(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-516569
(P2025-516569A)
(43)公表日　令和7年5月30日(2025.5.30)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C07K 16/30 (2006.01)		C07K	16/30	ZNA	4C076
C07K 1/107(2006.01)		C07K	1/107		4C084
C07K 19/00 (2006.01)		C07K	19/00		4C085
C07K 5/062(2006.01)		C07K	5/062		4C086
A61K 39/395(2006.01)		A61K	39/395	L	4H045

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全189頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-566281(P2024-566281)
(86)(22)出願日　令和5年5月10日(2023.5.10)
(85)翻訳文提出日　令和6年12月27日(2024.12.27)
(86)国際出願番号　PCT/US2023/066811
(87)国際公開番号　WO2023/220620
(87)国際公開日　令和5年11月16日(2023.11.16)
(31)優先権主張番号　63/341,957
(32)優先日　令和4年5月13日(2022.5.13)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV
最終頁に続く

(71)出願人　506024489
エグゼリクシス， インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４５０２， アラメダ，ハーバー ベイ パークウェイ １８５１
(74)代理人　100078282
弁理士　山本 秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下 夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田 貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川 大輔
(74)代理人　230113332
弁護士　山本 健策
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　５Ｔ４抗体薬物複合体及びその使用

(57)【要約】
本開示は、５Ｔ４抗体薬物複合体及びその使用を提供する。本開示は、５Ｔ４に結合する抗体を含むＡＤＣ（「５Ｔ４－ＡＤＣ」）を提供する。かかる５Ｔ４－ＡＤＣは、一部の実施形態では、本明細書に記載の重鎖可変領域（ＶＨ）及び軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む抗体と同じヒト５Ｔ４のエピトープに結合する。本開示はまた、５Ｔ４に結合する抗体またはその断片と、それに（直接的にまたは間接的に）コンジュゲートされた薬物とを含む５Ｔ４－ＡＤＣを含む医薬組成物を提供する。

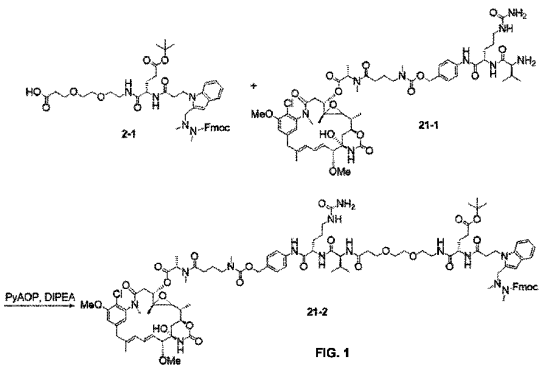
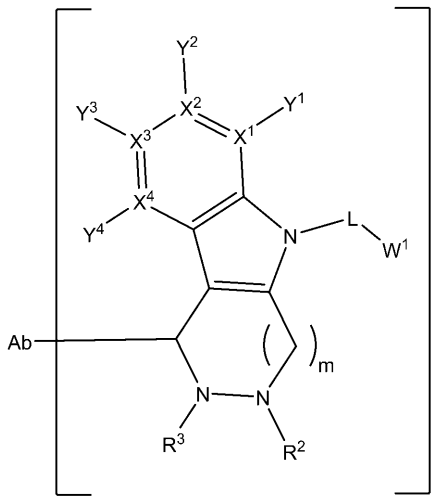


FIG. 1

【特許請求の範囲】
【請求項１】
式（ＩＶ）の抗体薬物複合体（ＡＤＣ）であって、
ａ．５Ｔ４に結合する抗体、及び
ｂ．リンカーを介して１つ以上のピリダジン－ピロロカップリング部分にコンジュゲートされた１つ以上の薬物
を含み、
【化２０１】



r （ＩＶ）

式中、
Ａｂは、５Ｔ４に結合する前記抗体を表し、
ｒは、１～１０の整数であり、
ｍは０または１であり、
R^2及びR^3は、各々独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリル、からなる群から選択され、またはR^2及びR^3は、環状に連結されて、５員もしくは６員ヘテロシクリルを形成し、
X^1、X^2、X^3及びX^4は各々独立して、Ｃ、Ｎ、Ｏ及びＳからなる群から選択され、
Y^1、Y^2、Y^3及びY^4は、各々独立して、水素、ハロゲン、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、及び置換ヘテロシクリルからなる群から選択され、またはY^1及びY^2、Y^2及びY^3、またはY^3及びY^4は、環状に連結され、
W^1が前記薬物であり、
Ｌが、前記リンカーを表し、－（T^1V^1）$_a$－（T^2V^2）$_b$－（T^3V^3）$_c$－（T^4V^4）$_d$－（T^5V^5）$_e$－であり、
ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅが、各々独立して、０または１であり、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅの合計が、１～５であり、

T^1、T^2、T^3、T^4、及びT^5は、各々独立して、C_1～C_{12}アルキル、置換C_1～C_{12}アルキル、$(EDA)_w$、$(PEG)_n$、$(AA)_p$、－$(CR^{13}OH)_h$－、ピペリジン－４－アミン（Ｐ４Ａ－R^{12}）、メタ－アミノベンジルカルバメート（ＭＡＢＣ）基、メタ－アミノベンジルオキシ（ＭＡＢＯ）基、パラ－アミノベンジルオキシ（ＰＡＢＯ）基、パラ－アミノベンジルカルバメート（ＰＡＢＣ）基、パラ－アミノベンジル（ＰＡＢ）基、アセタール、ジスルフィド、ヒドラジン、$(AA)_p$－ＭＡＢＣ－$(AA)_p$、$(AA)_p$－ＭＡＢＯ－$(AA)_p$、$(AA)_p$－ＰＡＢＯ－$(AA)_p$、または$(AA)_p$－ＰＡＢＣ－$(AA)_p$を含み、
ｗは、１～２０の整数であり、
ｎは、１～３０の整数であり、
各ｐは、独立して、ゼロであるか、または１～２０の整数であり、
ｈは、１～１２の整数であり、
各R^{12}は独立して、水素、アルキル、置換アルキル、ポリエチレングリコール部分、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、
各R^{13}は独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、または置換アリールであり、
V^1、V^2、V^3、V^4、及びV^5は、各々独立して、共有結合、－Ｃ（＝Ｏ）－、－NR^{11}－、－Ｃ（＝Ｏ）NR^{11}－、－NR^{11}Ｃ（＝Ｏ）－、－Ｃ（＝Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（＝Ｏ）－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ（＝Ｏ）－、－SO_2－、－SO_2NR^{11}－、－$NR^{11}SO_2$－、及び－Ｐ（＝Ｏ）ＯＨ－からなる群から選択され、式中、R^{11}は、水素、アルキル、置換アルキル、ＰＥＧ、アリール、及び置換アリールからなる群から選択される、前記抗体薬物複合体（ＡＤＣ）。

【請求項２】
W^1が、マイタンシノイド及びアウリスタチンからなる群から選択される、請求項１に記載のＡＤＣ。

【請求項３】
前記アウリスタチンがＭＭＡＥである、請求項１または２に記載のＡＤＣ。

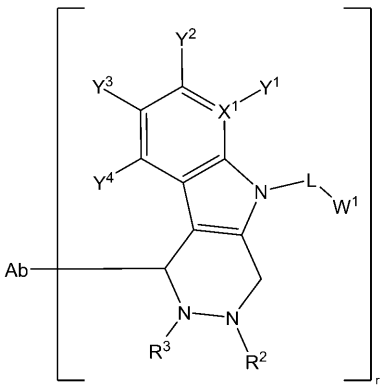
【請求項４】
R^2及びR^3が各々アルキルである、請求項１～３のいずれか１項に記載のＡＤＣ。

【請求項５】
R^2及びR^3が各々メチルである、請求項１～４のいずれか１項に記載のＡＤＣ。

【請求項６】
X^1、X^2、X^3、及びX^4の各々が、独立して、Ｃ及びＮから選択される、請求項１～５のいずれか１項に記載のＡＤＣ。

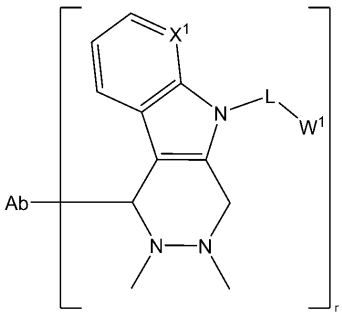
【請求項７】
前記ＡＤＣが、式（Ｖ）によって表される、請求項１～６のいずれか１項に記載のＡＤＣ：

