３×ＣＤ３ジ－ｓｃＦｖ抗体は、それぞれ配列番号４８８、４８９、及び５１１～５１５のアミノ酸配列を含む。

【０７６６】

抗ヒトＧＰＣ３　ｓｃＦｖ及び抗ヒトＣＤ３ε　ｓｃＦｖをコードしているＤＮＡ断片を、Ｇｅｎｅｗｉｚ又はＧｅｎｓｃｒｉｐｔによって合成し、標準的な組み換えＤＮＡ技術を用いて哺乳類発現ベクターｐＱＤ－Ｔ（Ｅｕｒｅｋａ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，Ｉｎｃ．）にサブクローニングした。精製及び検出のために、ヘキサヒスチジンタグをＣ末端に挿入した。ＨＥＫ２９３細胞を二重特異性抗体発現ベクターでトランスフェクトし、二重特異性抗ＧＰＣ３抗体生成のために７日間培養した。ＦＰＬＣ　ＡＫＴＡシステムによるＨｉｓＴｒａｐ　ＨＰカラム（ＧＥ　ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）又は細胞培養体積に基づくＨｉｓ　ＧｒａｖｉＴｒａｐカラム（ＧＥ　ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用して、ＨＥＫ

２９３細胞上清から二重特異性抗体を精製した。ＨＥＫ２９３細胞培養上清を清澄化し、低イミダゾール濃度（２０ｍＭ）でカラムに装填し、次いで、定組成高イミダゾール濃度溶出緩衝液（５００ｍＭ）を使用して、結合している二重特異性抗ＧＰＣ３抗体を溶出した。精製されたヒトＧＰＣ３二重特異性抗体の分子量を、ゲル電気泳動によって非還元条件下で測定した。二重特異性抗ＧＰＣ３抗体（抗ＧＰＣ３　ｓｃＦｖ－抗ＣＤ３　ｓｃＦｖ）に対応するバンド（約９８ｋＤ）が、ゲル上の主な種として観察された（データは示さず）。

【０７６７】

まとめると、この実施例は、細胞表面上で発現したヒトＧＰＣ３（すなわち、ネイティブフォーマット）に特異的な第１の抗体部分と、ＣＤ３に特異的な第２の抗体部分とを有する二重特異性抗ＧＰＣ３分子の構築の成功を示す。このような二重特異性分子の更なる特性評価について以下に記載する。二重特異性抗ＧＰＣ３抗体の生成及び更なる特性評価のために、ＧＰＣ３Ａスクリーニングから２０個の固有のクローン及びＧＰＣ３Ｂスクリーンから１４個の固有のクローンを選択した（表４）。

ヒト肝細胞癌細胞株に結合する抗ＧＰＣ３二重特異性抗体（ＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ）

【０７６８】

ＧＰＣ３を発現しているＨＣＣ細胞株を、２回の実験で、ヒトＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞、ＧＰＣ３陰性ＳＫ－Ｈｅｐ１細胞、及びＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３（ＧＰＣ３過剰発現）細胞を使用して、フローサイトメトリーによって抗ＧＰＣ３二重特異性抗体結合について試験した。

【０７６９】

精製及び検出のためにＣ末端に挿入されたヘキサヒスチジンタグを有する抗ヒトＣＤ３εｓｃＦｖと非ＧＰＣ３結合ｓｃＦｖを融合させることによって、上記と同様に対照－Ｌ２Ｋ二重特異性抗体を生成した。この対照－Ｌ２Ｋ抗体を陰性ＧＰＣ３結合対照として使用した。

【０７７０】

ＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体又は対照－Ｌ２Ｋ二重特異性抗体を、ＧＰＣ３陰性ＳＫ－Ｈｅｐ１細胞及び（別々に）ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞と共に、４℃で１時間、ＰＢＳ中５％　ＦＢＳ及び０．０５％　NaN_3中最終濃度５μｇ／ｍＬでインキュベートした。次いで、細胞をＰＢＳで１回洗浄した。ＡＰＣコンジュゲート抗Ｈｉｓタグマウス抗体（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を、ＰＢＳ中５％ＦＢＳ及び０．０５％　NAN_3で２０倍希釈し、体積１００μＬで洗浄した細胞に添加し、暗所で４℃にて１時間インキュベートした。次いで、細胞をＰＢＳで２回洗浄した。１５０μＬの体積のＰＢＳ中固定緩衝液（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ）の３倍希釈物で細胞を固定した。図４Ａ及び図４Ｂに示されるように、ＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体は、ＧＰＣ３陰性ＳＫＳＫ　Ｈｅｐ１細胞に結合できず、ＧＰＣ３過剰発現ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞には良好に結合した。

【０７７１】

ＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体又は対照－Ｌ２Ｋ二重特異性抗体を、ＧＰＣ３＋　ＨｅｐＧ２細胞と共に、４℃で１時間、ＰＢＳ中５％　ＦＢＳ及び０．０５％　NaN_3中最終濃度５μｇ／ｍＬでインキュベートし、次いで、ＰＢＳで１回洗浄した。ＡＰＣコンジュゲート抗Ｈｉｓタグマウス抗体（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を、ＰＢＳ中５％　ＦＢＳ及び０．０５％　NaN_3で２０倍希釈し、体積１００μＬで添加し、暗所で４℃にて１時間インキュベートし、次いで、ＰＢＳで２回洗浄した。１５０μＬの体積のＰＢＳ中固定緩衝液（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ）の３倍希釈物で細胞を固定した。図５Ａ～図５Ｂは、対照－Ｌ２Ｋ抗体とＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞との間の結合と比べたとき、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞に対するＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体の顕著な結合を示す。

ヒト肝細胞癌細胞株に結合する抗ＧＰＣ３二重特異性抗体（ＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋ）

【０７７２】

Ｂスクリーニングに由来する抗ＧＰＣ３×ＣＤ３ジ－ｓｃＦｖ抗体（ＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体）を、２回の実験で、ヒトＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞、ＨｅｐＧ２－Ｇ

ＰＣ３－ＫＯ細胞、ＧＰＣ３陰性ＳＫ－Ｈｅｐ１細胞、及びＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３（ＧＰＣ３過剰発現）細胞を使用して、フローサイトメトリーによって同様に試験する。

【０７７３】

ＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体又は対照－Ｌ２Ｋ二重特異性抗体を、ＧＰＣ３陰性ＳＫ－Ｈｅｐ１細胞及び（別々に）ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞と共に、４℃で１時間、ＰＢＳ中５％　ＦＢＳ及び０．０５％　NaN_3中最終濃度５μｇ／ｍＬでインキュベートする。次いで、細胞をＰＢＳで１回洗浄する。ＡＰＣコンジュゲート抗Ｈｉｓタグマウス抗体（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を、ＰＢＳ中５％　ＦＢＳ及び０．０５％　NaN_3で２０倍希釈し、体積１００μＬで洗浄した細胞に添加し、暗所で４℃にて１時間インキュベートする。次いで、細胞をＰＢＳで２回洗浄する。１５０μＬの体積のＰＢＳ中固定緩衝液（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ）の３倍希釈物で細胞を固定する。ＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体のＧＰＣ３陰性ＳＫ－Ｈｅｐ１細胞及びＧＰＣ３過剰発現ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞への結合を比較するために、ＦＡＣＳ分析を実施する。細胞表面結合ヒトＧＰＣ３特異性を示すＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体は、ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞に対して顕著な結合を示し、ＧＰＣ３陰性ＳＫ－Ｈｅｐ１細胞に対してはほとんど又は全く結合を示さないと予想される。

【０７７４】

また、ＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体及び対照Ｌ２Ｋ二重特異性抗体を、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞への結合について試験する。２セットの抗体を、ＧＰＣ３＋　ＨｅｐＧ２細胞と共に、４℃で１時間、ＰＢＳ中５％ＦＢＳ及び０．０５％　NaN_3中最終濃度５μｇ／ｍＬでインキュベートし、次いで、ＰＢＳで１回洗浄した。ＡＰＣコンジュゲート抗Ｈｉｓタグマウス抗体（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を、ＰＢＳ中５％ＦＢＳ及び０．０５％　NaN_3で２０倍希釈し、体積１００μＬで添加し、暗所で４℃にて１時間インキュベートし、次いで、ＰＢＳで２回洗浄する。１５０μＬの体積のＰＢＳ中固定緩衝液（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ）の３倍希釈物で細胞を固定する。ＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体及び対照Ｌ２Ｋ二重特異性抗体のＧＰＣ３＋Ｈｅｐ２細胞への結合を比較するために、ＦＡＣＳ分析を実施する。細胞表面結合ヒトＧＰＣ３特異性を示すＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体は、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞に対して顕著な結合を示すと予測され、一方、対照Ｌ２Ｋ二重特異性抗体については、これら細胞に対する結合ははほとんど又は全くみられないと予想される。

【０７７５】

また、ＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体及び対照－Ｌ２Ｋ二重特異性抗体を、ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞と共に、４℃で１時間、ＰＢＳ中５％　ＦＢＳ及び０．０５％　NaN_3中最終濃度５μｇ／ｍＬでインキュベートする。次いで、細胞をＰＢＳで１回洗浄する。ＡＰＣコンジュゲート抗Ｈｉｓタグマウス抗体（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を、ＰＢＳ中５％　ＦＢＳ及び０．０５％　NaN_3で２０倍希釈し、体積１００μＬで洗浄した細胞に添加し、暗所で４℃にて１時間インキュベートする。次いで、細胞をＰＢＳで２回洗浄する。１５０μＬの体積のＰＢＳ中固定緩衝液（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ）の３倍希釈物で細胞を固定する。ＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体及び対照ＩｇＧ１アイソタイプ抗体のＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞への結合を比較するために、ＦＡＣＳ分析を実施する。細胞表面結合ヒトＧＰＣ３特異性を示すＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体は、ＩｇＧ１アイソタイプ対照抗体と同様に、ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞に対する結合をほとんど又は全く示されないと予想される。

実施例３．ヒトＧＰＣ３二重特異性抗体の特性評価

ヒト肝細胞株への結合についての可溶性ＧＰＣ３との競合

【０７７６】

組み換えビオチン化ＧＰＣ３（５６０）タンパク質を使用する競合結合アッセイ（ＩＣ５０）において、細胞表面結合ＧＰＣ３に対する抗体を、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞に結合する能力について試験した（方法の項を参照されたい）。抗ＧＰＣ３　Ｌ２Ｋ抗体（ＧＰＣ３Ａスクリーニング由来）又は対照Ｌ２Ｋ二重特異性抗体を、様々な濃度の可溶性ｂ

ｔ－ＧＰＣ３（５６０）タンパク質とプレミックスし、４℃で１時間インキュベートした。次いで、ＨｅｐＧ２細胞を添加し、混合物を４℃で更に１時間インキュベートした。ＡＰＣコンジュゲート抗Ｈｉｓタグ抗体（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、＃ＩＣ０５０Ａ）を２０倍希釈で添加して、Ｌ２Ｋ抗体結合を検出した（Ｌ２Ｋ抗体は、Ｃ末端Ｈｉｓタグを保有している）。また、ストレプトアビジン－ＰＥ（Ｖｅｃｔｏｒ　Ｌａｂｓ　ＥＩ－２００７）を２００倍希釈で添加し、暗所で４℃にて３０分間インキュベートして、可溶性ｂｔ－ＧＰＣ３（５６０）タンパク質をモニタリングした。マウス抗ＧＰＣ３抗体陽性対照（１Ｇ１２、Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ＃ｓｃ－６５４４３）を、ＰＥコンジュゲート抗マウスＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）を使用して、同じ条件下で、可溶性ｂｔ－ＧＰＣ３（５６０）タンパク質の有り無しで処理した。表５は、試験した６つのＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ抗体のＩＣ５０値を示す。全てのＧＰＣ３　Ｌ２Ｋが、抗ＧＰＣ３陽性対照抗体（１Ｇ１２）よりもはるかに高いＩＣ５０値を示し、ＧＰＣ３Ａ－３７及びＧＰＣ３Ａ－４６が最高値を示した、すなわち、可溶性ＧＰＣ３の存在による影響が最小であった。図６から分かるように、全てのＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体の中央蛍光強度（ＭＦＩ）は、対照－Ｌ２Ｋ二重特異性抗体及び抗ＧＰＣ３陽性対照抗体（１Ｇ１２）の両方よりも、ＨｅｐＧ２細胞上に存在するＧＰＣ３に対して顕著に強い結合を示した。更に、大部分のＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体は、ＧＰＣ３Ａ－３７及びＧＰＣ３Ａ－４６クローンなど、競合アッセイにおいて可溶性ｂｔ－ＧＰＣ３（５６０）タンパク質よりも細胞表面結合ＧＰＣ３に対してはるかに高い特異性を示した。

【表５】

表５

GPC3×CD3 二重特異性抗体クローン	IC_{50}（μｇ／ｍＬ）
GPC3A－34　L2K	２．４
GPC3A－37　L2K	４．６
GPC3A－45　L2K	１．２
GPC3A－46　L2K	４．１
GPC3A－55　L2K	２．７
GPC3A－58　L2K	２．４
NC16　L2K陰性対照	－
抗GPC3陽性対照Ab	０．２５

【０７７７】

同様に、上記のように組み換えビオチン化ＧＰＣ３（５６０）タンパク質を使用する競合結合アッセイ（IC_{50}）において、クローンＧＰＣ３Ｂ－８７　Ｌ２ＫをＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞に結合する能力について試験した。ＧＣ３３　Ｌ２Ｋ（Ｌ２Ｋに変換されたＧＣ３３抗体）及び抗ＣＤ１９　Ｌ２Ｋを対照として使用した。簡潔に述べると、ＧＰＣ３Ｂ－８７　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体又は対照－Ｌ２Ｋ二重特異性抗体を、様々な濃度の可溶性ｂｔ－ＧＰＣ３（５６０）タンパク質とプレミックスし、４℃で１時間インキュベートした。ＨｅｐＧ２細胞を添加し、混合物を４℃で更に１時間インキュベートした。次いで、ＡＰＣコンジュゲート抗Ｈｉｓタグ抗体（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、＃ＩＣ０５０Ａ）を２０倍希釈で添加して、Ｌ２Ｋ抗体結合を検出した（Ｌ２Ｋ抗体はＣ末端Ｈｉｓタグを保有している）。ストレプトアビジン－ＰＥ（Ｖｅｃｔｏｒ　Ｌａｂｓ　ＥＩ－２００７）を２００倍希釈で添加し、暗所で４℃にて３０分間インキュベートして、可溶性ｂｔ－ＧＰＣ３（５６０）タンパク質をモニタリングした。マウス抗ＧＰＣ３抗体陽性対照（１Ｇ１２、Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ＃ｓｃ－６５４４３）を、ＰＥコンジュゲート抗マウスＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）を使用して、同じ条件下で、可溶性ｂｔ－ＧＰＣ３（５６０）タンパク質の有り無しで処理した。ＦＡＣＳ分析を実施した。