【化２０２】



（Ｖ）。

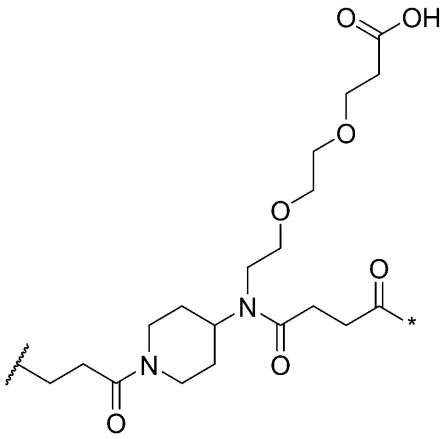
【請求項８】
前記ＡＤＣが、式（ＶＩ）によって表され：
【化２０３】



（ＶＩ）、

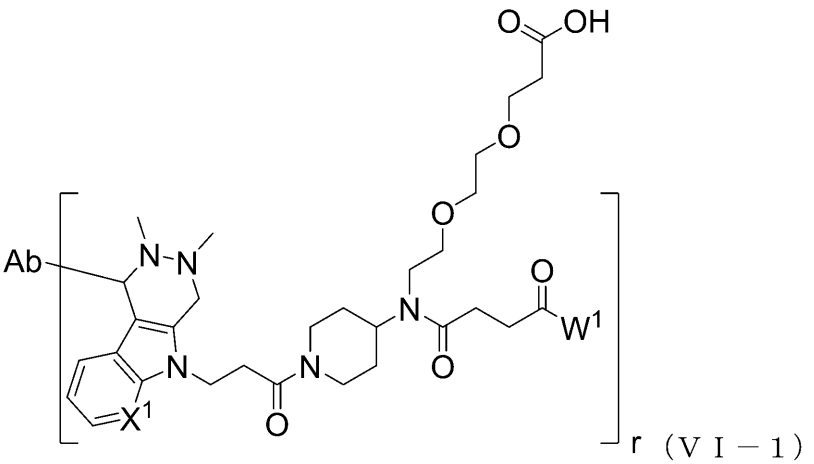
式中、X^1はＣまたはＮである、請求項１～７のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項９】
T^1、T^2、T^3、T^4、及びT^5が、各々独立して、C_1～C_6アルキル、Ｐ４Ａ－R^{12}、（ＡＡ）$_p$、（ＡＡ）$_p$－ＰＡＢＣ、及び（ＰＥＧ）$_n$からなる群から選択され、式中、ｐは、１～５の整数であり、R^{12}は、ポリエチレングリコールまたはカルボン酸変性ポリエチレングリコールである、請求項１～８のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項１０】
T^1は、C_1～C_6アルキルであり、
T^2、T^3、T^4、及びT^5は、各々独立して、（ＰＥＧ）$_n$、C_1～C_6アルキル、（ＡＡ）$_p$、Ｐ４Ａ－R^{12}、（ＡＡ）$_p$－（ＰＡＢＯ－R^{16}）－（ＡＡ）$_p$、（ＡＡ）$_p$－（ＰＡＢＣ－R^{16}）－（ＡＡ）$_p$、（ＡＡ）$_p$－（ＰＡＢＯ－R^{16}）、及び（ＡＡ）$_p$－（ＰＡＢＣ－R^{16}）から選択され、式中、R^{12}は、カルボン酸変性ポリエチレングリコールであり、R^{16}が、水素であり、
V^1、V^2、V^3、V^4及びV^5は、各々独立して、－ＣＯ－及び－ＮＲ^{11}－から選択され、R^{11}は、水素及びアルキルから選択される、請求項１～９のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項１１】
Ｌが、
－（C_1～C_6アルキル）－（V^1）－（Ｐ４Ａ－R^{12}）－（V^2）－（C_1～C_6アルキル）－（V^3）－であり、
式中、
V^1、V^2及びV^3は各々、－ＣＯ－及び－ＮＲ^{11}－からなる群から独立して選択され、

Ｒ１１は各々、水素及びＣ１～Ｃ６アルキルからなる群から独立して選択され、及び
Ｒ１２は、カルボン酸変性ポリエチレングリコール部分である、請求項１～１０のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項１２】
Ｌが、
【化２０４】



であり、式中、
【化２０５】

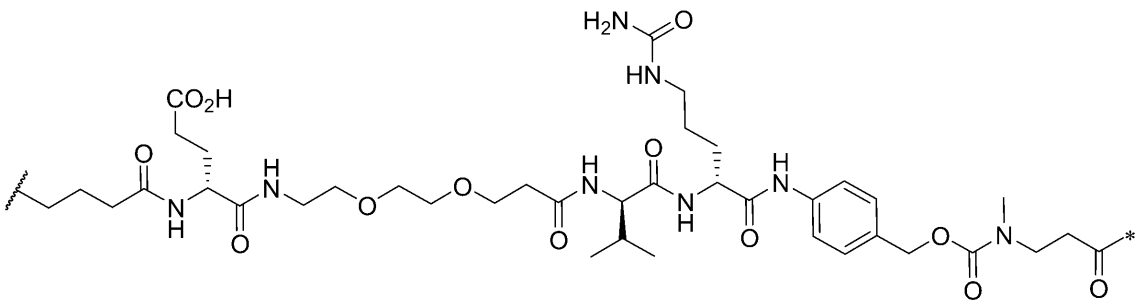
が、前記ピリダジン－ピロロカップリング部分の窒素への結合を表し、
＊が、Ｗ１への結合を表す、請求項１～１１のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項１３】
式（ＶＩ－１）の抗体薬物複合体（ＡＤＣ）であって、
ａ．５Ｔ４に結合する抗体、及び
ｂ．リンカーを介して１つ以上のピリダジン－ピロロカップリング部分にコンジュゲートされた１つ以上の薬物
を含み、
【化２０６】



（ＶＩ－１）

式中、
Ａｂは、５Ｔ４に結合する前記抗体を表し、

ｒが、１～１０の整数であり、
Ｘ^{1}はＣまたはＮであり、及び
Ｗ^{1}は前記薬物である、前記抗体薬物複合体（ＡＤＣ）。
【請求項１４】
Ｗ^{1}が、マイタンシノイド及びアウリスタチンからなる群から選択される、請求項１３に記載のＡＤＣ。
【請求項１５】
前記アウリスタチンがＭＭＡＥである、請求項１４に記載のＡＤＣ。
【請求項１６】
Ｘ^{1}が、Ｃであり、Ｗ^{1}が、脱環化マイタンシンである、請求項１３または１４に記載のＡＤＣ。
【請求項１７】
Ｘ^{1}が、Ｎであり、Ｗ^{1}が、ＭＭＡＥである、請求項１４～１５のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項１８】
Ｌが、
（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル）－Ｖ^{1}－（ＡＡ）－Ｖ^{2}－（ＰＥＧ）$_{n}$－Ｖ^{3}－（（ＡＡ）$_{p}$－（ＰＡＢＣ－Ｒ^{16}））－Ｖ^{4}－（Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキル）－Ｖ^{5}であり、
式中、
Ｒ^{16}は、水素であり、
ｎ及びｐは、各々独立して、１～２０の整数であり、
Ｖ^{1}、Ｖ^{2}、Ｖ^{3}、Ｖ^{4}、及びＶ^{5}は、各々独立して、－ＣＯ－及び－ＮＲ^{11}－からなる群から選択され、
各々のＲ^{11}はそれぞれ独立して、水素及びＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルからなる群から選択される、請求項１３～１７のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項１９】
Ｌが、
【化２０７】

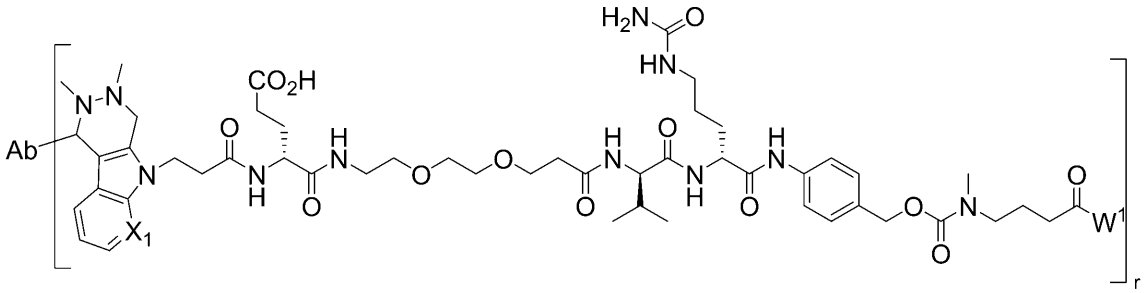


であり、式中、
【化２０８】

〰

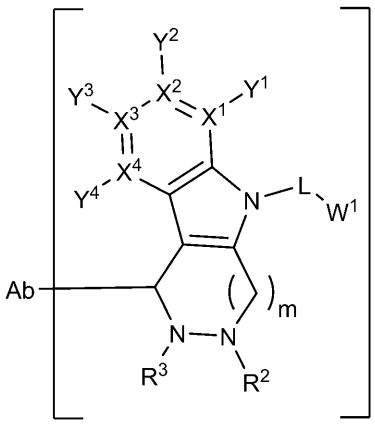
が、前記ピリダジン－ピロロカップリング部分の窒素への結合を表し、
＊が、Ｗ^{1}への結合を表す、請求項１３～１７のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項２０】
式（ＶＩ－２）によって表される、１つ以上のピリダジン－ピロロカップリング部分を介して１つ以上の薬物にコンジュゲートされた５Ｔ４に結合する抗体を含む抗体薬物複合体（ＡＤＣ）であって、

【化２０９】



（ＶＩ－２）

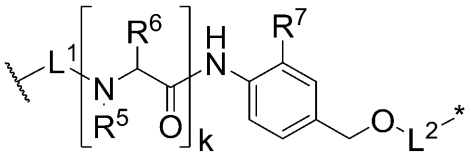
式中、
Ａｂは、５Ｔ４に結合する前記抗体を表し、
ｒは、１～１０の整数であり、
Ｘ^{1}はＣまたはＮであり、及び
Ｗ^{1}が前記薬物である、前記抗体薬物複合体（ＡＤＣ）。
【請求項２１】
Ｗ^{1}が、マイタンシノイド及びアウリスタチンから選択される、請求項２０に記載のＡＤＣ。
【請求項２２】
前記アウリスタチンがＭＭＡＥである、請求項２１に記載のＡＤＣ。
【請求項２３】
Ｘ^{1}が、Ｃであり、Ｗ^{1}が、脱環化マイタンシンである、請求項２０または２１に記載のＡＤＣ。
【請求項２４】
式（ＩＶ）の抗体薬物複合体（ＡＤＣ）であって、
ａ．５Ｔ４に結合する抗体、及び
ｂ．リンカーを介して１つ以上のピリダジン－ピロロカップリング部分にコンジュゲートされた１つ以上の薬物
を含み、
【化２１０】



（ＩＶ）

式中、
Ａｂは、５Ｔ４に結合する前記抗体を表し、
Ｗ^{1}が前記薬物であり、
ｒは、１～１０の整数であり、

mは０または１であり、
R^2及びR^3は、各々独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルからなる群から選択され、またはR^2及びR^3は、環状に連結されて、５員もしくは６員ヘテロシクリルを形成し、
X^1、X^2、X^3、及びX^4は各々独立して、Ｃ、Ｎ、Ｏ及びＳからなる群から選択され、
Y^1、Y^2、Y^3及びY^4は、各々独立して、水素、ハロゲン、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、及び置換ヘテロシクリルからなる群から選択され、またはY^1及びY^2、Y^2及びY^3、またはY^3及びY^4は、環状に連結され、
Ｌが、
【化２１１】



であり、
式中、
【化２１２】

〰

が、前記ピリダジン－ピロロカップリング部分の窒素への結合を表し、
＊が、W^1への結合を表し、
各R^5が独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、
各R^6が独立して、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、及び置換ヘテロシクリルから選択され、
R^7が、開裂可能な部分であり、
ｋが、１～１０の整数であり、
L^1が、$-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$を含み、
L^2が、$-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-$を含み、

ａ、ｂ、ｃ、ｄ、ｅ、ｆ、ｇ、及びｈが、各々独立して、１または０であり、
T^1、T^2、T^3、T^4、T^5、T^6、T^7、及びT^8が、各々独立して、共有結合、C_1～C_{12}アルキル、置換C_1～C_{12}アルキル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、及び置換ヘテロシクリル、$(EDA)_w$、$(PEG)_n$、$(AA)_p$、$-(CR^{13}OH)_m-$、Ｐ４Ａ－R^{12}、アセタール、ヒドラジン、ジスルフィド、及びエステルからなる群から選択され、
各ｗが、１～２０の整数であり、
各ｎが、１～３０の整数であり、
各ｐが、１～２０の整数であり、
各ｍは、１～１２の整数であり、
V^1、V^2、V^3、V^4、V^5、V^6、V^7、及びV^8は、各々独立して、共有結合、－ＣＯ－、$-NR^{15}-$、$-NR^{15}(CH_2)_q-$、$-NR^{15}(C_6H_4)-$、$-CONR^{15}-$、$-NR^{15}CO-$、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ（Ｏ）－、$-SO_2-$、$-SO_2NR^{15}-$、$-NR^{15}SO_2-$、及び－Ｐ（Ｏ）ＯＨ－からなる群から選択され、
各ｑが、１～６の整数であり、
R^{12}は独立して、水素、アルキル、置換アルキル、ポリエチレングリコール部分、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、及び置換ヘテロシクリルからなる群から選択され、
各R^{13}は、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、及び置換アリールからなる群より選択され、ならびに
各R^{15}は、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、及び置換ヘテロシクリルからなる群から選択される、前記抗体薬物複合体（ＡＤＣ）。

【請求項２５】
W^1が、マイタンシノイド及びアウリスタチンから選択される、請求項２４に記載のＡＤＣ。

【請求項２６】
前記アウリスタチンがＭＭＡＥである、請求項２５に記載のＡＤＣ。

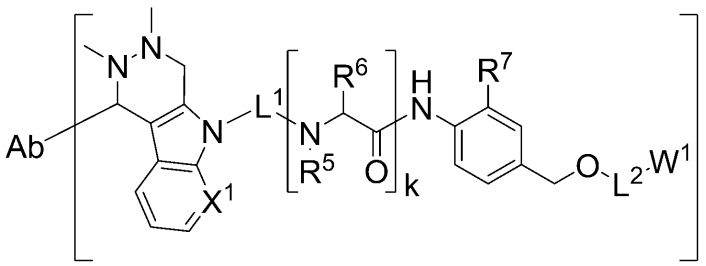
【請求項２７】
R^2及びR^3が各々アルキルである、請求項２４～２６のいずれか１項に記載のＡＤＣ。

【請求項２８】
R^2及びR^3が各々メチルである、請求項２７に記載のＡＤＣ。

【請求項２９】
X^1、X^2、X^3、及びX^4の各々が、独立して、Ｃ及びＮから選択される、請求項２４～２８のいずれか１項に記載のＡＤＣ。

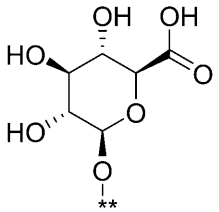
【請求項３０】
式（ＶＩ－３）：によって表される、請求項２４～２９のいずれか１項に記載のＡＤＣ：

【化２１３】

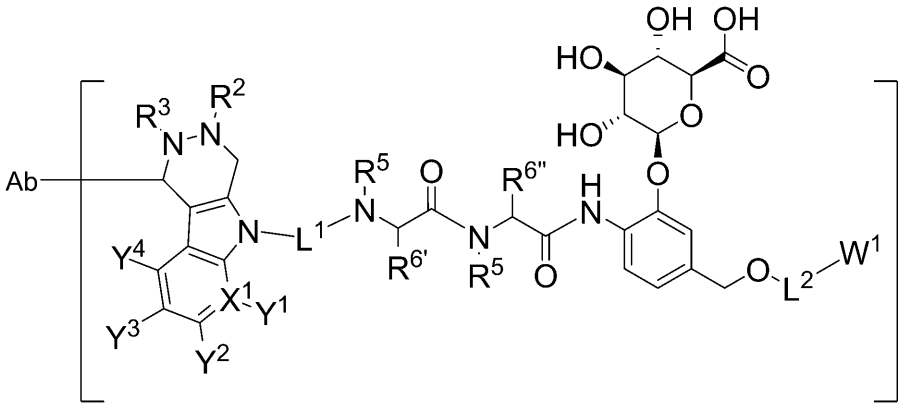


ｒ（ＶＩ－３）。

【請求項３１】
Ｒ^{7}が、
【化２１４】



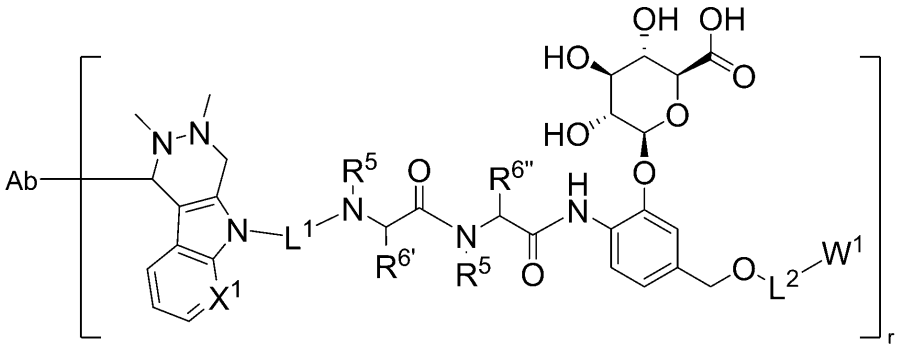
であり、式中、＊＊が、式（ＶＩ－３）中のフェニル基への結合点を表す、請求項３０に記載のＡＤＣ。
【請求項３２】
式（Ｖ－５）によって表され：
【化２１５】



ｒ（Ｖ－５）、

式中、Ｒ$^{6'}$及びＲ$^{6''}$の各々は独立して、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルである、請求項２４～３１のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項３３】
式（ＶＩ－５）によって表され：

【化２１６】



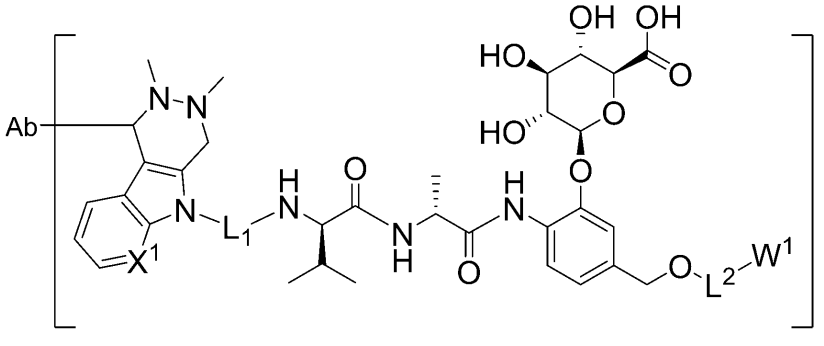
（ＶＩ－５）、

式中、Ｘ^{1}はＣまたはＮであり、Ｒ^{6}’及びＲ^{6}”が各々独立して、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルである、請求項２４～３２のいずれか１項に記載のＡＤＣ。

【請求項３４】

式（ＶＩ－６）によって表される、請求項２４～３３のいずれか１項に記載のＡＤＣ：

【化２１７】



（ＶＩ－６）。

【請求項３５】

Ｌ^{1}が、－（Ｔ^{1}－Ｖ^{1}）$_{a}$－（Ｔ２－Ｖ^{2}）$_{b}$－（Ｔ^{3}－Ｖ^{3}）$_{c}$－（Ｔ^{4}－Ｖ^{4}）$_{d}$－を含み、

ａ、ｂ、及びｃが各々１であり、

ｄが０であり、したがって、Ｔ^{4}及びＶ^{4}が存在せず、

Ｔ^{1}、Ｔ^{2}及びＴ^{3}が、それぞれ独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{12}$アルキル、（ＰＥＧ）$_{n}$、及び（ＡＡ）$_{p}$からなる群から選択され、

ｎが、１～１０の整数であり、

ｐが、１～１０の整数であり、

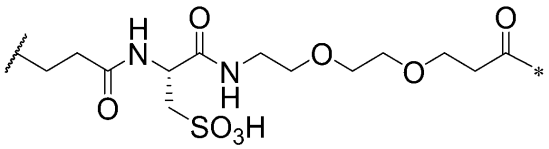
Ｖ^{1}、Ｖ^{2}、及びＶ^{3}は各々、－Ｃ（＝Ｏ）－及び－ＮＲ^{11}－からなる群から独立して選択され、

Ｒ^{11}が、水素、アルキル、置換アルキル、ポリエチレングリコール部分、アリール、または置換アリールから選択される、請求項２４～３４のいずれか１項に記載のＡＤＣ。