【０７７８】

図１０及び表１２に示すように、ＧＰＣ３Ｂ－８７　Ｌ２Ｋ（IC_{50}　０．１２μｇ／ｍＬ）及びＧＣ３３　Ｌ２Ｋ（IC_{50}　０．８６μｇ／ｍＬ）はいずれも、試験したＧＰ

ＣＤ３Ａ　Ｌ２Ｋよりもはるかに低いＩＣ$_{50}$を示した（１．２～４．６μｇ／ｍＬのＩＣ$_{50}$）。このことは、ＧＰＣ３Ｂ－８７　Ｌ２Ｋ及びＧＣ３３　Ｌ２Ｋの細胞表面ＧＰＣ３への結合が、ＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋの細胞表面ＧＰＣ３への結合よりも、可溶性ＧＰＣ３によってより容易に競合除去（competed off）され得ることを示唆している。

【表１２】

表１２

GPC3×CD3 二重特異性抗体クローン	IC_{50}（μｇ／ｍＬ）
GPC3B－87 L2K	０．１２
抗CD19 L2K陰性対照	－
GC33 L2K	０．８６

ＧＰＣ３Ａ及びＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２ＫクローンのＨｅｐＧ２細胞に対する結合親和性

【０７７９】

ＧＰＣ３を発現しているＨＣＣ細胞株を、ヒトＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞を使用して、フローサイトメトリーによって、抗ＧＰＣ３二重特異性抗体（ＧＰＣ３　Ｌ２Ｋクローン）結合について試験した。

【０７８０】

精製及び検出のためにＣ末端に挿入されたヘキサヒスチジンタグを有する抗ヒトＣＤ３εｓｃＦｖと非ＧＰＣ３結合ｓｃＦｖを融合させることによって、対照Ｌ２Ｋ二重特異性抗体を生成した。ＥＴ－９０１　Ｌ２Ｋと命名したこの対照Ｌ２Ｋ抗体を、ＧＰＣ３結合の陰性対照として使用した。ＧＣ３３のｓｃＦｖを使用して参照抗ＧＰＣ３二重特異性抗体も同様に生成し、ＧＣ３３　Ｌ２Ｋと命名した。

【０７８１】

ＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋクローン（ＧＰＣ３Ａ－３４　Ｌ２Ｋ、ＧＰＣ３Ａ－３７　Ｌ２Ｋ、ＧＰＣ３Ａ－４５　Ｌ２Ｋ、ＧＰＣ３Ａ－４６　Ｌ２Ｋ、ＧＰＣ３Ａ－５５　Ｌ２Ｋ、及びＧＰＣ３Ａ－５８　Ｌ２Ｋ）、ＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋクローン（ＧＰＣ３Ｂ－８７　Ｌ２Ｋ）、参照ＧＣ３３　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体、又は陰性対照抗ＣＤ１９　Ｌ２Ｋを、４℃で１時間、ＰＢＳ中５％ＦＢＳ及び０．０５％NaN_3中最終濃度５μｇ／ｍＬで、ＧＰＣ３陽性ＨｅｐＧ２細胞と共にインキュベートし、次いでＰＢＳで１回洗浄した。ＡＰＣコンジュゲート抗Ｈｉｓタグマウス抗体（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を、ＰＢＳ中５％ＦＢＳ及び０．０５％NaN_3で２０倍希釈し、体積１００μＬで添加し、暗所で４℃にて１時間インキュベートし、次いで、ＰＢＳで２回洗浄した。１５０μＬの体積のＰＢＳ中固定緩衝液（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ）の３倍希釈物で細胞を固定した。別の対照として、任意のＬ２Ｋ二重特異性抗体の非存在下で、ＨｅｐＧ２細胞を、ＡＰＣコンジュゲート抗Ｈｉｓタグマウス抗体（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）と共にインキュベートした。図１１は、ＧＰＣ３　Ｌ２ＫクローンのＧＰＣ３陽性ＨｅｐＧ２細胞への顕著な結合を示した。

【０７８２】

具体的には、６個のＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体クローン（ＧＰＣ３Ａ－３４　Ｌ２Ｋ、ＧＰＣ３Ａ－３７　Ｌ２Ｋ、ＧＰＣ３Ａ－４５　Ｌ２Ｋ、ＧＰＣ３Ａ－４６　Ｌ２Ｋ、ＧＰＣ３Ａ－５５　Ｌ２Ｋ、ＧＰＣ３Ａ－５８　Ｌ２Ｋ）、及び１個のＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体クローン（ＧＰＣ３Ｂ－８７　Ｌ２Ｋ）をＦＡＣＳによってアッセイして、参照抗ＧＰＣ３　ＧＣ３３　Ｌ２Ｋと共に、ＧＰＣ３＋ＨｅｐＧ２細胞に対する結合親和性を決定した。６個のＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋクローンは、０．０４５～０．１２μｇ／ｍＬのＥＣ$_{50}$を示し、見かけのK_d値は０．８６～２．４ｎＭであった。ＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋクローン（ＧＰＣ３Ｂ－８７　Ｌ２Ｋ）は、はるかに弱い結合を示し、ＥＣ$_{50}$は４．３μｇ／ｍＬであり、見かけのK_dは８４ｎＭであった。ＧＣ３３　Ｌ２Ｋは、０．１４μｇ／ｍＬのＥＣ$_{50}$を示し、見かけのK_dは２．７ｎＭであった。ＧＣ３３　Ｌ２Ｋ（K_d＝２．７ｎＭ）と比較して、全てのＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋクローン、特に、ＧＰＣ３Ａ－３７　Ｌ２Ｋ（K_d＝０．９２ｎＭ）、ＧＰＣ３Ａ－４６　Ｌ２Ｋ（K_d＝１．０ｎＭ）、及びＧ

ＰＣ３Ａ－５５　Ｌ２Ｋ（K_d＝０．８６ｎＭ）は、より高い結合親和性を示した（表１３及び図１１を参照されたい）。

【表１３】

表１３

GPC3×CD3 二重特異性抗体クローン	EC_{50}（μg／mL）	見かけのK_d（nM）
GPC3A－34　L2K	０．１１	２．０
GPC3A－37　L2K	０．０４８	０．９２
GPC3A－45　L2K	０．１２	２．４
GPC3A－46　L2K	０．０５０	１．０
GPC3A－55　L2K	０．０４５	０．８６
GPC3A－58　L2K	０．１２	２．４
GPC3B－87　L2K	４．３	８１
抗GPC3陽性対照Ab	０．１４	２．７

Ｔ細胞媒介性細胞傷害アッセイ

【０７８３】

腫瘍細胞傷害を、ＬＤＨ細胞傷害アッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ）を使用してアッセイした。全血（Ｂｌｏｏｄ　Ｃｅｎｔｅｒｓ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ｐａｃｉｆｉｃ）由来のヒトＴ細胞（ＡｌｌＣｅｌｌｓ）又はＦｉｃｏｌｌ精製細胞を、製造業者の仕様書に従ってＣＤ３／ＣＤ２８　ＤＹＮＡＢＥＡＤＳ（登録商標）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）で活性化及び増殖させた。１０％ＦＢＳ＋１００Ｕ／ｍＬ　ＩＬ－２を含むＲＰＭＩ１６４０培地で活性化Ｔ細胞を培養及び維持し、活性化後７～１４日目に使用した。Ｔ細胞は、ＦＡＣＳ分析によって＞９９％$CD3^+$であった。活性化Ｔ細胞及び標的細胞を、二重特異性抗体（０．２μｇ／ｍＬ；ＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ又はＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋ）と共に５：１比で１６時間共培養した。培養上清中のＬＤＨ活性を測定することによって、細胞傷害を測定した。

【０７８４】

図７Ａ及び図７Ｂに示すように、ＧＰＣ３Ａ及びＧＰＣ３Ｂスクリーニングの両方に由来する二重特異性抗ＧＰＣ３×ＣＤ３抗体は、ヒトＧＰＣ３特異的に癌細胞の殺傷を有効に媒介した。Ｃ末端ヒトＧＰＣ３断片で免疫したマウスに由来するモノクローナル抗体ＧＣ３３（方法の項を参照されたい）も、ＧＰＣ３特異的殺傷について試験した（図７Ｂ）。結果は、ＧＣ３３の癌細胞殺傷能力がＧＰＣ３特異的ではなかったことを示すが、その理由は、ＧＣ３３がＧＰＣ３ノックアウト細胞株ＨｅｐＧ－ＧＰＣ３－ＫＯ－２並びにＧＰＣ３陽性細胞株ＨｅｐＧ２及びＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３の殺傷を媒介したためである。他方、ＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体＃４３、＃５３、＃５８、及び＃６１（とりわけ、図７Ａ）並びにＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体＃８７（図７Ｂ）は、ＧＰＣ３陽性細胞（ＨｅｐＧ２及びＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３）のロバストな殺傷を媒介したが、ＧＰＣ３陰性細胞株（ＳＫ－Ｈｅｐ１及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞）に対しては有意な効果を有しない。

実施例４．マウス抗ｈＧＰＣ３単一特異性ＩｇＧ抗体の構築

【０７８５】

マウスＩｇＧ１重鎖のＦｃ領域を発現するクローニングプラスミド及びＩｇＧ１軽鎖を発現するプラスミドを使用してマウスＩｇＧ１定常領域及びＦｃ領域配列に融合させるためにＧＰＣ３Ａ－３９、４６、５１、５６、５８、及び６４の重鎖及び軽鎖可変領域配列（それぞれ、V_H及びV_Lについて、配列番号３１１及び３６２、３１８及び３６９、３２３及び３７４、３２８及び３７９、３３０及び３８１、３３６及び３８７）を使用して、完全長マウス抗ヒトＧＰＣ３（ｈＧＰＣ３）単一特異性ＩｇＧ抗体を構築した。得られた抗体クローンを、抗ＧＰＣ３　ｍＩｇＧ１クローンＡ－３９、－４６、－５１、－５６、－５８、及び－６４と命名した。例示的な抗ＧＰＣ３　ｍＩｇＧ１　Ａ－３９の配列は、配列番号５０５のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号５０６のアミノ酸配列を含む軽鎖と、を含む。ＧＰＣ３Ｂクローン８７の重鎖及び軽鎖可変領域（配列番号３５０及び４０

１）、並びに抗ＧＰＣ３抗体ＧＣ３３の重鎖及び軽鎖可変領域（配列番号５０３及び５０４）を使用して、それぞれ、完全長ＧＰＣ３Ｂ単一特異性ＩｇＧ抗体及び完全長ＧＣ３３抗体を同様に構築し、抗ＧＰＣ３　ｍＩｇＧ１クローンＢ－８７及び抗ＧＰＣ３　ｍＩｇＧ１－ＧＣ３３と命名する。

【０７８６】

簡潔に述べると、記載のとおり（Ｔｏｍｉｍａｔｓｕ，Ｋ．ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｓｃｉ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．７３（７）：１４６５－１４６９，２００９）、ＨＥＫ２９３及びチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞株で、選択されたファージクローンの完全長マウスＩｇＧ１を生成した（データは図示せず）。ＧＰＣ３クローン可変領域を、マウスＩｇＧ１重鎖及び軽鎖定常領域を有する哺乳類発現ベクターにサブクローニングした。精製された完全長ＩｇＧ抗体の分子量を電気泳動によって還元及び非還元条件下の両方で測定してタンパク質の純度を決定したところ、９５％を超えると計算された（データは示さず）。

【０７８７】

フローサイトメトリーによって、ＧＰＣ３陽性ＨｅｐＧ２及びＧＰＣ３陰性ＳＫ－Ｈｅｐ１細胞に対する結合について、抗ＧＰＣ３　ｍＩｇＧ１抗体を試験した。１０μｇ／ｍＬの構築された抗体を、氷上で１時間細胞に添加した。洗浄後、ＰＥコンジュゲート抗マウスＩｇＧ（Ｈ及びＬ）（Ｖｅｃｔｏｒ　Ｌａｂｓ＃ＥＩ－２００７）を添加して（暗所で４℃にて３０分間、そして、２回洗浄）、抗体結合を検出した。図９Ａから分かるように、全ての抗ＧＰＣ３　ｍＩｇＧがＧＰＣ３陽性ＨｅｐＧ２細胞に結合することが見出され、一方、二次抗体及び対照抗体のみ（対照ｍＩｇＧ１）では同じ細胞に結合しなかった。抗ＧＰＣ３　ｍＩｇＧ又は対照ｍＩｇＧ１のいずれも、ＳＫ－Ｈｅｐ１細胞への結合を示さなかった（図９Ｂ）。抗ＧＰＣ３　ｍＩｇＧ１クローンＢ－８７及びｍＩｇＧ－ＧＣ３３抗体を用いて、同じＦＡＣＳ分析を実施した。

ＥＬＩＳＡによるラットＧＰＣ３に対するＧＰＣ３Ａ　ｍＩｇＧ１抗体の反応性

【０７８８】

ＧＰＣ３特異的及び陰性対照（ＥＴ－９０１）マウスキメラＩｇＧ１を、ＥＬＩＳＡアッセイにおいてラットＧＰＣ３ペプチドに対する結合について試験した。１００ｎｇ／ｍＬから始まる合計８つの濃度の３倍連続希釈物で抗体を試験した。ＰＢＳ中２μｇ／ｍＬで体積１００μＬのビオチン化ラットＧＰＣ３をストレプトアビジンプレート上にコーティングし、ストレプトアビジンでコーティングした９６ウェルＥＬＩＳＡプレートに添加し、４℃で一晩インキュベートした。室温で２時間、ＰＢＳ中５％脱脂粉乳（ＮＦＤＭ）でプレートをブロッキングした。ＰＢＳＴ緩衝液中５μｇ／ｍＬで構成されたＧＰＣ３ＡｍＩｇＧ１クローン（Ａ－３４、－４６、－５３、－５８、－６１）、並びに陰性対照ＥＴ－９０１　ｍＩｇＧ１を、それぞれ、室温で１時間、別々のラットｂｔ－ＧＰＣ３でコーティングされたウェルでインキュベートした。プレートをＰＢＳＴで洗浄し、抗マウスＦｃ（Ｂｅｔｈｙｌ　Ｌａｂｓ＃Ａ９０－１３１Ｐ、１：２０００希釈）と共に室温で３０分間インキュベートした。ＰＢＳＴで洗浄した後、１－ＳＴＥＰ（商標）ＵｌｔｒａＴＭＢ－ＥＬＩＳＡ基質溶液（Ｔｈｅｒｍｏｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ＃３４０２８）を用いて反応を顕色し、２Ｎ硫酸で停止した。５個のＧＰＣ３Ａ　ｍＩｇＧ１クローンのうちの４個（Ａ－３４、－４６、－５８、－６１）は、陰性対照抗ＣＤ１９　ｍＩｇＧ１と比較して、ラットｂｔ－ＧＰＣ３と反応した（図１２）。ＧＰＣ３Ａ－５３ｍＩｇＧ１クローンは、ラットｂｔ－ＧＰＣ３と反応しなかった。付随する実験では、試験した全てのＧＰＣ３Ａ　ｍＩｇＧ１クローン（Ａ－３４、－４６、－５３、－５８、－６１）がヒトＧＰＣ３と反応した（図１２）。