【請求項３６】

Ｌ^{1}が、

【化２１８】



であり、式中、

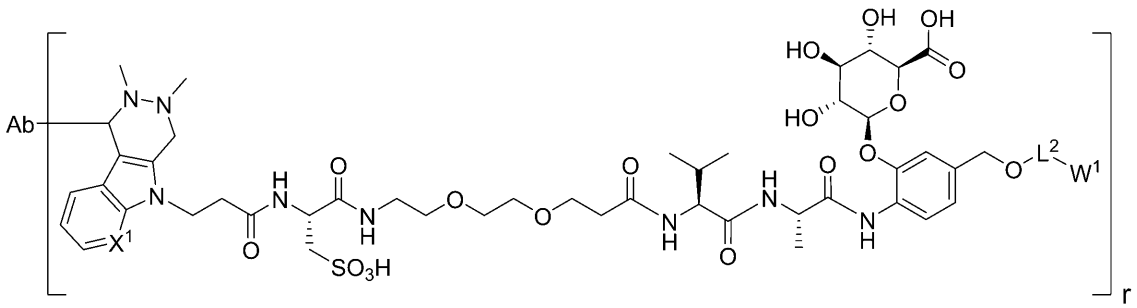
【化２１９】

は、ピリダジン－ピロロカップリング部分の窒素への結合点を表し、＊は、リンカーの残りの部分への任意の方向での結合点を表す、請求項２４～３５のいずれか１項に記載のＡＤＣ。

【請求項３７】

式（ＶＩ－７）によって表され、

【化２２０】



（ＶＩ－７）

式中、X^1はＣまたはＮである、請求項２４～３６のいずれか１項に記載のＡＤＣ。

【請求項３８】

L^2が、カルボニル基である、請求項２４～３７のいずれかに記載のＡＤＣ。

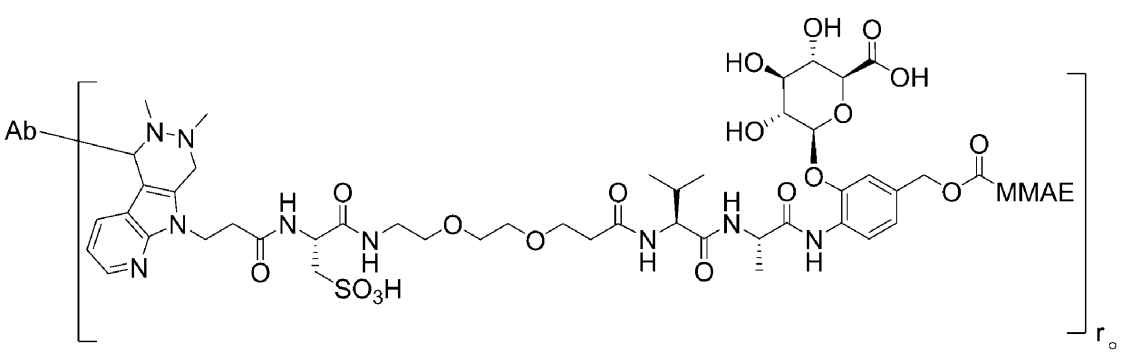
【請求項３９】

X^1が、Ｎであり、W^1が、ＭＭＡＥである、請求項２４～３８のいずれかに記載のＡＤＣ。

【請求項４０】

式（ＶＩｂ－８２）によって表される、請求項２４～３９のいずれかに記載のＡＤＣ：

【化２２１】



。

【請求項４１】
前記抗体が、
（ｉ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＶＨに記載のＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３、ならびに配列番号２６のアミノ酸配列を含むＶＬに記載のＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３、もしくは
（ｉｉ）配列番号４４のアミノ酸配列を含むＶＨに記載のＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３、ならびに配列番号４５のアミノ酸配列を含むＶＬに記載のＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３、もしくは
（ｉｉｉ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＶＨに記載のＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３、ならびに配列番号６３のアミノ酸配列を含むＶＬに記載のＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３、を含む、請求項１～４０のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項４２】
前記抗体が、
（ａ）
（１）配列番号１、７、１２、１３、及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、
（２）配列番号２、８、１４、１９、及び２４からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び
（３）配列番号３、９、１５、及び２０からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、
及び
（ｂ）
（１）配列番号４、１０、１６、及び２１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、
（２）配列番号５、１１、及び２２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び
（３）配列番号６、１７、及び２３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、を含む、請求項１～４１のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項４３】
前記抗体が、
（ｉ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号２のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または
（ｉｉ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または
（ｉｉｉ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号２のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または
（ｉｖ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号１４のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号１５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号１７のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ

３、を含むＶＬ領域、または
（ｖ）配列番号１８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号１９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号２０のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号２１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号２３のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または
（ｖｉ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号２４のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、を含む、請求項１～４２のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項４４】
前記抗体が、
（ａ）（１）配列番号２７、３１、３４、３５、及び３９からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、
（２）配列番号２８、３２、３６、４０、及び４３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び
（３）配列番号２９、３３、３７、及び４１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び
（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、
（２）配列番号５、１１、及び２２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び
（３）配列番号３０、３８、及び４２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、を含む、請求項１～４１のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項４５】
前記抗体が、
（ｉ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号２８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号２９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号３０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または
（ｉｉ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号３２のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号３３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号３０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または
（ｉｉｉ）配列番号３４のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号２８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号２９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号３０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または
（ｉｖ）配列番号３５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号３６のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号３７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号３８のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または
（ｖ）配列番号３９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号４０のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号４１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号２１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号２２のアミ

ノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号４２のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または
（ｖｉ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号４３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号２９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号３０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、を含む、請求項１～４１及び４４のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項４６】
前記抗体が、
（ａ）（１）配列番号４６、５０、５３、１３、及び５７からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、
（２）配列番号４７、５１、５４、５８、及び６１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び
（３）配列番号４８、５２、５５、及び５９からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び
（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、
（２）配列番号５、１１、及び２２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、
（３）配列番号４９、５６、及び６０からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、を含む、請求項１～４１のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項４７】
前記抗体が、
（ｉ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号４７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号４８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号４９のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または
（ｉｉ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号５１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号５２のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号４９のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または
（ｉｉｉ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号４７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号４８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号４９のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または
（ｉｖ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号５４のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号５５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号５６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または
（ｖ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号５８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号５９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号２１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号６０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または
（ｖｉ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号６１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号４８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含

むＶＨ領域、及び配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号４９のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、を含む、請求項１～４１、及び４６のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項４８】
前記抗体が、さらに、配列番号２５、２６、４４、４５、６２、及び６３のいずれか１つに記載されるフレームワーク１（ＦＲ１）、フレームワーク２（ＦＲ２）、フレームワーク３（ＦＲ３）及び／またはフレームワーク４（ＦＲ４）配列を含む、請求項１～４６のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項４９】
前記抗体が、ヒトフレームワーク配列をさらに含む、請求項１～４８のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項５０】
前記抗体が、
（ｉ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号２６のアミノ酸配列を含むＶＬ、または
（ｉｉ）配列番号４４のアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号４５のアミノ酸配列を含むＶＬ、または
（ｉｉｉ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号６３のアミノ酸配列を含むＶＬ、を含む、請求項１～４９のいずれか１項に記載のＡＤＣ。
【請求項５１】
請求項１～５０のいずれか１項に記載のＡＤＣと、薬学的に許容される賦形剤と、を含む、医薬組成物。
【請求項５２】
前記抗体薬物複合体の薬物抗体比が、約１～約４である、請求項５１に記載の医薬組成物。
【請求項５３】
前記薬物抗体比が約２である、請求項５２に記載の医薬組成物。
【請求項５４】
対象におけるがんまたは腫瘍を治療するための方法であって、前記対象に、請求項１～４９のいずれか１項に記載の抗体薬物複合体、または請求項５１～５３のいずれか１項に記載の医薬組成物を投与することを含む、前記方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０２２年５月１３日に出願された米国仮出願第６３／３４１，９５７号の利益を主張する。当該仮出願の開示は、参照により全体として本明細書に組み込まれる。
【０００２】
配列表
本出願は、その内容全体が参照により全体として本明細書に組み込まれる、本出願と共にＸＭＬファイルフォーマットで提出されたコンピュータで読み取り可能な配列表を含有する。本出願と共に提出されたＸＭＬファイルの配列リストは、「１４５２９－０９９－２２８＿ＳＥＱ＿ＬＩＳＴＩＮＧ．ｘｍｌ」という名称であり、２０２３年５月９日に作成され、サイズが１２５，３７６バイトである。
【０００３】
分野
本開示は、概して、５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）に結合する抗体薬物複合体（ＡＤＣ）及びそれらの使用方法に関する。
【背景技術】
【０００４】

背景

５Ｔ４は、８個のロイシンリッチリピートを含有するＮ－グリコシル化膜貫通型７２ｋＤａ糖タンパク質である。Ｗｎｔ活性化抑制因子１またはＷＡＩＦ１としても知られる５Ｔ４は、胎児栄養芽細胞（最初に発見された場所）または栄養芽細胞糖タンパク質（ＴＰＢＧ）として発現するため、がん胎児抗原と呼ばれることが多い。５Ｔ４は、結腸直腸腫瘍、卵巣腫瘍、及び胃腫瘍などの腫瘍内で見出される。その発現は、予後補助として使用されている。５Ｔ４は、正常組織内での発現は非常に限定されているが、悪性腫瘍内ではその発生全体を通して広く分布している。その限定的な発現は、５Ｔ４にがん治療の標的となる可能性を与えるように思われるが、５Ｔ４を標的とする抗体、ＡＤＣ、及びワクチンによる治療の成功はまだ達成されていない。

【０００５】

当該技術分野では、５Ｔ４を標的化して、５Ｔ４媒介性の疾患、障害、または病態、例えば、５Ｔ４を発現する腫瘍細胞を含むものを治療、予防、または緩和することができるＡＤＣが依然として必要とされている。

【発明の概要】

【０００６】

概要

本開示は、５Ｔ４に結合する抗体を含むＡＤＣ（「５Ｔ４－ＡＤＣ」）を提供する。かかる５Ｔ４－ＡＤＣは、一部の実施形態では、本明細書に記載の重鎖可変領域（ＶＨ）及び軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む抗体と同じヒト５Ｔ４のエピトープに結合する。

【０００７】

本開示はまた、５Ｔ４に結合する抗体またはその断片と、それに（直接的にまたは間接的に）コンジュゲートされた薬物とを含む５Ｔ４－ＡＤＣを含む医薬組成物を提供する。かかる医薬組成物は、いくつかの実施形態では、本明細書に記載のＶＨ及びＶＬを含む抗体と本質的に同じヒト５Ｔ４のエピトープに結合する抗体またはその断片を含む５Ｔ４－ＡＤＣを含む。

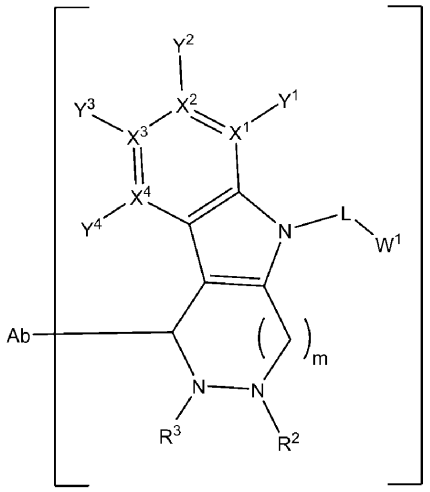
【０００８】

本開示はまた、５Ｔ４媒介性疾患、障害、または病態の１つまたは複数の症状を、５Ｔ４に結合する５Ｔ４－ＡＤＣで緩和する等、５Ｔ４媒介性疾患、障害、または病態を治療、予防、または緩和する方法をも提供する。

【０００９】

より具体的には、本開示は、（ａ）５Ｔ４に結合する抗体と、（ｂ）リンカーを介してピリダジン－ピロロカップリング部分にコンジュゲートされた薬物を含む１つ以上のピリダジン－ピロロカップリング部分とを含む、５Ｔ４－ＡＤＣを提供する。一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）で表され：

【化１】



r（ＩＶ）、

式中、
Ａｂは、５Ｔ４に結合する抗体を表し、
Ｒ２及びＲ３は、各々独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリルである、または置換ヘテロシクリルであり、またはＲ２及びＲ３は、環状に連結されて、５員もしくは６員ヘテロシクリルを形成し、
Ｌが、リンカーであり、－（Ｔ１Ｖ１）ａ－（Ｔ２Ｖ２）ｂ－（Ｔ３Ｖ３）ｃ－（Ｔ４Ｖ４）ｄ－（Ｔ５Ｖ５）ｅ－で表され、
Ｔ１、Ｔ２、Ｔ３、Ｔ４、及びＴ５は、各々独立して、Ｃ１～Ｃ１２アルキル、置換Ｃ１～Ｃ１２アルキル、（ＥＤＡ）ｗ、（ＰＥＧ）ｎ、（ＡＡ）ｐ、－（ＣＲ１３ＯＨ）ｈ－、ピペリジン－４－アミン（Ｐ４Ａ－Ｒ１２）、メタ－アミノベンジルカルバメート（ＭＡＢＣ）基、メタ－アミノベンジルオキシ（ＭＡＢＯ）基、パラ－アミノベンジルオキシ（ＰＡＢＯ）基、パラ－アミノベンジルカルバメート（ＰＡＢＣ）基、パラ－アミノベンジル（ＰＡＢ）基、アセタール、ジスルフィド、ヒドラジン、（ＡＡ）ｐ－ＭＡＢＣ－（ＡＡ）ｐ、（ＡＡ）ｐ－ＭＡＢＯ－（ＡＡ）ｐ、（ＡＡ）ｐ－ＰＡＢＯ－（ＡＡ）ｐ、または（ＡＡ）ｐ－ＰＡＢＣ－（ＡＡ）ｐであり、
Ｖ１、Ｖ２、Ｖ３、Ｖ４及びＶ５は、各々独立して、共有結合、－Ｃ（＝Ｏ）－、－ＮＲ１１－、
－Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ１１－、－ＮＲ１１Ｃ（＝Ｏ）－、－Ｃ（＝Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（＝Ｏ）－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ（＝Ｏ）－、－ＳＯ２－、
－ＳＯ２ＮＲ１１－、－ＮＲ１１ＳＯ２－、または－Ｐ（＝Ｏ）ＯＨ－であり、
ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅが、各々独立して、０または１であり、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅの合計が、１～５であり、
ｈは、独立して、１～１２の整数であり、
ｍは０または１であり、
ｎは、独立して、１～３０の整数であり、
ｐは、独立して、ゼロであるか、または１～２０の整数であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
ｗは、独立して、１～２０の整数であり、

X^1、X^2、X^3、及びX^4は、各々独立して、Ｃ、Ｎ、Ｏ、またはＳであり、
Y^1、Y^2、Y^3及びY^4は、各々独立して、水素、ハロゲン、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリルである、または置換ヘテロシクリルであり、またはY^1及びY^2、Y^2及びY^3またはY^3及びY^4は、環状に連結され、
W^1が薬物であり、
R^{11}が独立して、水素、アルキル、置換アルキル、ＰＥＧ、アリール、または置換アリールであり、及び
R^{12}は、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、ポリエチレングリコール部分、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、及び
R^{13}が独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、または置換アリールである。

【００１０】

いくつかの実施形態では、薬物は、ＭＭＡＥまたはＭＭＡＦなどのマイタンシノイドまたはアウリスタチンである。

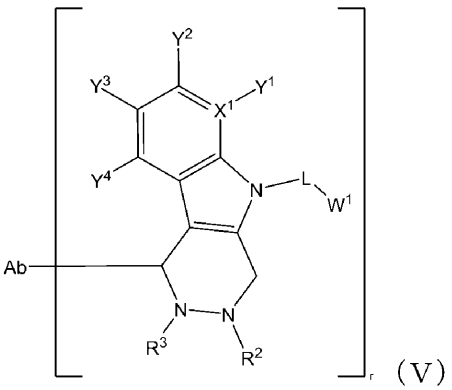
【００１１】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）で表され得、式中、R^2及びR^3は各々、アルキル、例えば、メチルである。一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）で表され得、式中、X^1、X^2、X^3、及びX^4の各々が、独立して、ＣまたはＮである。

【００１２】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（Ｖ）：

【化２】



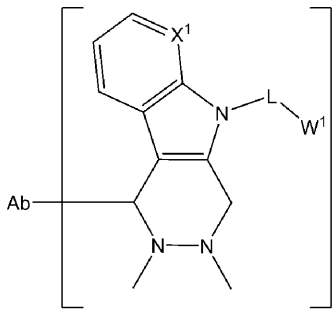
（Ｖ）

で表され、
式中、X^1、Y^1、Y^2、Y^3、Y^4、R^2、R^3、Ｌ、及びW^1は、式（ＩＶ）などで本明細書で定義するとおりである。

【００１３】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ）で表され得：

【化３】



r （ＶＩ）

式中、Ｘ^{1}は、ＣまたはＮであり、Ｌ及びＷ^{1}は、式（ＩＶ）などで定義されるとおりである。

【００１４】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＶＩ）によって表され得、式中、

Ｌが、リンカーであり、－（Ｔ^{1}Ｖ^{1}）$_{a}$－（Ｔ^{2}Ｖ^{2}）$_{b}$－（Ｔ^{3}Ｖ^{3}）$_{c}$－（Ｔ^{4}Ｖ^{4}）$_{d}$－（Ｔ^{5}Ｖ^{5}）$_{e}$－で表され、

Ｔ^{1}、Ｔ^{2}、Ｔ^{3}、Ｔ^{4}、及びＴ^{5}が、各々独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｐ４Ａ－Ｒ^{12}、（ＡＡ）$_{p}$、（ＡＡ）$_{p}$－ＰＡＢＣ、または（ＰＥＧ）$_{n}$であり、

Ｖ^{1}、Ｖ^{2}、Ｖ^{3}、Ｖ^{4}及びＶ^{5}は、各々独立して、共有結合、－Ｃ（＝Ｏ）－、－ＮＲ^{11}－、－Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ^{11}－、－ＮＲ^{11}Ｃ（＝Ｏ）－、－Ｃ（＝Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（＝Ｏ）－、

－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ（＝Ｏ）－、－ＳＯ$_{2}$－、－ＳＯ$_{2}$ＮＲ^{11}－、－ＮＲ^{11}ＳＯ$_{2}$－、または－Ｐ（＝Ｏ）ＯＨ－からなる群から選択され、

ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅが、各々独立して、０または１であり、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅの合計が、１～５であり、

ｐは、１～２０の整数であり、

ｎは、１～３０の整数であり、

Ｒ^{11}は、水素、アルキル、置換アルキル、ＰＥＧ、アリール、及び置換アリールからなる群より選択され、ならびに

Ｒ^{12}が独立して、ポリエチレングリコールまたはカルボン酸変性ポリエチレングリコールである。

【００１５】

さらなる実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＶＩ）によって表され得、式中、

ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅが、各々独立して、０または１であり、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅの合計が、１～５であり、

ｐが、１～２０の整数であり、

ｎは、１～３０の整数であり、

Ｌが、リンカーであり、－（Ｔ^{1}Ｖ^{1}）$_{a}$－（Ｔ^{2}Ｖ^{2}）$_{b}$－（Ｔ^{3}Ｖ^{3}）$_{c}$－（Ｔ^{4}Ｖ^{4}）$_{d}$－（Ｔ^{5}Ｖ^{5}）$_{e}$－で表され、

Ｔ^{1}は、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルであり、

Ｔ^{2}、Ｔ^{3}、Ｔ^{4}、及びＴ^{5}は、各々独立して、（ＰＥＧ）$_{n}$、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、（ＡＡ）$_{p}$、Ｐ４Ａ－Ｒ^{12}、（ＡＡ）$_{p}$－（ＰＡＢＯ－Ｒ^{16}）－（ＡＡ）$_{p}$、（ＡＡ）$_{p}$－（ＰＡＢＣ－Ｒ^{16}）－（ＡＡ）$_{p}$、（ＡＡ）$_{p}$－（ＰＡＢＯ－Ｒ^{16}）、または（ＡＡ）$_{p}$－（ＰＡＢＣ－Ｒ^{16}）であり、