実施例５．細胞表面及び可溶性ＧＰＣ３に対する抗ｈＧＰＣ３単一特異性及び二重特異性抗体の結合プロファイルの決定

【０７８９】

この実施例は、選択された単一特異性及び二重特異性抗体のＧＰＣ３結合プロファイルを示す。具体的には、この実施例は、（実施例４に記載のとおり）選択された抗ｈＧＰＣ

３単一特異性ｍＩｇＧ１クローンのエピトープ結合部位の特性評価について記載する。他方、本実施例はまた、クローンＧＣ３３　ｍＩｇＧ１及び二重特異性ＧＣ３３－Ｌ２Ｋと共に、本発明の選択された抗ｈＧＰＣ３単一特異性ｍＩｇＧ１クローン及びヒト抗ｈＧＰＣ３抗ＣＤ３二重特異性抗体（実施例２に記載のＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ及びＧＰＣ３Ｂ　Ｌ２Ｋ）の、可溶性組み換えヒトＧＰＣ３（すなわち、ヒトＧＰＣ３（５６０）、ｈＧＰＣ３の残基１～５６０ａａ）又は癌細胞表面上のＧＰＣ３抗原、例えば、ＧＰＣ３陽性ＨｅｐＧ２及びＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３細胞への結合プロファイルについて記載する。

ＧＰＣ３Ａ　ｍＩｇＧクローンのエピトープ結合部位特性評価

【０７９０】

ＧＰＣ３エピトープのビニングを実施して、異なるエピトープが参照ＧＣ３３－ｍＩｇＧ１、並びに抗ｈＧＰＣ３単一特異性ｍＩｇＧ１クローンＧＰＣ３Ａ－３７　ｍＩｇＧ及びＧＰＣ３Ａ－５５　ｍＩｇＧによって認識されるかどうかを判定した。２つのｍＩｇＧタンパク質が異なるエピトープに結合するかどうかを判定するために、第１の対のｍＩｇＧタンパク質及びＧＰＣ３を反応させて、ＧＰＣ３上のその結合エピトープを第１のｍＩｇＧに占有させた後、第２の異なるｍＩｇＧを添加した。簡潔に述べると、結合親和性を決定し、１：１結合部位、部分フィットモデルを使用して、結合パラメータを計算した。ｍＩｇＧタンパク質とＧＰＣ３との第１の対合の後（対の一方の実体がストレプトアビジン－バイオセンサに固定化されている）、バイオセンサによって検出されたシグナルにおけるスパイクは、第１のｍＩｇＧとＧＰＣ３との間の結合を反映しており、洗浄後、第１の対のｍＩｇＧ／ＧＰＣ３は、ストレプトアビジンでコーティングされたプレートに結合したままである。続いて、第２のｍＩｇＧをＧＰＣ３／第１のｍＩｇＧの固定化された対に添加した際、シグナルにおける更なるスパイクは第２のｍＩｇＧと固定化ＧＰＣ３との間の結合を反映しており、これは、第２のｍＩｇＧが、第１のｍＩｇＧとの反応後にＧＰＣ３上に残された未結合のエピトープと反応したことを示す。したがって、第２のｍＩｇＧを添加した際のシグナルにおけるスパイクは、第１及び第２のｍＩｇＧが異なるエピトープに結合することを示す。反対に、第２のｍＩｇＧを添加した際にシグナルにおけるスパイクが存在しないことは、第１及び第２のｍＩｇＧが同じエピトープに結合することを示し得る。

【０７９１】

線形フォーマットのＧＰＣ３エピトープビニングでは、５μｇ／ｍＬのビオチン化ＧＰＣ３をストレプトアビジンバイオセンサにロードした。過剰な抗原を洗い流した後、ｍＩｇＧタンパク質を逐次添加したが、ここでは、第１のｍＩｇＧを５０μｇ／ｍＬで添加し、続いて、第２のｍＩｇＧを１００μｇ／ｍＬで添加した。具体的には、まず、ＧＣ３３－ｍＩｇＧ１を５０μｇ／ｍＬで添加してシグナルにおけるスパイクを誘発し、それによって、ＧＣ３３－ｍＩｇＧ１のＧＰＣ３エピトープへの特異的結合を示す（図１３）。続いて、ＧＰＣ３Ａ－３７　ｍＩｇＧ又はＧＰＣ３Ａ－５５　ｍＩｇＧのいずれかを１００μｇ／ｍＬで添加した。両方の場合において、ＧＰＣ３Ａ－３７　ｍＩｇＧ又はＡ－５５　ｍＩｇＧのいずれかを添加した際にも第２のスパイクがの記録され（図１３）、このことは、ＧＰＣ３Ａ－３７　ｍＩｇＧ及びＧＣ３３－ｍＩｇＧ１が異なるエピトープに結合すること、そして、ＧＰＣ３Ａ－５５　ｍＩｇＧ及びＧＣ３３－ｍＩｇＧ１も異なるエピトープに結合することを示す。

【０７９２】

更なる実験では、まずＧＰＣ３Ａ－３７　ｍＩｇＧを５０μｇ／ｍＬで添加したところ、シグナルにおけるスパイクが誘発され、それによってＧＰＣ３Ａ－３７　ｍＩｇＧのＧＰＣ３エピトープへの特異的結合を示した。続いて、ＧＰＣ３Ａ－５５　ｍＩｇＧを１００μｇ／ｍＬで添加したところ、第２のスパイクが誘発され、このことは、ＧＰＣ３Ａ－３７　ｍＩｇＧ及びＧＰＣ３Ａ－５５　ｍＩｇＧが異なるエピトープに結合したことを示す（図１３）。上記の結果を組み合わせると、ＧＣ３３　ｍＩｇＧ１、ＧＰＣ３Ａ－３７　ｍＩｇＧ、及びＧＰＣ３Ａ－５５　ｍＩｇＧは、それぞれ、ＧＰＣ３上の異なるエピトープに結合する。

【０７９３】
サンドイッチフォーマットのＧＰＣ３エピトープビニングでは、ｍＩｇＧタンパク質をビオチン化し、ストレプトアビジンバイオセンサ上に５μｇ／ｍＬで固定した。過剰のｍＩｇＧを洗い流した後、ＧＰＣ３を固定化された抗体に１０μｇ／ｍＬで添加し、固定化されたｍＩｇＧに結合したままにした。洗浄後、次に、第２のｍＩｇＧを１０μｇ／ｍＬで添加し、結合をモニタリングした。
【０７９４】
具体的には、（第１のｍＩｇＧ１として）ＧＣ３３－ｍＩｇＧ、ＧＰＣ３Ａ－３７　ｍＩｇＧ、及びＧＰＣ３Ａ－５５　ｍＩｇＧタンパク質のそれぞれをビオチン化し、５μｇ／ｍＬでストレプトアビジンバイオセンサ上にそれぞれ固定化した。過剰のｍＩｇＧを洗い流した後、１０μｇ／ｍＬのＧＰＣ３を固定化された抗体に添加したところ、３つの試験したｍＩｇＧのそれぞれについてスパイクが誘発され、それによって、ＧＣ３３－ｍＩｇＧ、ＧＰＣ３Ａ－３７　ｍＩｇＧ、及びＧＰＣ３Ａ－５５　ｍＩｇＧのそれぞれのＧＰＣ３エピトープへの特異的結合を示す。過剰のＧＰＣ３抗原を洗い流した後、１０μｇ／ｍＬの第２のｍＩｇＧ（第１のｍＩｇＧとは異なる）を添加し、結合をモニタリングした。線形フォーマットのエピトープビニングと同様に、第２の異なるｍＩｇＧを後で添加すると、シグナルにおける更なるスパイクが誘発され（図１４）、したがって、ＧＣ３３－ｍＩｇＧ１、ＧＰＣ３Ａ－３７　ｍＩｇＧ、及びＧＰＣ３Ａ－５５　ｍＩｇＧがそれぞれ、ＧＰＣ３上の異なるエピトープに結合することを示す。
可溶性組み換えヒトＧＰＣ３タンパク質に対するＧＰＣ３－Ｌ２Ｋ結合
【０７９５】
抗ｈＧＰＣ３抗ｈＧＰＣ３　Ｌ２Ｋ二重特異性抗体（クローンＧＰＣ３Ａ－３４、ＧＰＣ３Ａ－３７、ＧＰＣ３Ａ－４５、ＧＰＣ３Ａ－４６、ＧＰＣ３Ａ－５５、ＧＰＣ３Ａ－５８に由来するＧＰＣ３Ａ　Ｌ２Ｋ）のビオチン化組み換えＧＰＣ３$_{(560)}$（ｂｔ－ＧＰＣ３$_{(560)}$）への結合特性を、製造業者の指示に従って、単一サイクル反応速度モードにおいて、ＢＩＡＣＯＲＥ（商標）Ｘ１００機器（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）及びＢｉｏｔｉｎ　ＣＡＰｔｕｒｅ　Ｋｉｔ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ、カタログ番号２８－９２０２－３３）を使用して、表面プラズモン共鳴技術によって測定した。アッセイで使用したタンパク質の全てを、使用前にＨＢＳ－Ｅ緩衝液で希釈した。簡潔に述べると、５～１０μｇ／ｍＬのｂｔ－ＧＰＣ３$_{(560)}$を、ＣＡＰｔｕｒｅ試薬で予め官能化されたセンサチップ上に固定化し、フローセルに注入した。３０μＬ／分の流速で９０秒間の会合相、続いて、９０秒間の解離相で、０．３～５ｍｇ／ｍＬの様々な二重特異性抗体を注入することによって、固定化抗原に対するＬ２Ｋ二重特異性抗体の親和性を測定した。各ランの最後に、Ｂｉｏｔｉｎ　ＣＡＰｔｕｒｅ　ｋｉｔに提供された試薬を使用して、センサチップの表面を再生した。１：１結合モデルを用いて非線形回帰分析によって結合定数を決定した（ＢＩＡＣＯＲＥ（商標）Ｘ－１００評価ソフトウェア、図１５Ａ及び１５Ｂ）。次いで、会合－オン速度－k_{on}、親和性定数－k_a、解離定数－k_d、及び平衡解離定数－K_dを、各Ｌ２Ｋクローンについて計算した（表１４）。
【表１４】
表１４

GPC3×CD3 二重特異性抗体クローン	k_a（1／Ms）	k_d（1／s）	K_d（nM）
GPC3A－34 L2K	4.00E＋05	0.001398	3.5
GPC3A－37 L2K	5.67E＋05	0.002886	5.1
GPC3A－45 L2K	1.28E＋05	0.000455	3.5
GPC3A－46 L2K	3.99E＋05	0.001289	3.2
GPC3A－55 L2K	7.05E＋05	0.001606	2.3
GPC3A－58 L2K	3.68E＋05	0.00188	5.1

ＨｅｐＧ２（ＧＰＣ３陽性）細胞への結合

【０７９６】
ＨｅｐＧ２細胞を、用量依存性の抗ｈＧＰＣ３　ｍＩｇＧ１又はＢｓＡｂ結合について試験する。簡潔に述べると、１０、３．３、１．１、０．３７、０．１２、０．０４１、０．０１４、又は０μｇ／ｍＬの抗ｈＧＰＣ３　ｍＩｇＧ１又はＢｓＡｂと共に、ＨｅｐＧ２細胞を、氷上で１時間インキュベートする。ＰＢＳ緩衝液による短時間の洗浄ラウンド後、二次抗体ＡＰＣ標識抗Ｈｉｓタグ抗体でＢｓＡｂを検出する。ＰＥ標識抗マウス二次抗体でｍＩｇＧ１抗体を検出する。用量依存曲線（ＭＦＩ対ＢｓＡｂ濃度）のＥＣ５０によって、ＨｅｐＧ２細胞に対する親和性について、抗ＧＰＣ３　ｍＩｇＧ１又はＢｓＡｂを評価する。更に、ＥＣ５０値に基づいて、見かけのＫｄを決定する。クローンＧＣ３３　ｍＩｇＧ１に対する本発明のｍＩｇＧ１クローンのＥＣ$_{50}$又は見かけのＫｄ比を計算する。クローンＧＣ３３　ＢｓＡｂに対する本発明のＢｓＡｂクローンのＥＣ$_{50}$又は見かけのＫｄ比も計算する。

実施例６．抗ＧＰＣ３キメラ抗原受容体の構築及び特性評価

【０７９７】
レンチウイルスＣＡＲ発現ベクターを使用して、抗ＧＰＣ３　ＣＡＲを構築した。抗ＧＰＣ３クローン（ＧＰＣ３Ａ－３４、ＧＰＣ３Ａ－３７、ＧＰＣ３Ａ－４５、ＧＰＣ３Ａ－４６、ＧＰＣ３Ａ－５５、ＧＰＣ３Ａ－５８、及びＧＰＣ３Ｂ－８７、本明細書では「ＧＰＣ３Ａ－ＣＡＲ」又は「ＧＰＣ３Ｂ－ＣＡＲ」と称される）由来のｓｃＦｖのそれぞれをＣＡＲ発現ベクター上に移植した。ＧＣ３３　ＣＡＲを構築するために、ＧＣ３３由来のｓｃＦｖも使用した。各ＣＡＲコンストラクトは、ＣＤ２８の細胞内シグナル伝達ドメインと、ＣＤ３ζの細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。ＧＰＣ３Ａ－３４、ＧＰＣ３Ａ－３７、ＧＰＣ３Ａ－４５、ＧＰＣ３Ａ－４６、ＧＰＣ３Ａ－５５、及びＧＰＣ３Ａ－５８抗体クローンに由来する例示的なＣＡＲは、それぞれ、配列番号４９１及び５１６～５２１のアミノ酸配列を含む。