Ｖ^{1}、Ｖ^{2}、Ｖ^{3}、Ｖ^{4}、及びＶ^{5}は、各々独立して、－ＣＯ－または－ＮＲ^{11}であり、

R^{11}は独立して、水素またはアルキルであり、
R^{12}が独立して、カルボン酸変性ポリエチレングリコールであり、及び
R^{16}は、水素である。

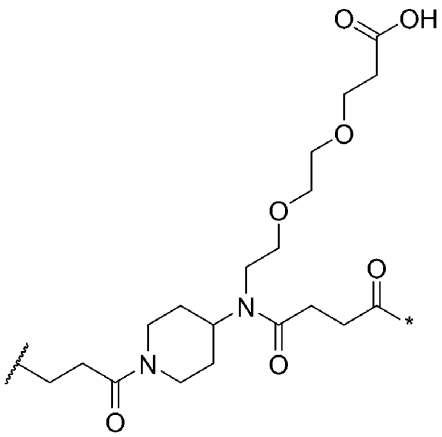
【００１６】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＶＩ）によって表され得、式中、
Ｌが、－（C_1～C_6アルキル）－（V^1）－（Ｐ４Ａ－R^{12}）－（V^2）－（C_1～C_6アルキル）－（V^3）－であり、
V^1、V^2、V^3は、各々独立して、－ＣＯ－または－ＮR^{11}であり、
R^{11}は独立して、水素またはC_1～C_6アルキルであり、及び
R^{12}は、カルボン酸変性ポリエチレングリコール部分である。

【００１７】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＶＩ）によって表され得、式中、Ｌは、

【化４】



式中、

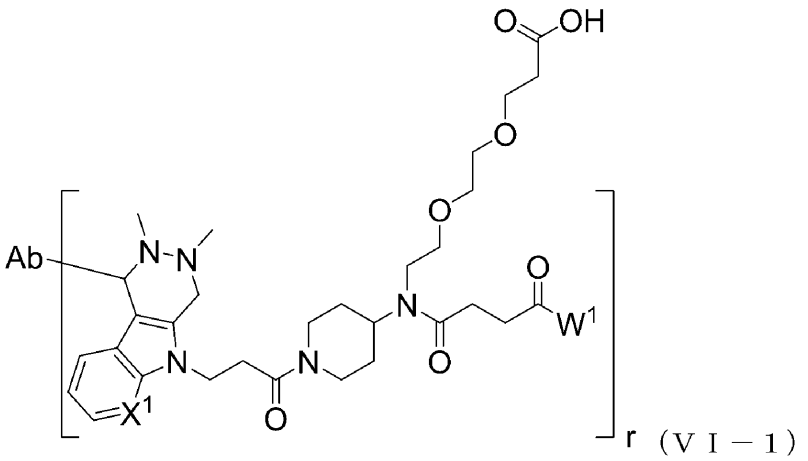
【化５】

がピリダジン－ピロロカップリング部分の窒素への結合点を表し、＊がW^1への結合点を表す。

【００１８】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－１）で表され得：

【化６】



（ＶＩ－１）

式中、
Ａｂは、５Ｔ４に結合する抗体を表し、
ｒは、１～１０の整数であり、
X^1はＣまたはＮであり、及び
W^1が薬物である。

【００１９】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－１）によって表され得、式中、薬物は、マイタンシノイドまたはアウリスタチン、例えば、ＭＭＡＥである。一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－１）によって表され得、式中、X^1は、Ｃであり、W^1は、マイタンシンまたは脱アシル化マイタンシンである。一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－１）によって表され得、式中、X^1は、Ｎであり、W^1は、ＭＭＡＥである。

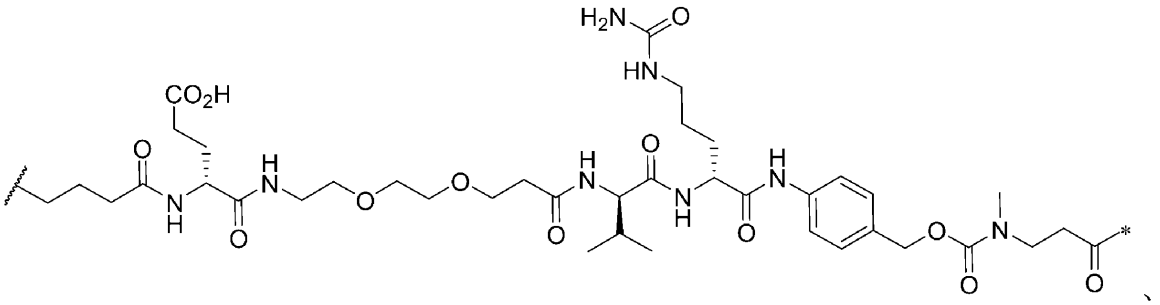
【００２０】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＶＩ）によって表され得、式中、
Ｌは、（C_1～C_6アルキル）－V^1－（ＡＡ）－V^2－（ＰＥＧ）$_n$－V^3－（（ＡＡ）$_p$－（ＰＡＢＣ－R^{16}））－V^4－（C_1～C_6アルキル）－V^5であり、
V^1、V^2、V^3、V^4、及びV^5は、各々独立して、－ＣＯ－及び－ＮR^{11}－からなる群から選択され、
R^{11}は独立して、水素またはC_1～C_6アルキルであり、
R^{16}が、水素であり、及び
ｎ及びｐは、各々独立して、１～２０の整数である。

【００２１】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＶＩ）によって表され得、式中、Ｌは、

【化７】



、

式中、

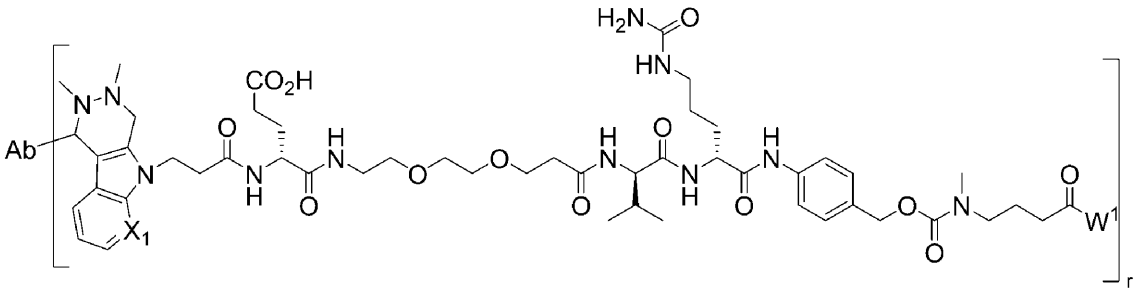
【化８】

がピリダジン－ピロロカップリング部分の窒素への結合点を表し、＊がW^1への結合点を表す。

【００２２】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－２）で表され得：

【化９】



（ＶＩ－２）

式中、

Ａｂは、５Ｔ４に結合する抗体を表し、

ｒは、１～１０の整数であり、

X^1はＣまたはＮであり、及び

W^1が薬物である。

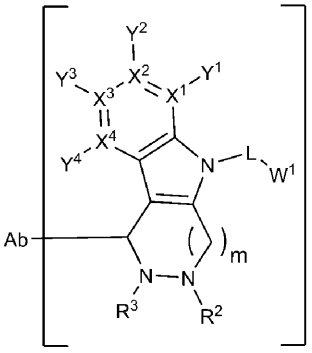
【００２３】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－２）によって表され得、式中、薬物は、マイタンシノイドまたはアウリスタチン、例えば、ＭＭＡＥである。一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－２）によって表され得、式中、X^1は、Ｃであり、W^1は、マイタンシンまたは脱アシル化マイタンシンである。

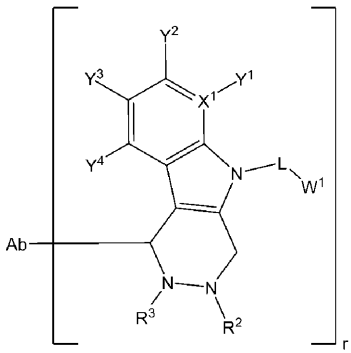
【００２４】

本開示はまた、式（ＩＶ）、（Ｖ）、及び（ＶＩ）の５Ｔ４－ＡＤＣも提供し：

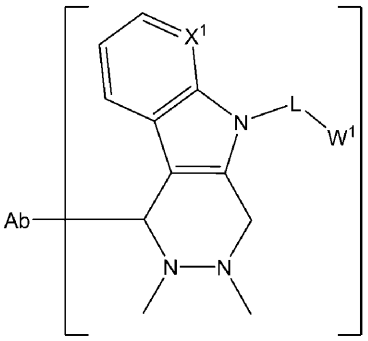
【化１０】



r（ＩＶ）



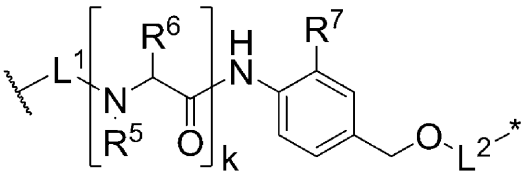
r（Ｖ）



r（ＶＩ）、

式中、
Ａｂは、５Ｔ４に結合する抗体を表し、
ｒは、１～１０の整数であり、
ｍは０または１であり、
Ｒ^{2}及びＲ^{3}は、各々独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、またはＲ^{2}及びＲ^{3}は、環状に連結されて、５員もしくは６員ヘテロシクリルを形成し、
Ｘ^{1}、Ｘ^{2}、Ｘ^{3}及びＸ^{4}は各々独立して、Ｃ、Ｎ、Ｏ及びＳからなる群から選択され、
Ｙ^{1}、Ｙ^{2}、Ｙ^{3}及びＹ^{4}は、各々独立して、水素、ハロゲン、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、またはＹ^{1}及びＹ^{2}、Ｙ^{2}及びＹ^{3}、またはＹ^{3}及びＹ^{4}は、環状に連結され、
Ｌが、

【化１１】



であり、

【化１２】

が、ピリダジン－ピロロカップリング部分の窒素への結合点を表し、
＊が、W^1への結合点を表し、
R^5が独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、
R^6が独立して、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、
R^7が、開裂可能な部分であり、
kが、１～１０の整数であり、
L^1が、－（T^1-V^1）$_a$－（T^2-V^2）$_b$－（T^3-V^3）$_c$－（T^4-V^4）$_d$－を含み、
L^2が、－（T^5-V^5）$_e$－（T^6-V^6）$_f$－（T^7-V^7）$_g$－（T^8-V^8）$_h$－を含み、
T^1、T^2、T^3、T^4、T^5、T^6、T^7、及びT^8が、各々独立して、共有結合、C_1～C_{12}アルキル、置換C_1～C_{12}アルキル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、及び置換ヘテロシクリル、（ＥＤＡ）$_w$、（ＰＥＧ）$_n$、（ＡＡ）$_p$、－（$CR^{13}OH$）$_m$－、Ｐ４Ａ－R^{12}、アセタール、ヒドラジン、ジスルフィド、及びエステルであり、
V^1、V^2、V^3、V^4、V^5、V^6、V^7、及びV^8は、各々独立して、共有結合、－ＣＯ－、
－NR^{15}－、－NR^{15}（CH_2）$_q$－、－NR^{15}（C_6H_4）－、－$CONR^{15}$－、－$NR^{15}CO$－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｏ－、－Ｓ－、
－Ｓ（Ｏ）－、－SO_2－、－SO_2NR^{15}－、－$NR^{15}SO_2$－、及び－Ｐ（Ｏ）ＯＨ－であり、
ａ、ｂ、ｃ、ｄ、ｅ、ｆ、ｇ、及びｈが、各々独立して、１または０であり、
ｍは、独立して、１～１２の整数であり、
ｎは、独立して、１～３０の整数であり、
ｐは、独立して、１～２０の整数であり、
ｑは、独立して、１～６の整数であり、
ｗは、独立して、１～２０の整数であり、
R^{12}は、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、ポリエチレングリコール部分、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオ

アルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、
R^{13}が独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、及び置換アリールであり、及び
R^{15}が独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルである。

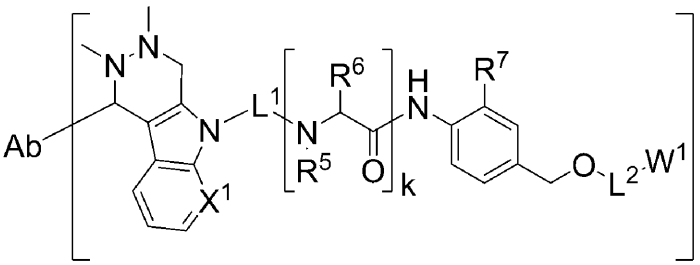
【００２５】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）で表され得、式中、R^2及びR^3は各々、アルキル、例えば、メチルである。一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）で表され得、式中、X^1、X^2、X^3、及びX^4の各々が、独立して、ＣまたはＮである。

【００２６】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－３）で表され得：

【化１３】



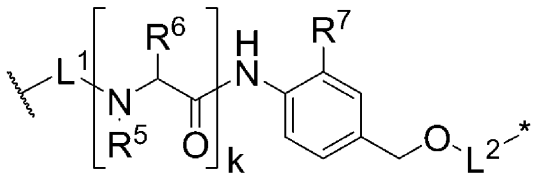
（ＶＩ－３）、

式中、
Ａｂは、５Ｔ４に結合する抗体を表し、
X^1はＣ、Ｎ、Ｏ、またはＳであり、
R^5が独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、
R^6が独立して、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、
R^7が、開裂可能な部分であり、
L^1が、$-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$を含み、
L^2が、$-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-$を含み、
T^1、T^2、T^3、T^4、T^5、T^6、T^7、及びT^8が、各々独立して、共有結合、C_1～C_{12}アルキル、置換C_1～C_{12}アルキル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、及び置換ヘテロシクリル、$(EDA)_w$、$(PEG)_n$、$(AA)_p$、$-(CR^{13}OH)_m-$、Ｐ４Ａ－R^{12}、アセタール、ヒドラジン、ジスルフィド、またはエステルであり、
V^1、V^2、V^3、V^4、V^5、V^6、V^7、及びV^8は、各々独立して、共有結合、－ＣＯ－、
$-NR^{15}-$、$-NR^{15}(CH_2)_q-$、$-NR^{15}(C_6H_4)-$、$-CONR^{15}-$

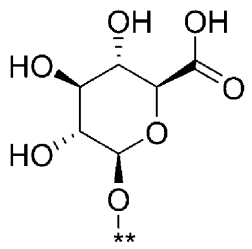
、－ＮＲ^{15}ＣＯ－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｏ－、－Ｓ－、
－Ｓ（Ｏ）－、－ＳＯ$_2$－、－ＳＯ$_2$ＮＲ^{15}－、－ＮＲ^{15}ＳＯ$_2$－、または－Ｐ（Ｏ）ＯＨ－であり、
ａ、ｂ、ｃ、ｄ、ｅ、ｆ、ｇ、及びｈが、各々独立して、１または０であり、
ｋが、１～１０の整数であり、
ｍは、独立して、１～１２の整数であり、
ｎは、独立して、１～３０の整数であり、
ｐは、独立して、１～２０の整数であり、
ｑは、独立して、１～６の整数であり、
ｗは、独立して、１～２０の整数であり、
Ｒ^{12}は、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、ポリエチレングリコール部分、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、
Ｒ^{13}が独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、または置換アリールであり、及び
Ｒ^{15}が独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルである。

【００２７】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＩＶ）によって表され得、式中、
Ｌが、
【化１４】



であり、
Ｒ^{5}、Ｒ^{6}、Ｌ^{1}、Ｌ^{2}、及びｋは、式（ＶＩ－３）などで本明細書で定義される通りであり、及び
Ｒ^{7}は、
【化１５】

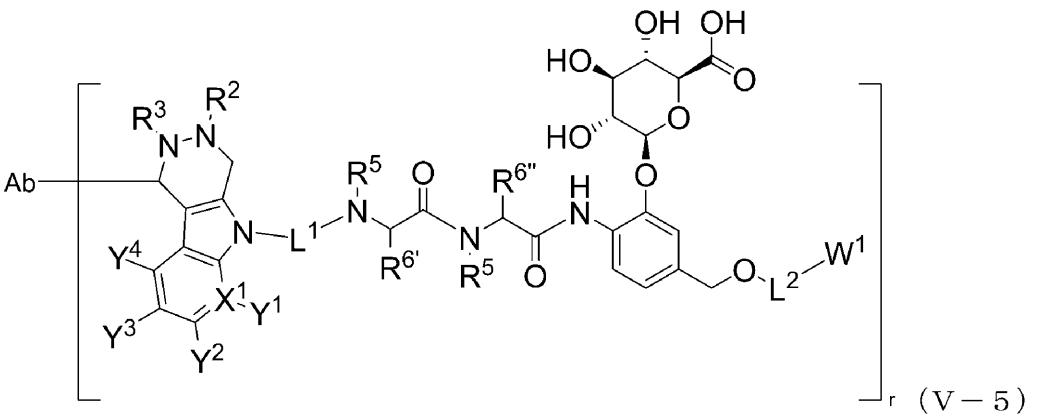


であり、式中、＊＊は、式（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、または（ＶＩ－４）におけるように、本明細書に記載のフェニル基への結合点を表す。

【００２８】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（Ｖ－５）で表され得：

【化１６】



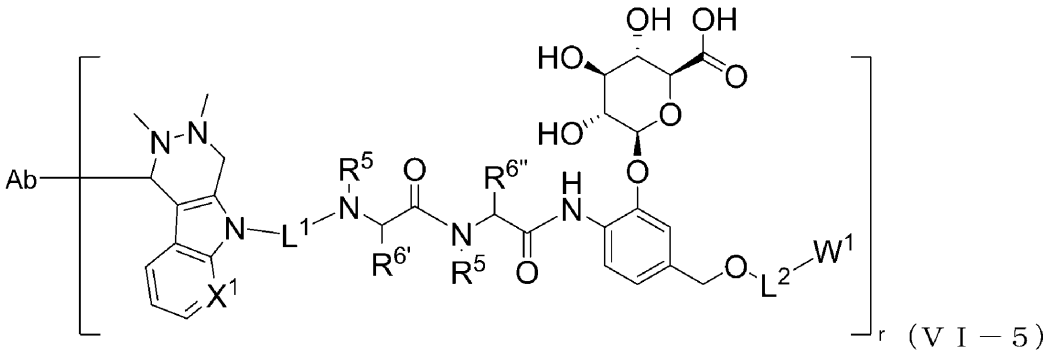
（Ｖ－５）

式中、Ａｂ、Ｌ^{1}、Ｌ^{2}、Ｒ^{2}、Ｒ^{3}、Ｒ^{5}、Ｘ^{1}、Ｙ^{1}、Ｙ^{2}、Ｙ^{3}、Ｙ^{4}、Ｗ^{1}、及びｒは、式（ＶＩ－３）などで本明細書で定義される通りであり、ならびにＲ$^{6'}$及びＲ$^{6''}$は、各々独立して、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルである。

【００２９】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－５）で表され得：

【化１７】



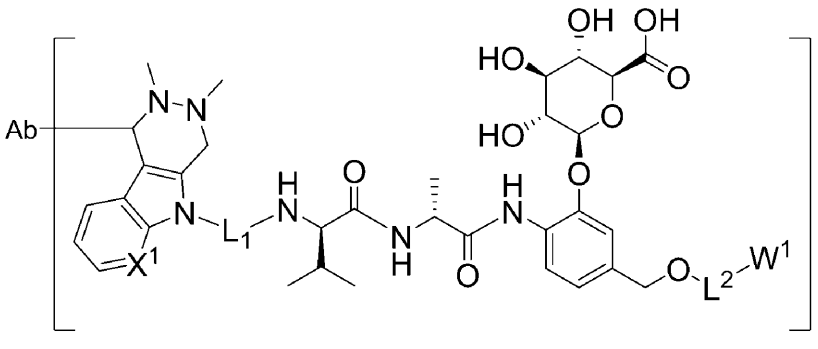
（ＶＩ－５）

式中、Ａｂ、Ｌ^{1}、Ｌ^{2}、Ｒ^{5}、Ｗ^{1}及びｒは、式（ＶＩ－３）などで、本明細書で定義される通りであり、ならびにＲ$^{6'}$及びＲ$^{6''}$は、各々独立して、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、Ｘ^{1}は、ＣまたはＮである。