【０７９８】
１日間、インターロイキン－７及びインターロイキン－１５の存在下で、ＣＤ３／ＣＤ２８ビーズ（ＤＹＮＡＢＥＡＤＳ（登録商標）、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）で刺激することによって、ヒト一次Ｔ細胞を活性化した。濃縮されたレンチウイルスを、ＭＯＩ６で７２時間、レトロネクチン（Ｔａｋａｒａ）コーティングされた６ウェルプレート内のＴ細胞に適用した。形質導入効率を表１５に示す。

【表１５】
表１５

Ｔ細胞	形質導入効率（CAR陽性%）
GC33－CAR	95.9
GPC3A－CAR－34	66.8
GPC3A－CAR－37	85.9
GPC3A－CAR－45	80.7
GPC3A－CAR－46	91.9
GPC3A－CAR－55	76.7
GPC3A－CAR－58	95.5
GPC3A－CAR－87	94.1
モック	0.67

【０７９９】
形質導入されたＣＡＲ　Ｔ細胞（ＧＰＣ３Ａ、ＧＰＣ３Ｂ、又はＧＣ３３　ＣＡＲ－Ｔ細胞）の機能評価を、ＬＤＨ細胞傷害アッセイを用いて行った。ＣＡＲ－Ｔ細胞及び標的細胞（ＨｅｐＧ２、ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ、ＳＫ－Ｈｅｐ１、又はＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３）を、２：１のエフェクタ対標的比で混合し、ここでは、試験ウェル当たり１００，０００個の標的細胞を播種し、２００，０００個のＣＡＲ　Ｔ細胞で処理した（感染ＣＡＲ　Ｔ細胞は正規化すると６７％ＣＡＲ陽性であった）。一晩インキュベートした後

に、ＬＤＨ細胞傷害アッセイを実施した。

【０８００】

７個のＧＰＣ３Ａ又はＧＰＣ３Ｂ　ＣＡＲのパネル、並びにＧＣ３３　ＣＡＲをＴ細胞に形質導入し、標的細胞株ＨｅｐＧ２、ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ、ＳＫ－Ｈｅｐ１、及びＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３に対して試験した。ＣＡＲコンストラクト、ＧＰＣ３Ａ－ＣＡＲ－３７、ＧＰＣ３Ａ－ＣＡＲ－４５、ＧＰＣ３Ａ－ＣＡＲ－４６、ＧＰＣ３Ａ－ＣＡＲ－５５、ＧＰＣ３Ａ－ＣＡＲ－５８、ＧＰＣ３Ｂ　ＣＡＲ－８７）が形質導入されたＴ細胞は、ＨｅｐＧ２及びＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３などのＧＰＣ３陽性細胞株を特異的に殺傷した（図１６）。しかしながら、野生型ＳＫ－Ｈｅｐ１又はＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯなどのＧＰＣ３陰性細胞は、同じＣＡＲ　Ｔ細胞によってあまり認識されなかった。これらのＬＤＨ細胞傷害実験では、ＧＰＣ３Ａ－ＣＡＲ－３７、ＧＰＣ３Ａ－ＣＡＲ－５５、及びＧＰＣ３Ａ－ＣＡＲ－５８　ＣＡＲを含むＣＡＲ－Ｔは、ＧＰＣ３陽性標的細胞の殺傷において高い効率を示したが、ＧＰＣ３陰性細胞の非特異的殺傷は少なかった（図１６）。

【０８０１】

ＬＤＨ細胞傷害アッセイの第２のバッチでは、ＣＡＲ－Ｔ細胞及び標的細胞（ＨｅｐＧ２、ＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ、ＳＫ－Ｈｅｐ１、ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３、ＪＨＨ－５、Ａ４９８、又はＰＡＮＣ－１）を、２：１のエフェクタ対標的比で混合し、ここでは、試験ウェル当たり１００，０００個の細胞を播種し、２００，０００個の抗ＧＰＣ３ＣＡＲ陽性Ｔ細胞で処理した（感染ＣＡＲ　Ｔ細胞は正規化するとＣＡＲについて３７．１％陽性であった）。ＣＡＲ－Ｔ細胞の形質導入効率を表１６に示す。一晩インキュベートした後に、ＬＤＨアッセイを実施した。

【表１６】

表１６

T細胞	形質導入効率（CAR陽性%）
GC33－CAR	74．4
GPC3A－CAR－34	51．2
GPC3A－CAR－37	69．2
GPC3A－CAR－45	58．8
GPC3A－CAR－46	60．3
GPC3A－CAR－55	37．1
GPC3A－CAR－58	78
GPC3A－CAR－87	74．8
モック	0．67

【０８０２】

図１７Ａ及び図１７Ｂに示されているとおり、ＣＡＲコンストラクト、ＧＰＣ３Ａ－ＣＡＲ－３７、ＧＰＣ３Ａ－ＣＡＲ－４５、ＧＰＣ３Ａ－ＣＡＲ－４６、ＧＰＣ３Ａ－ＣＡＲ－５５、及びＧＰＣ３Ｂ－ＣＡＲ－８７が形質導入されたＴ細胞は、ＨｅｐＧ２、ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３、及びＪＨＨ－５などのＧＰＣ３陽性細胞株を特異的に殺傷した。しかしながら、Ａ－４９８、ＰＡＮＣ－１、野生型ＳＫ－Ｈｅｐ１細胞、及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯなどのＧＰＣ陰性標的細胞は、同じＣＡＲ　Ｔ細胞によってあまり認識されなかった（図１６Ａ及び図１６Ｂ）。これらの実験は、ＧＰＣ３陰性細胞に顕著な影響を及ぼすことなく、ＧＰＣ３を発現している腫瘍細胞を特異的に標的とする抗ＧＰＣ３ＧＰＣ３Ａ又はＧＰＣ３Ｂ　ＣＡＲ－Ｔを使用した際の治療効果を示す。

実施例７．抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲ－１及び抗ＣＤ３／抗ＧＰＣ３二重特異性抗体が形質導入されたＴ細胞の構築及び特性評価

【０８０３】

抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲ（配列番号５２２及び５２３）又は抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲ＋抗ＧＰＣ３／抗ＣＤ３　ＢｓＡｂ（配列番号５１１）のいずれかをコードしているレンチウイル

スを一次Ｔ細胞に形質導入した。形質導入効率を評価するために、ｃａＴＣＲ陽性細胞の百分率の測定値を決定した。抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲは、ＥＦ１－アルファプロモータ（配列番号５２７）の制御下にあり、抗ＧＰＣ３／抗ＣＤ３　ＢｓＡｂは、６個のＮＦＡＴ応答エレメント（配列番号５２４）及びミニマルＴＡプロモータ（配列番号５２５）を含むＮＦＡＴ由来プロモータ（配列番号５２６）の制御下にあった。モックＴ細胞と混合することによって、Ｔ細胞を指定の受容体陽性百分率と一致させた。２．５：１のエフェクタ対標的比で２つの細胞株：ＨＥＰＧ２（ＡＦＰ＋／ＧＰＣ３＋）及びＨｅｐＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ（ＡＦＰ＋／ＧＰＣ３－）を使用した。Ｃｙｔｏｘ　９６非放射性細胞傷害アッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ）を使用して、１６時間インキュベートした後に特異的Ｔ細胞溶解を測定した。

【０８０４】

インビトロ殺傷データは、抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲ＋抗ＧＰＣ３／抗ＣＤ３　ＢｓＡｂを形質導入したＴ細胞における抗ＧＰＣ３／抗ＣＤ３　ＢｓＡｂの発現が、Ｔ細胞の用量範囲全体にわたって、ＧＰＣ３依存的に、抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲのみを形質導入したＴ細胞と比較して、形質導入されたＴ細胞の効力を増加させたことを示す（図１８）。細胞傷害性効力の増加を実証した反応はまた、放出されるサイトカイン（ＩＦＮγ、ＴＮＦα、及びＩＬ－２）の量の増加も示した（図１９）。したがって、抗ＧＰＣ３／抗ＣＤ３　ＢｓＡｂの誘導性発現は、Ｔ細胞の効力及びサイトカイン生成を増加させた。

【０８０５】

抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞傷害性は別として、抗原によって誘導された抗ＧＰＣ３／抗ＣＤ３　ＢｓＡｂの細胞傷害性を直接測定するために、ＢｓＡｂ透過性膜を有するトランスウェルを使用した。２．５×１０^{5}個のＳＫ－ＨＥＰ１－ＧＰＣ３（ＧＰＣ３$^{+}$）又はＳＫ－ＨＥＰ１（ＧＰＣ３$^{-}$）腫瘍細胞及び４×１０^{6}個の受容体陰性「モック」Ｔ細胞を、下部チャンバ内に一緒に播種した。２．５×１０^{5}個の抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲでトランスフェクトされたＴ細胞を、２．５×１０^{5}個の対応する標的細胞ＳＫ－ＨＥＰ１－ＭＧ（ＡＦＰ$^{+}$）又はＳＫ－ＨＥＰ１（ＡＦＰ$^{-}$）と共に、上部チャンバ内に一緒に播種した。抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲ＋抗ＧＰＣ３／抗ＣＤ３　ＢｓＡｂ　Ｔ細胞をＡＦＰ陽性（ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＭＧ）腫瘍細胞で刺激した場合、分泌された抗ＧＰＣ３／抗ＣＤ３　ＢｓＡｂはトランスウェル膜を通過し、ＧＰＣ３陽性ＳＫ－Ｈｅｐ１－ＧＰＣ３腫瘍細胞の溶解を刺激することができた（図２０）。これらの結果は、抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲ＋抗ＧＰＣ３／抗ＣＤ３　ＢｓＡｂ　Ｔ細胞が、ｃａＴＣＲ受容体の係合に応答して、特定の完全機能性抗ＧＰＣ３／抗ＣＤ３　ＢｓＡｂを分泌できること、そして、このようなＢｓＡｂの治療効果をｃａＴＣＲ療法に対して相加的に使用できることを示す。

実施例８．抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲ－１及び抗ＧＰＣ３キメラ刺激受容体が形質導入されたＴ細胞の構築及び特性評価

【０８０６】

抗ＡＦＰ結合部分をコードしている核酸断片（配列番号５２８及び５２９）を使用して、ｃａＴＣＲ－１コンストラクト（ｃａＴＣＲ－１－０又はＴＣＲ－１－ＴＭ５）を生成した。抗ＧＰＣ３結合部分をコードしている核酸断片（配列番号３０９及び３６０）を使用して、ＣＤ２８の膜貫通及び細胞内シグナル伝達配列（配列番号５３０）を含むＣＳＲ（すなわち、ＣＳＲ１）を生成した。

インビトロにおける殺傷

【０８０７】

ＨＥＰＧ２細胞（ＡＦＰ及びＧＰＣ３を発現しているヒト肝癌細胞）及びＨＥＰＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ細胞を、２．５：１のエフェクタ対標的比でＴ細胞刺激についての標的細胞として使用した。Ｃｙｔｏｘ　９６非放射性細胞傷害アッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ）を使用して、１６時間インキュベートした後に特異的Ｔ細胞溶解を測定した。

【０８０８】

抗ＡＦＰ－ｃａＴＣＲ－１－０（配列番号５３２、５３３）又は抗ＡＦＰ－ｃａＴＣＲ－１－ＴＭ５（配列番号５３４、５３５）のいずれかを有する抗ＧＰＣ３－ＣＳＲ（配列

番号５３１）の発現の結果、インビトロでＨＥＰＧ２細胞を溶解することができる完全機能性細胞傷害性Ｔ細胞が得られた（図２１）。ｃａＴＣＲ－１－０のみを発現しているＴ細胞は、ｃａＴＣＲ－１（ｃａＴＣＲ－１－０又はｃａＴＣＲ－１－ＴＭ５）及びＣＳＲ（約５５％～約６５％）の両方を発現しているものよりも特異的殺傷がはるかに少なかった（約１５％）。対照的に、ＨＥＰＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ標的細胞を使用したとき、ｃａＴＣＲ及びＣＳＲの両方を発現しているＴ細胞については、特異的殺傷が約１０％に減少した（図２１）が、このことは、ＣＳＲとその標的リガンドとの係合が、増大した細胞傷害性に関与することを示している。

サイトカイン分泌

【０８０９】

インビトロ殺傷実験の上清に放出されたサイトカインの濃度を、Ｂｉｏ－ｐｌｅｘ Ｐｒｏ Ｈｕｍａｎ Ｃｙｔｏｋｉｎｅ ８ ｐｌｅｘキット（ＢｉｏＲａｄ）を使用してＢｉｏｐｌｅｘ ２００（Ｌｕｍｉｎｅｘ）で測定した。ｃａＴＣＲ標的抗原及びＣＳＲ標的リガンドの両方を発現しているＨＥＰＧ２標的細胞については、ＣＳＲ陽性及びｃａＴＣＲ陽性Ｔ細胞は、ｃａ－ＴＣＲ－１－０のみを発現しているＴ細胞よりも多くの細胞傷害性サイトカインを放出した（図２２）。対照的に、ＣＳＲ標的リガンドを欠いているＨＥＰＧ２－ＧＰＣ３－ＫＯ標的細胞については、ｃａ－ＴＣＲ－１－０のみ又はｃａＴＣＲ及びＣＳＲの両方を発現しているＴ細胞間の差はほとんど又は全くなかった（図２２）。

細胞内サイトカイン発現

【０８１０】

分泌阻害剤ブレフェルジンＡ（ＢＦＡ）の存在下において、Ｅ：Ｔ比１：２で、Ｔ細胞を標的細胞（ＨＥＰＧ２）で４時間刺激した。Ｔ細胞を透過処理し、サイトカイン特異的抗体を使用して、腫瘍刺激に応答して発現したサイトカインを検出した。フローサイトメトリーを用いて、サイトカイン陽性細胞の百分率を決定した。ＣＳＲ陽性及びｃａＴＣＲ陽性Ｔ細胞は、ｃａ－ＴＣＲ－１－０のみを発現しているＴ細胞よりも多くの細胞内サイトカインを発現した（表１７）。

【表１７】

表１７

CD8＋T細胞における細胞内TNFα発現		
陽性率％	HEPG2	T細胞のみ
CSR	０．３	０．２
caTCR－１－０	１４．７	０．１
caTCR－１－０＋CSR	１７．０	０．１
caTCR－１－TM５＋CSR	１５．７	０．１