【００３０】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－６）で表され得：

【化１８】



（ＶＩ－６）

式中、Ａｂ、Ｌ^{1}、Ｌ^{2}、Ｗ^{1}、及びｒは、式（ＶＩ－３）などで本明細書で定義する通りであり、式中、Ｘ^{1}は、ＣまたはＮである。

【００３１】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－３）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）または（ＶＩ－６）によって表され得、

Ｌ^{1}が、－（Ｔ^{1}－Ｖ^{1}）$_{a}$－（Ｔ^{2}－Ｖ^{2}）$_{b}$－（Ｔ^{3}－Ｖ^{3}）$_{c}$－を含み、

Ｔ^{1}、Ｔ^{2}及びＴ^{3}が、それぞれ独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{12}$アルキル、（ＰＥＧ）$_{n}$及び（ＡＡ）$_{p}$からなる群から選択され、

Ｖ^{1}、Ｖ^{2}、及びＶ^{3}は、各々独立して、－Ｃ（＝Ｏ）－または－ＮＲ^{11}－であり、

ａ、ｂ、及びｃが各々１であり、

ｎは、独立して、１～１０の整数であり、

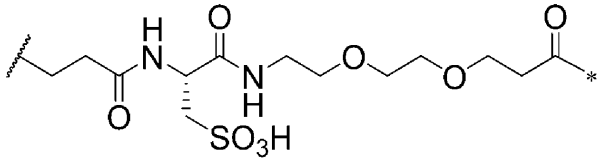
ｐは、独立して、１～１０の整数であり、

Ｒ^{11}が独立して、水素、アルキル、置換アルキル、ポリエチレングリコール部分、アリール、または置換アリールである。

【００３２】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－３）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、または（ＶＩ－６）によって表され得、式中、Ｌ^{1}は、

【化１９】



であり、式中、

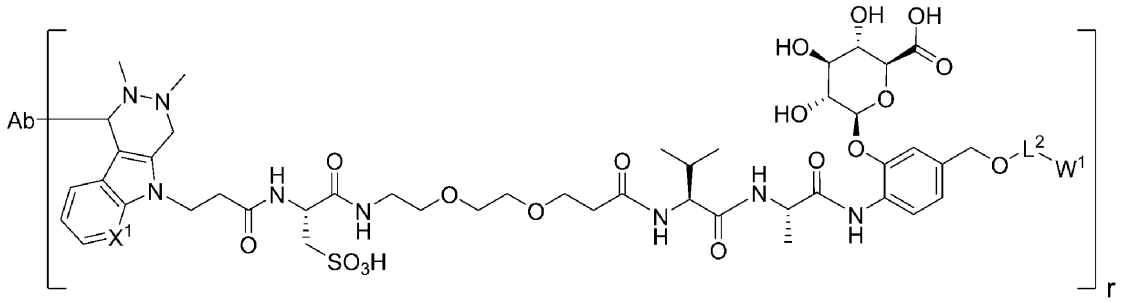
【化２０】

は、ピリダジン－ピロロカップリング部分の窒素への結合点であり、式中、＊が、式（ＶＩ－６）に示されるような、本明細書に記載される、リンカーの末端窒素への結合点を表す。

【００３３】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－７）で表され得：

【化２１】



（ＶＩ－７）

式中、Ａｂ、Ｌ^{1}、Ｌ^{2}、Ｗ^{1}、及びｒは、式（ＶＩ－３）などで本明細書で定義する通りであり、式中、Ｘ^{1}は、ＣまたはＮである。

【００３４】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－７）によって表され得、式中、Ｌ^{2}は、カルボニル基である。一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－７）によって表され得、式中、Ｘ^{1}は、Ｎであり、Ｗ^{1}は、ＭＭＡＥである。

【００３５】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（ＶＩ－６）、または（ＶＩ－７）で表され得、抗体（Ａｂ）は、（ｉ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＶＨに記載のＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３、ならびに配列番号２６のアミノ酸配列を含むＶＬに記載のＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３、（ｉｉ）配列番号４４のアミノ酸配列を含むＶＨに記載されるＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３、ならびに配列番号４５のアミノ酸配列を含むに記載のＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３、または（ｉｉｉ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＶＨに記載のＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３、ならびに配列番号６３のアミノ酸配列を含むＶＬに記載のＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３を含む。

【００３６】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（ＶＩ－６）、または（ＶＩ－７）で表され得、抗体（Ａｂ）は、（ａ）（１）配列番号１、７、１２、１３、及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号２、８、１４、１９、及び２４からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、ならびに（３）配列番号３、９、１５、及び２０からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３を含む、ＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５、１１、及び２２からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、ならびに（３）配列番号６、１７、及び２３からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含む、ＶＬ領域を含む。

【００３７】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（ＶＩ－６）、または（ＶＩ－７）で表され得、抗体（Ａｂ）は、（ｉ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号２のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｉｉ）配列番号７のアミノ酸配

列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、ならびに配列番号１０を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｉｉｉ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号２のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｉｖ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号１４のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号１５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号１７のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｖ）配列番号１８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号１９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号２０のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに配列番号２１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号２３のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｖｉ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号２４のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、ならびに配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域を含む。

【００３８】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（ＶＩ－６）、または（ＶＩ－７）で表され得、抗体（Ａｂ）は、（ａ）（１）配列番号２７、３１、３４、３５、及び３９からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号２８、３２、３６、４０、及び４３からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、ならびに（３）配列番号２９、３３、３７、及び４１からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５、１１、及び２２からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、ならびに（３）配列番号３０、３８、及び４２からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域を含む。

【００３９】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（ＶＩ－６）、または（ＶＩ－７）で表され得、抗体（Ａｂ）は、（ｉ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号２８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号２９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号３０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｉｉ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号３２のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号３３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号３０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｉｉｉ）配列番号３４のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号２８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号２９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号３０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｉｖ）配列番号３５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１

、配列番号３６のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号３７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号３８のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｖ）配列番号３９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号４０のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号４１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに配列番号２１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号４２のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｖｉ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号４３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号２９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号３０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域を含む。

【００４０】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（ＶＩ－６）、または（ＶＩ－７）で表され得、抗体（Ａｂ）は、（ａ）（１）配列番号４６、５０、５３、１３、及び５７からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号４７、５１、５４、５８、及び６１からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、ならびに（３）配列番号４８、５２、５５、及び５９からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、ならびに（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５、１１、及び２２からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、ならびに（３）配列番号４９、５６、及び６０からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含む、ＶＬ領域を含む。

【００４１】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（ＶＩ－６）、または（ＶＩ－７）で表され得、抗体（Ａｂ）は、（ｉ）配列番号４６のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号４７のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、ならびに配列番号４８のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、ならびに配列番号４のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、ならびに配列番号４９のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含む、ＶＬ領域、または（ｉｉ）配列番号５０のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号５１のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号５２のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに配列番号１０のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号４９のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｉｉｉ）配列番号５３のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号４７のアミノ酸配列を有するＣＤＲ２、及び配列番号４８のアミノ酸配列を有するＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに配列番号４のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号４９のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｉｖ）配列番号１３のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号５４のアミノ酸配列を有するＣＤＲ２、及び配列番号５５のアミノ酸配列を有するＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに配列番号１６のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号５６のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｖ）配列番号５７のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号５８のアミノ酸配列を有するＣＤＲ２、及び配列番号５９のアミノ酸配列を有するＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに配列番号２１のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号２２のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号６０のアミノ酸配列を有するＶ

Ｌ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｖｉ）配列番号４６のアミノ酸配列を有するＶＨＣＤＲ１、配列番号６１のアミノ酸配列を有するＣＤＲ２、及び配列番号４８のアミノ酸配列を有するＣＤＲ３を含むＶＨ領域、ならびに配列番号４のアミノ酸配列を有するＶＬＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号４９のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【００４２】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（ＶＩ－６）、または（ＶＩ－７）で表され得、抗体（Ａｂ）は、配列番号２５、２６、４４、４５、６２、及び６３のいずれか１つに示される、フレームワーク１（ＦＲ１）、フレームワーク２（ＦＲ２）、フレームワーク３（ＦＲ３）、及び／またはフレームワーク４（ＦＲ４）配列を含む。

【００４３】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（ＶＩ－６）、または（ＶＩ－７）で表され得、抗体（Ａｂ）は、ヒトフレームワーク配列を含む。

【００４４】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（ＶＩ－６）、または（ＶＩ－７）で表され得、抗体（Ａｂ）は、（ｉ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＶＨ及び配列番号２６のアミノ酸配列を含むＶＬ、（ｉｉ）配列番号４４のアミノ酸配列を含むＶＨ及び配列番号４５のアミノ酸配列を含むＶＬ、または（ｉｉｉ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＶＨ及び配列番号６３のアミノ酸配列を含むＶＬを含む。

【００４５】

本開示はまた、５Ｔ４－ＡＤＣを含む医薬組成物を提供し、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（ＶＩ－６）、または（ＶＩ－７）及びその薬学的に許容される賦形剤で表され得、抗体（Ａｂ）は、本明細書に記載の任意の実施形態に記載される通りである。一部の実施形態では、かかる医薬組成物の５Ｔ４－ＡＤＣの薬物対抗体比（ＤＡＲ）は、約１～約１０、例えばＤＡＲは、約１～約４、約１～約２、約１．５～約２、または約１．７５～約１．９であり得る。

【００４６】

本開示はまた、対象におけるがんまたは腫瘍を治療するための方法であって、対象に、５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む方法を提供し、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（ＶＩ－６）、もしくは（ＶＩ－７）または、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（ＶＩ－６）、または（ＶＩ－７）の５Ｔ４－ＡＤＣとその薬学的に許容される賦形剤を含み、抗体（Ａｂ）は、本明細書の任意の実施形態に記載される通りである。

【図面の簡単な説明】

【００４７】

【