CD4＋T細胞における細胞内IL－２発現		
陽性率％	HEPG2	T細胞のみ
CSR	０．１	０．０４
caTCR－１－０	８．２	０．１１
caTCR－１－０＋CSR	９．８	０．０５
caTCR－１－TM５＋CSR	１１．２	０．０３

CD8＋T細胞における細胞内IFNγ発現		
陽性率％	HEPG2	T細胞のみ
CSR	０．２	０．０８
caTCR－１－０	３．１	０．２
caTCR－１－０＋CSR	４．５	０．１
caTCR－１－TM５＋CSR	５．１	０．０６

【０８１１】

まとめると、結果は、ＣＳＲの添加が、異なるｃａＴＣＲ標的抗原及びＣＳＲ標的リガンドを有するｃａＴＣＲ＋ＣＳＲ　Ｔ細胞の感度及び応答性を増大させることを示す。これらのＣＳＲ－ｃａＴＣＲ二重陽性Ｔ細胞で発現し、それから放出されるサイトカインの量が増加することは、ｃａＴＣＲ－１及びＣＳＲの両方の共刺激によってＴ細胞の細胞傷害能が上昇するという更なる証拠を提供する。

脱顆粒

【０８１２】

Ｔ細胞を蛍光コンジュゲート抗ＣＤ１０７ａと混合し、エンドサイトーシス阻害剤モネンシンの存在下において、１：２のＥ：Ｔ比で、ＨＥＰＧ２標的細胞で４時間刺激した。ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞上でＣＳＲが係合するとＴ細胞の脱顆粒が増加し、このことは、ＣＳＲが、意図する腫瘍細胞に対する治療用Ｔ細胞の反応性をより高めることを更に実証する（図２３）。

増殖

【０８１３】

Ｔ細胞を細胞内色素ＣＦＳＥで標識し、指定日に残存しているＣＦＳＥ陽性細胞の色素希釈度及び数を測定した。

【０８１４】

それぞれのＴ細胞を一晩血清飢餓処理し、ＣｅｌｌＴｒａｃｅ　ＣＦＳＥ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｃ３４５５４）を用いてＣＦＳＥで標識した。１００，０００個のＴ細胞を２：１のＥ：Ｔでインキュベートし、指定日にＴ細胞が分割したとき、ＣＦＳＥ色素の連続希釈を観察するために、フローサイトメトリーを使用した。Ｔ細胞の総数をＦＡＣによって計数した。

【０８１５】

ＣＦＳＥ希釈度はＣＳＲ刺激によって増加し、このことは、これらのＴ細胞がより高い増殖能を有していたことを示す（図２４）。重要なことに、細胞数も増加し、このことは、細胞がより良好に増殖するだけでなく、その存続性も維持されることを意味する（表１８）。

【表１８】

表１８．

HEPG2との係合後に残留してるT細胞の数			
	3日目	5日目	7日目
CSR	7，147	4，519	3，055
caTCR1－0	5，674	4，362	3，372
caTCR1－0＋CSR	31，422	18，689	8，833
caTCR－1－TM5＋CSR	28，874	21，978	9，471

【０８１６】

結果は、本発明者らが、ＣＳＲ及びｃａＴＣＲの両方をリガンド陽性腫瘍細胞で同時に刺激することができたこと、そして、ＣＳＲ及びｃａＴＣＲの共刺激が、ｃａＴＣＲ　Ｔ細胞の細胞傷害性、増殖能、及び存続性を増強したことを示す。これらが、養子移入を用いてｃａＴＣＲベースの治療の治療能を増大させる全ての特徴である。

実施例９：抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲ－１及び抗ＧＰＣ３　ＣＳＲで形質導入されたＴ細胞のインビボ有効性試験

【０８１７】

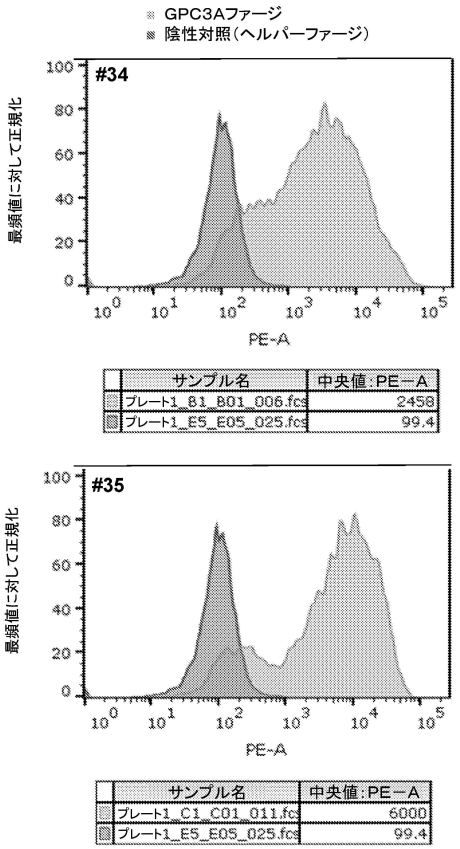
抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲ－１及び抗ＧＰＣ３　ＣＳＲ－１の両方を発現しているＴ細胞のインビボ抗腫瘍活性（コンストラクト情報については実施例８を参照されたい）を、樹立されたヒトＡＦＰ$^{+}$／ＨＬＡ－Ａ２$^{+}$Ｈｅｐ　Ｇ２肝癌異種移植モデルにおいて試験した。ＳＣＩＤ－Ｂｅｉｇｅマウスの右側腹部に、Ｈｅｐ　Ｇ２細胞を皮下（ｓ．ｃ．）移植した。腫瘍が約１００ｍｍ^{3}に達したとき、（１）５×１０^{6}個の非形質導入ドナー適合（モック）Ｔ細胞、（２）同じ抗ＡＦＰ結合部分を含む抗ＡＦＰ　ＣＡＲ（配列番号５２８及び５２９）を発現している２×１０^{6}個のＴ細胞、又は（３）抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲ－１及び抗ＧＰＣ３　ＣＳＲ－１の両方を発現している２×１０^{6}個のＴ細胞のいずれかをマウスに腫瘍内（ｉ．ｔ．）注射した（ｎ＝６マウス／群）。その全体的な外観、体重、及び有害応答の他の臨床的徴候（低体温、努力性呼吸、及び後肢麻痺／衰弱を含む）をモニタリングすることによって、マウスにおけるＴ細胞注入から生じる健康効果を評価した。

【０８１８】

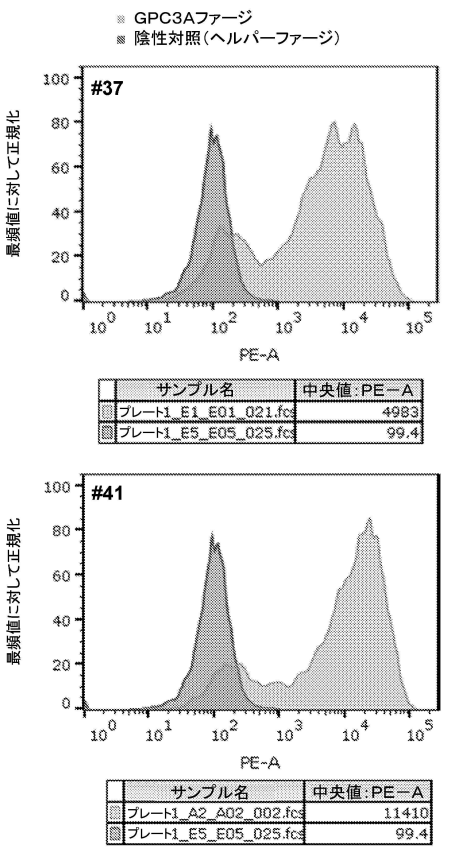
図２５に示すように、抗ＡＦＰ　ＣＡＲ　Ｔ細胞処理及び抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲ－１／抗ＧＰＣ３　ＣＳＲ－１　Ｔ細胞処理の両方から、顕著かつ有意な（＊＊＊＊ｐ＜０．０００１；ダネットの多重比較試験）腫瘍成長阻害が生じた。全ての抗ＡＦＰ　ＣＡＲ－Ｔ処理されたマウス及び抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲ－１／抗ＧＰＣ３　ＣＳＲ－１　Ｔ細胞処理されたマウスは、試験期間にわたって正常な歩行、姿勢、及び活動／応答性を示した。更に、抗ＡＦＰ　ＣＡＲ－Ｔ処理されたマウス及び抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲ－１／抗ＧＰＣ３　ＣＳＲ－１　Ｔ細胞処理されたマウスは、試験中に体重が減少しなかった。全体として、処理されたマウスにおいて観察可能な異常パラメータがなかったことは、抗ＡＦＰ　ｃａＴＣＲ－１／抗ＧＰＣ３　ＣＳＲ－１　Ｔ細胞療法の安全性を示す。

【図面】

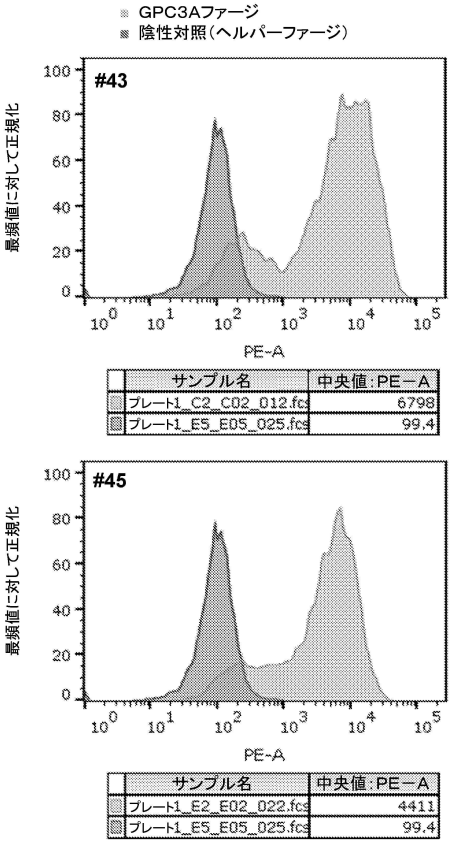
【図１Ａ】



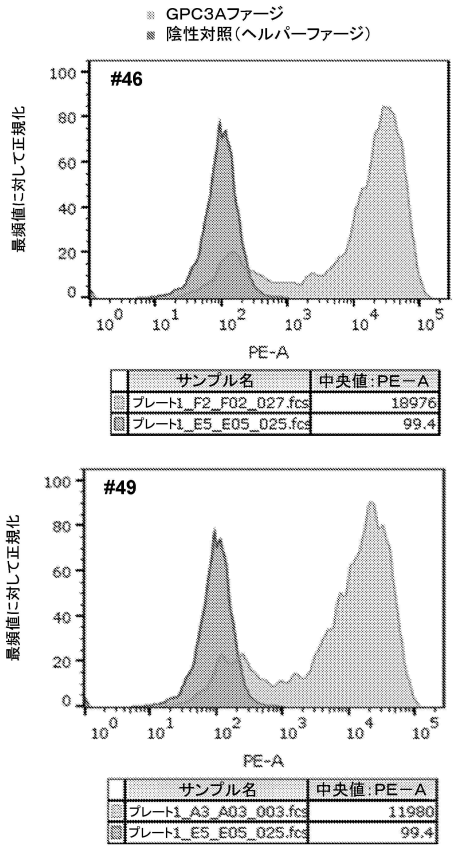
【図１Ｂ】



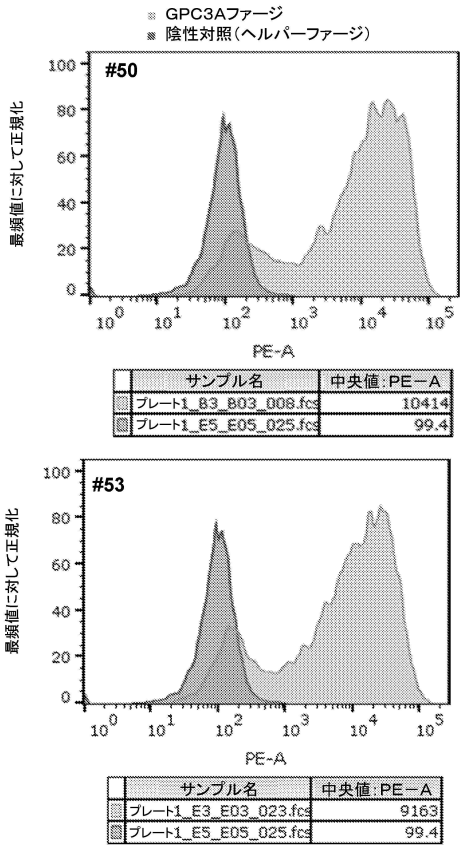
【図１Ｃ】



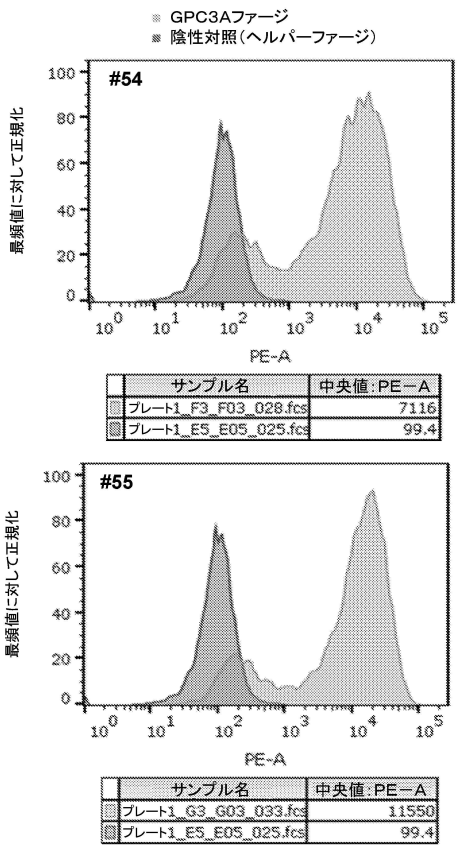
【図１Ｄ】



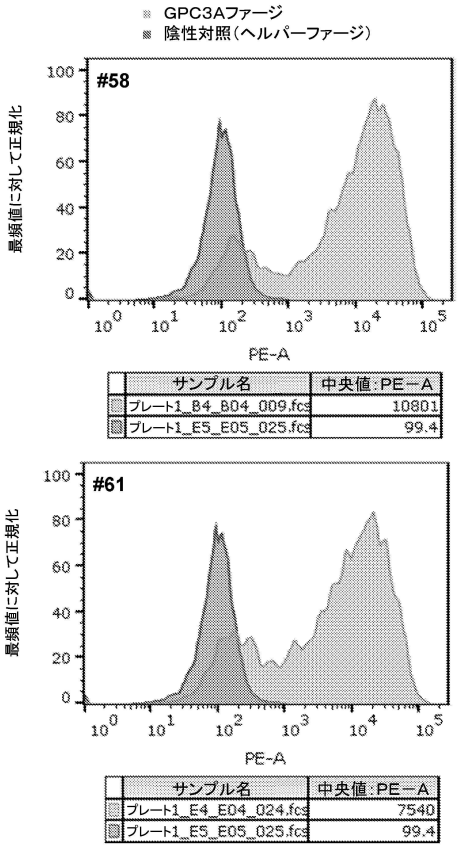
【図１Ｅ】



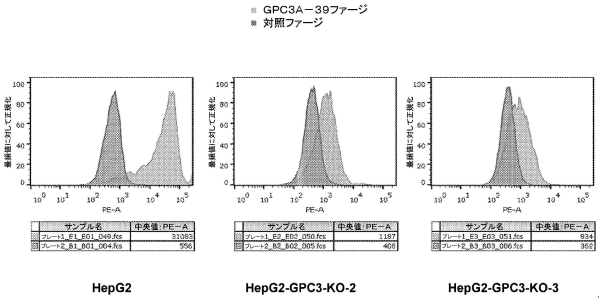
【図１Ｆ】



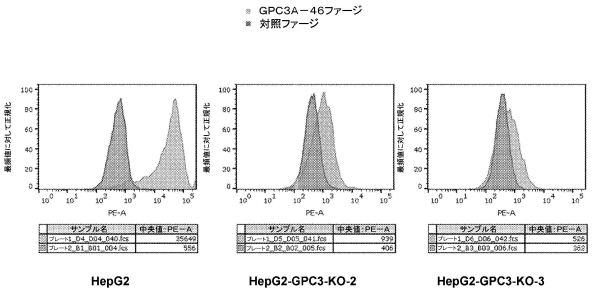
【図１Ｇ】



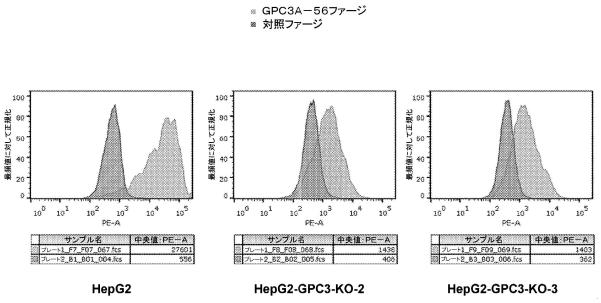
【図２Ａ】



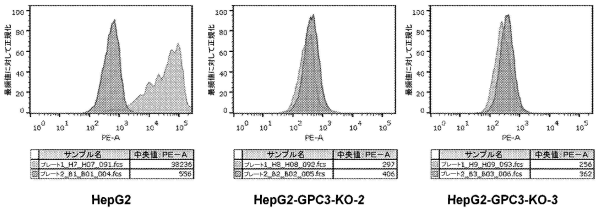
【図２Ｂ】



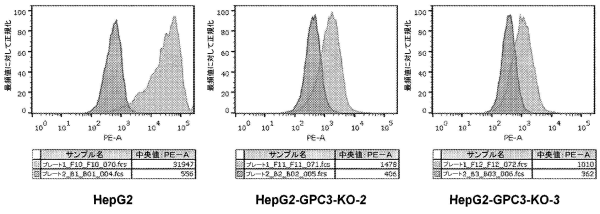
【図２Ｃ】



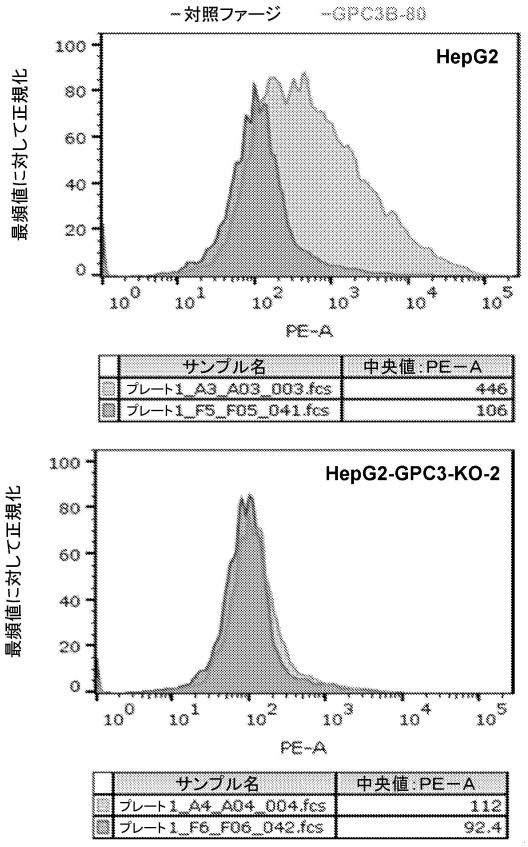
【図２Ｄ】



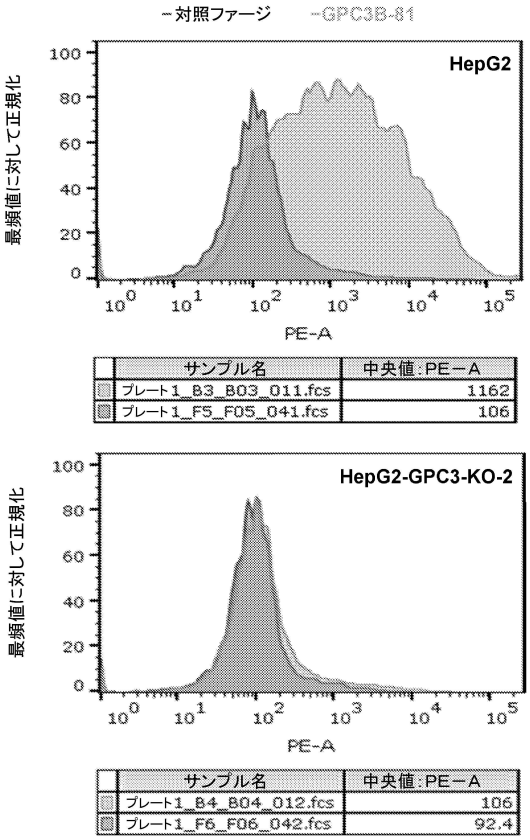
【図２Ｅ】



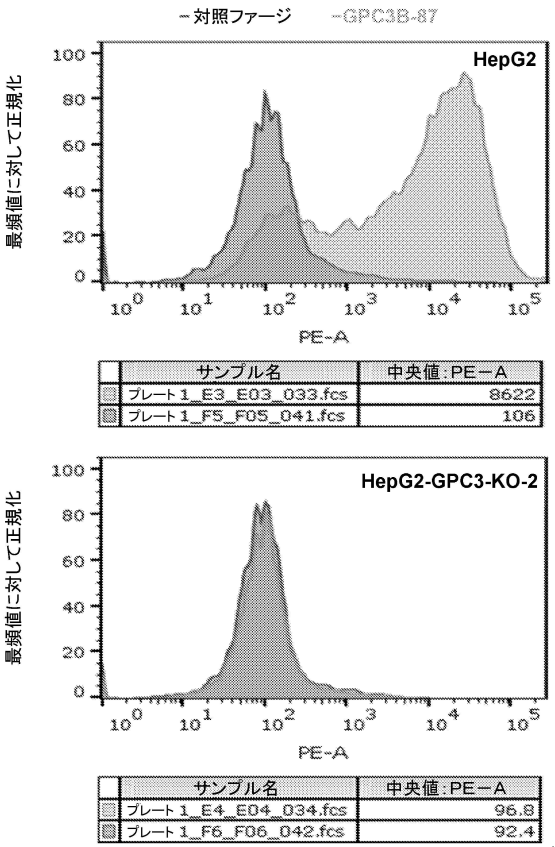
【図３Ａ】



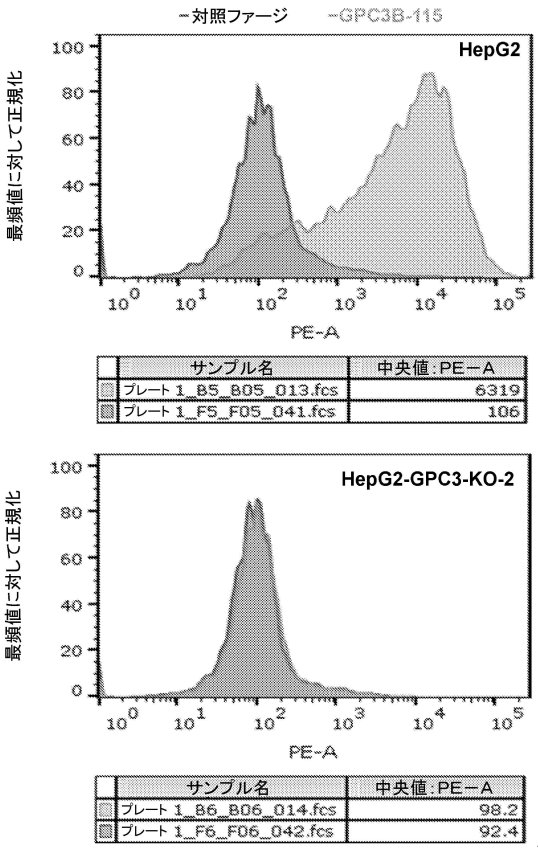
【図３Ｂ】



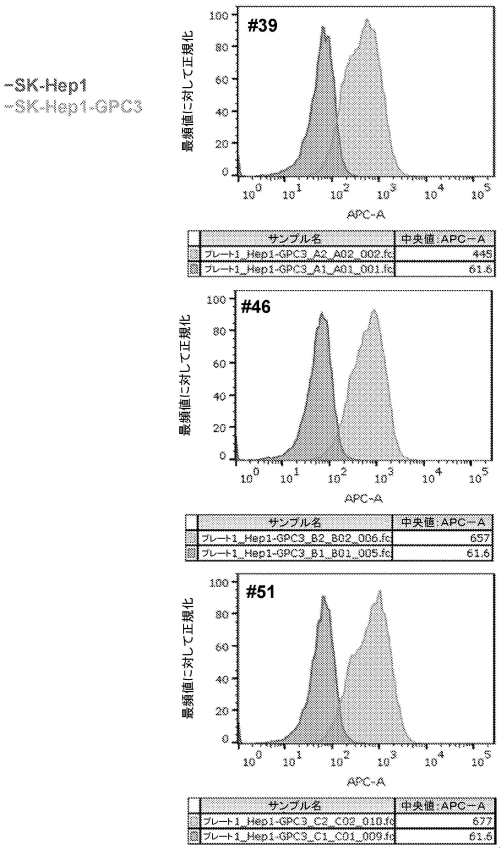
【図３Ｃ】



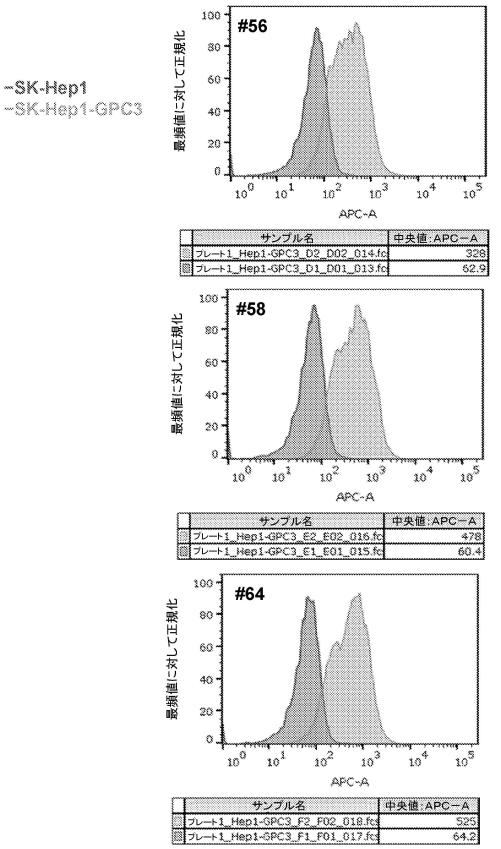
【図３Ｄ】



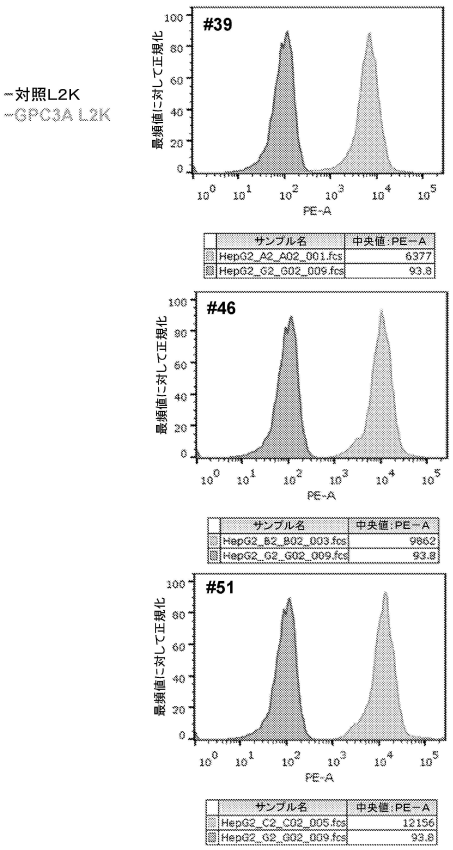
【図４Ａ】



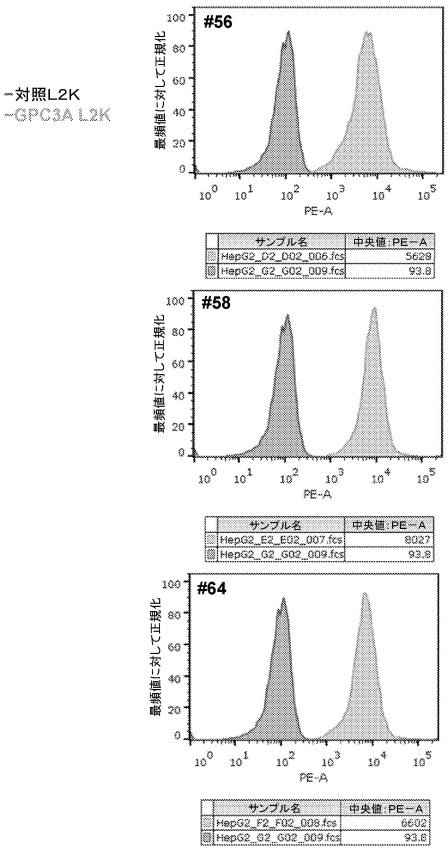
【図４Ｂ】



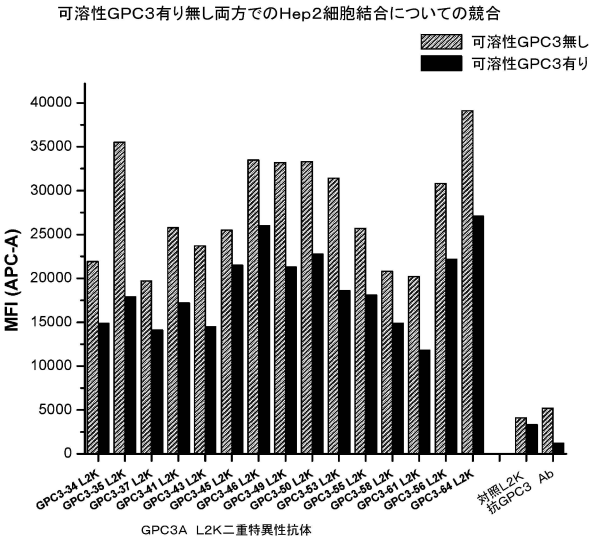
【図５Ａ】



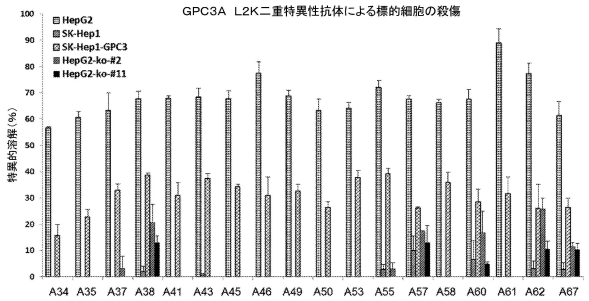
【図５Ｂ】



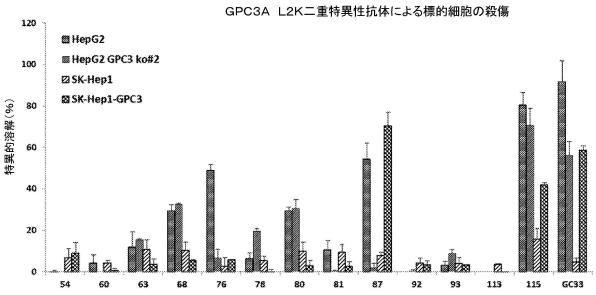
【図６】


可溶性GPC3有り無し両方でのHep2細胞結合についての競合
可溶性GPC3無し
可溶性GPC3有り
MFI (APC-A)
40000
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
GPC3-34 L2K
GPC3-35 L2K
GPC3-37 L2K
GPC3-41 L2K
GPC3-43 L2K
GPC3-45 L2K
GPC3-46 L2K
GPC3-49 L2K
GPC3-50 L2K
GPC3-53 L2K
GPC3-55 L2K
GPC3-58 L2K
GPC3-61 L2K
GPC3-56 L2K
GPC3-64 L2K
対照L2K
抗GPC3 Ab
GPC3A L2K二重特異性抗体

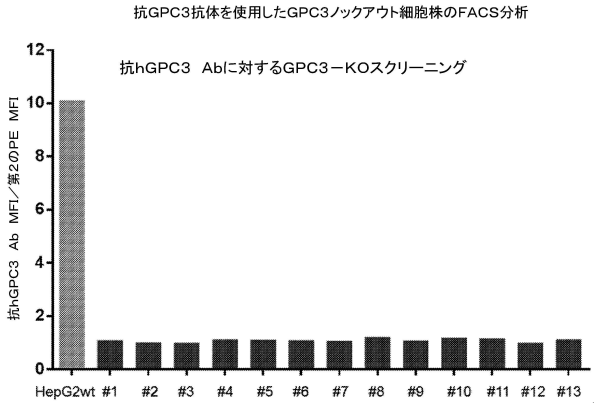
【図７Ａ】


GPC3A L2K二重特異性抗体による標的細胞の殺傷
HepG2
SK-Hep1
SK-Hep1-GPC3
HepG2-ko-#2
HepG2-ko-#11
特異的溶解(%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
A34 A35 A37 A38 A41 A43 A45 A46 A49 A50 A53 A55 A57 A58 A60 A61 A62 A67

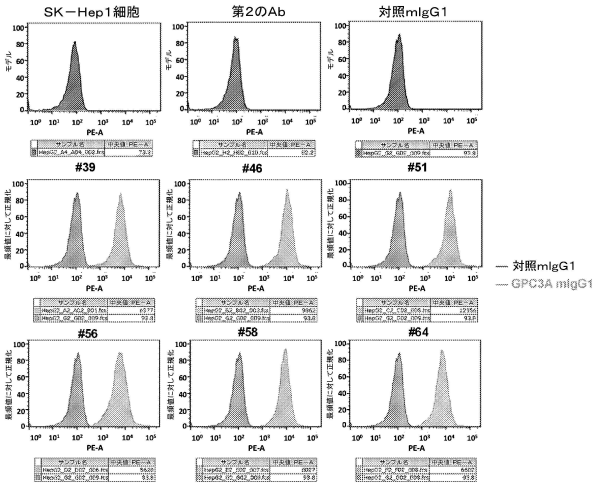
【図７Ｂ】


GPC3A L2K二重特異性抗体による標的細胞の殺傷
HepG2
HepG2 GPC3 ko#2
SK-Hep1
SK-Hep1-GPC3
特異的溶解(%)
120
100
80
60
40
20
0
54 60 63 68 76 78 80 81 87 92 93 113 115 GC33

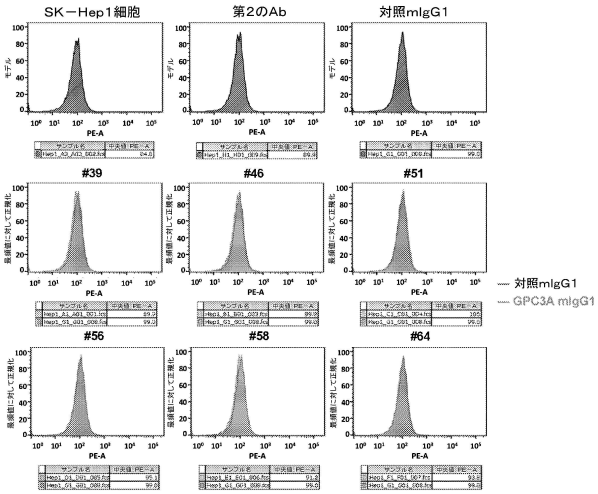
【図８】


抗GPC3抗体を使用したGPC3ノックアウト細胞株のFACS分析
抗hGPC3 Abに対するGPC3－KOスクリーニング
抗hGPC3 Ab MFI／第2のPE MFI
12
10
8
6
4
2
0
HepG2wt #1 #2 #3 #4 #5 #6 #7 #8 #9 #10 #11 #12 #13

【図９Ａ】

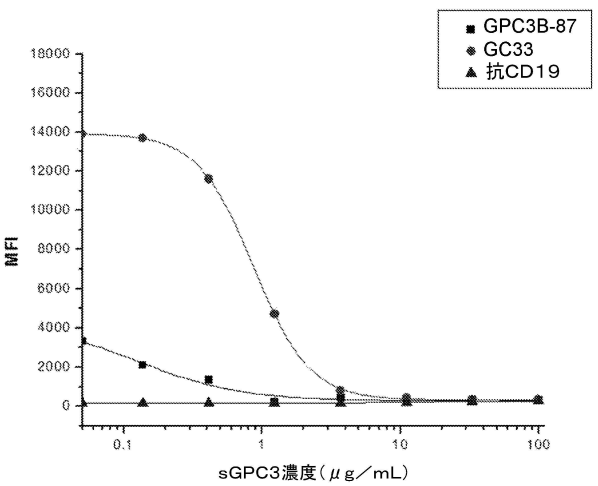


【図９Ｂ】



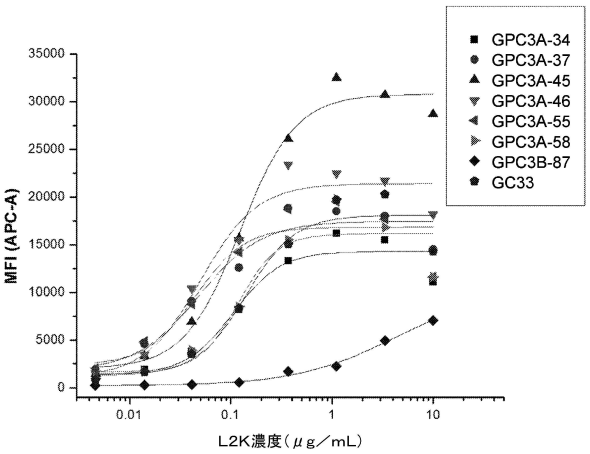
【図１０】

sGPC3によるHepG2細胞へのL2K結合についての競合

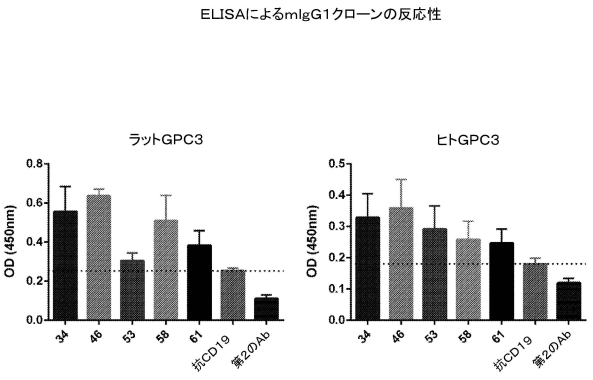


【図１１】

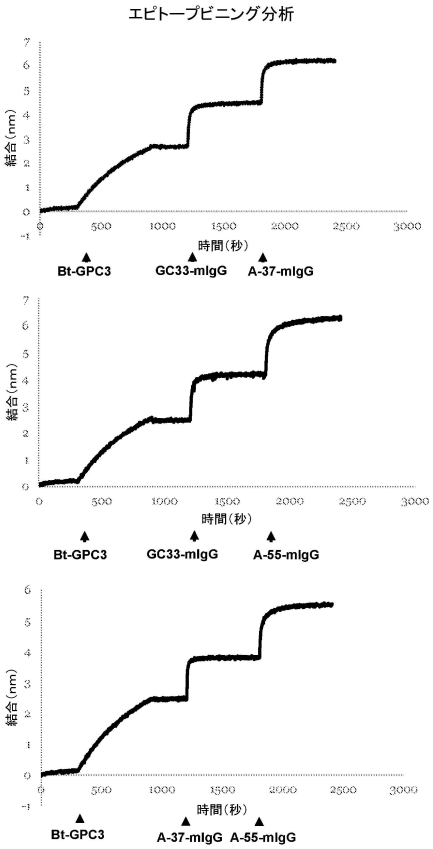
L2KクローンによるHepG2細胞に対する結合親和性



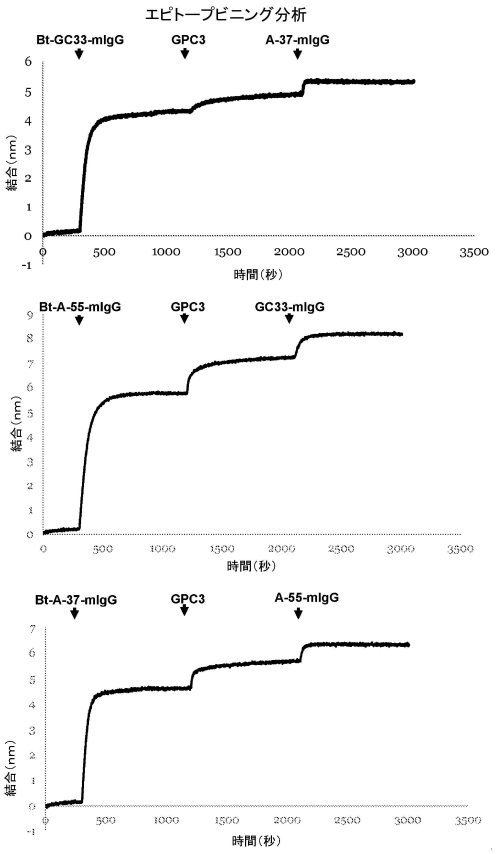
【図１２】



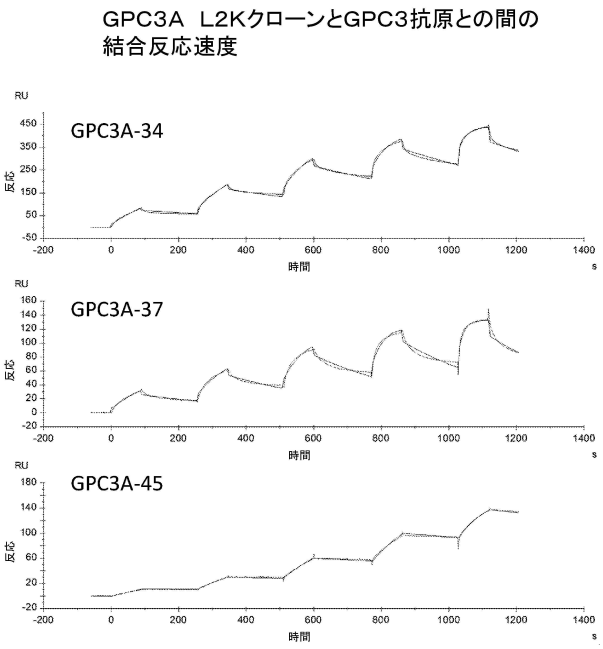
【図１３】



【図１４】

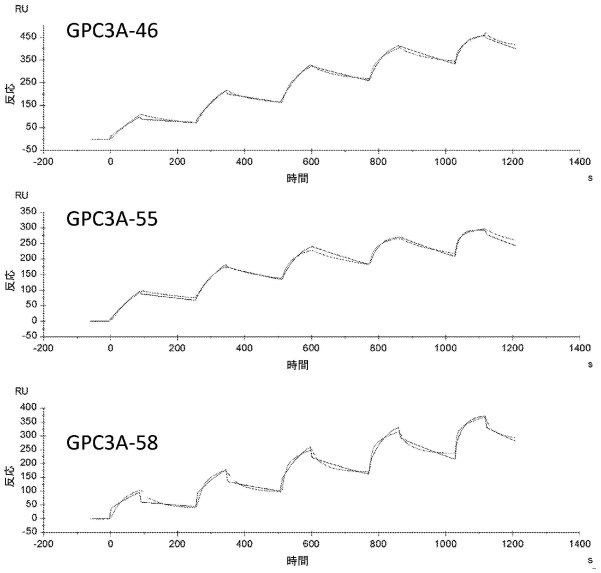


【図１５Ａ】



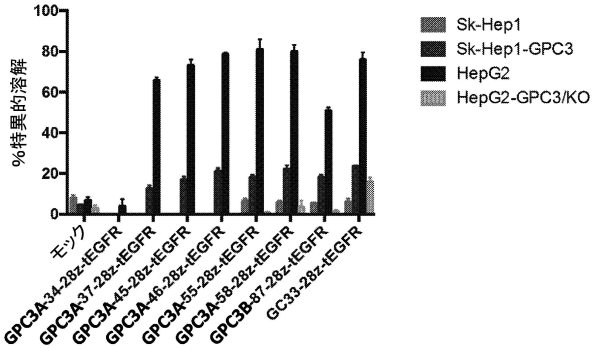
【図１５Ｂ】

GPC3A L2KクローンとGPC3抗原との間の結合反応速度

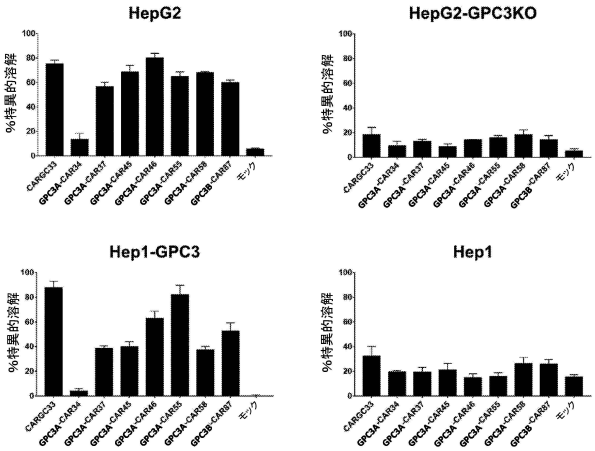


【図１６】

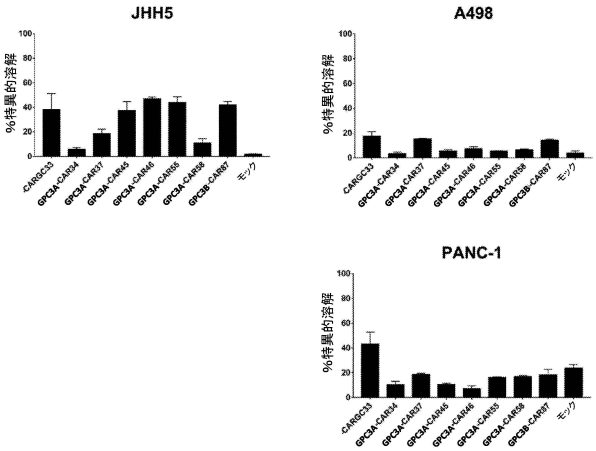
GPC3 CAR－T細胞殺傷のLDHアッセイ



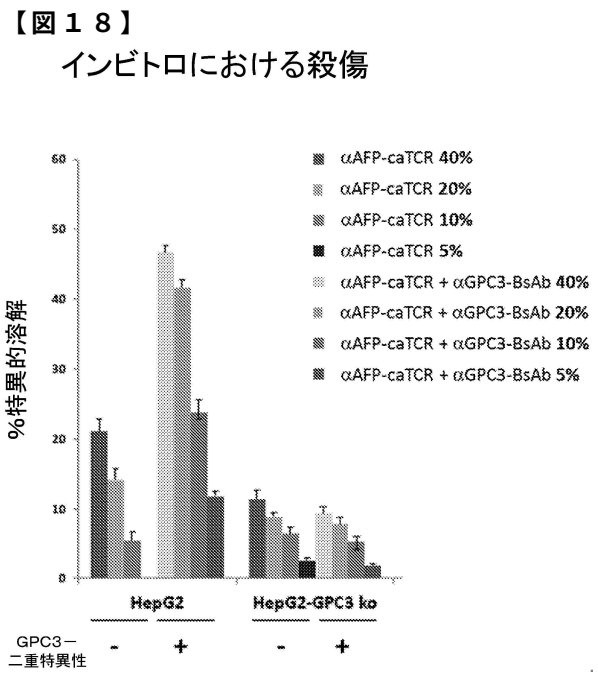
【図１７Ａ】



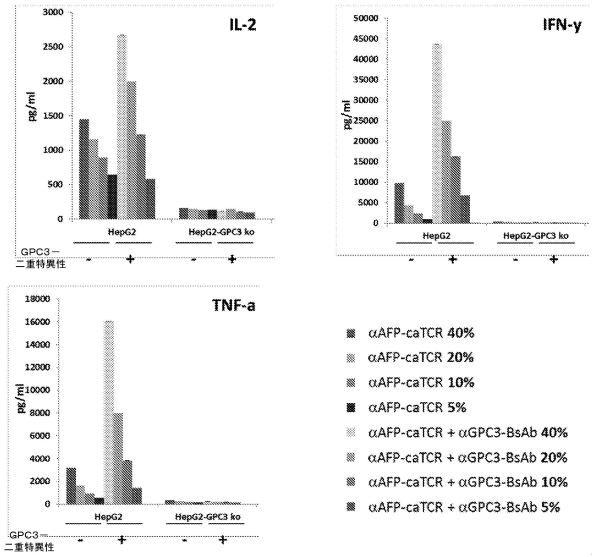
【図１７Ｂ】



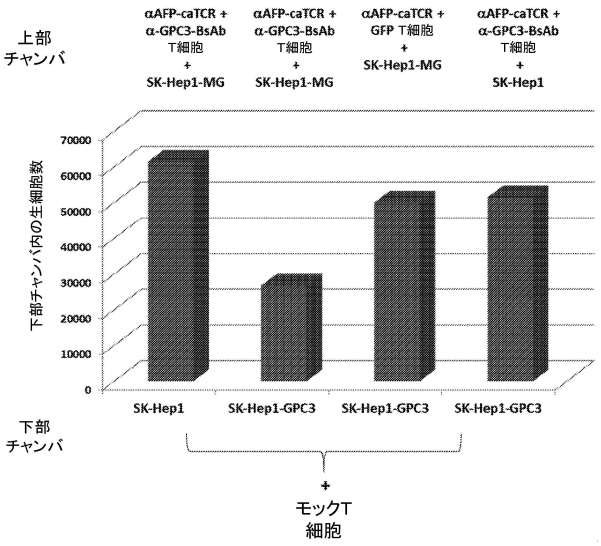
【図１８】



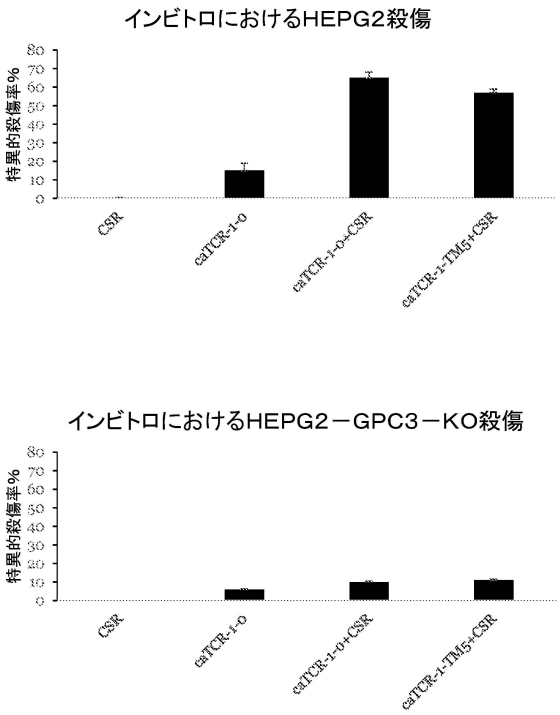
【図１９】



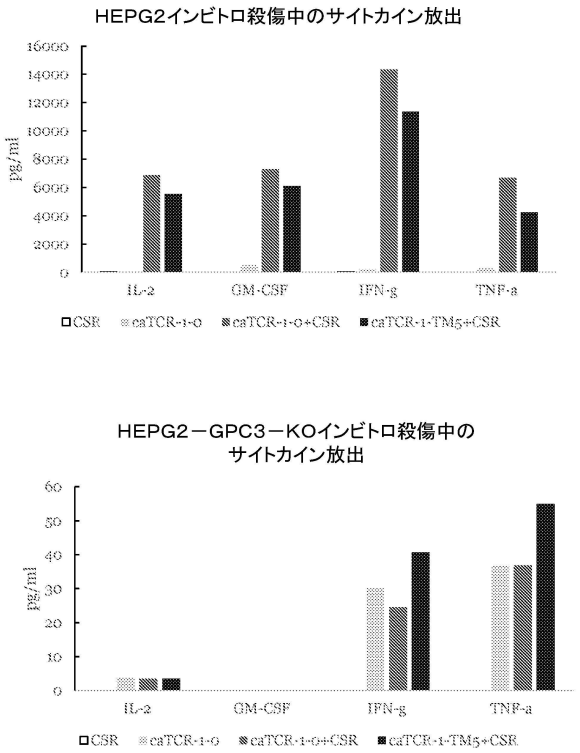
【図２０】



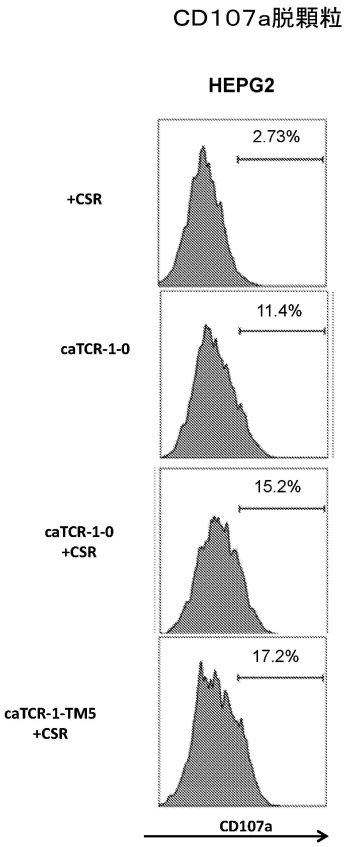
【図２１】



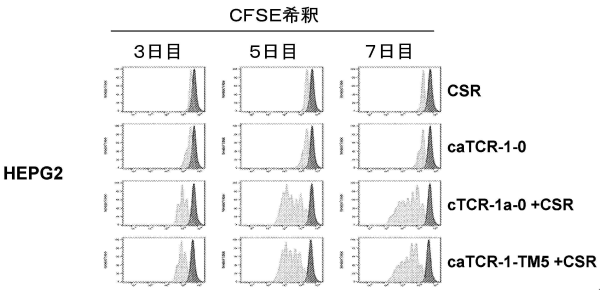
【図２２】



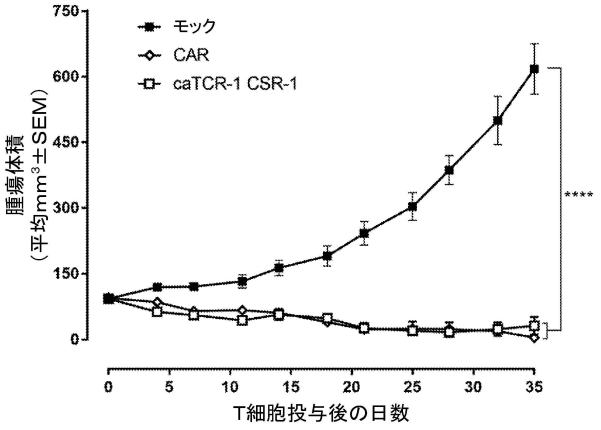
【図２３】



【図２４】



【図２５】



【配列表】
0007295030000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		
C12P 21/08 (2006.01)		C12P	21/08	
C12N 15/62 (2006.01)		C12N	15/62	Z
A61K 39/395 (2006.01)		A61K	39/395	Y
A61K 51/10 (2006.01)		A61K	51/10	100
A61K 47/68 (2017.01)		A61K	47/68	
A61K 31/7088 (2006.01)		A61K	31/7088	
A61K 35/12 (2015.01)		A61K	35/12	
A61P 35/00 (2006.01)		A61P	35/00	
C07K 14/725 (2006.01)		C07K	14/725	
C07K 19/00 (2006.01)		C07K	19/00	
C12N 15/12 (2006.01)		C12N	15/12	
A61K 35/76 (2015.01)		A61K	35/76	

ウェイ ７６５２
(72)発明者 モラレス， ハビエル
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９５１２５， サン ノゼ， バード アベニュー １７７８
(72)発明者 中野 陽子
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４５３０， エル セリート， サン パブロ アベニュー １０９４４， アパートメント ７２３
(72)発明者 リュー， ホン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４８０３， エル ソブランテ， ウッドビュー ドライブ ５５７３
(72)発明者 シャン， ジンイー
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４５９７， ウォルナット クリーク， サン ルイス ロード ２１７０
(72)発明者 アッカー， ティモシー
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４１２２， サンフランシスコ， ファンストン アベニュー １４３４

審査官 野村 英雄

(56)参考文献 特表２０１５－５２６３８７（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２００６／００６６９３（WO，Ａ１）
国際公開第２０１５／１４２６７５（WO，Ａ２）
国際公開第２０１５／１７３１１２（WO，Ａ１）
国際公開第２０１２／１４５４６９（WO，Ａ１）
国際公開第２０１６／０４９４５９（WO，Ａ１）

(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ１２Ｎ １５／００－１５／９０
Ｃ１２Ｑ １／００－ ３／００
Ｃ０７Ｋ １／００－１９／００
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＰｕｂＭｅｄ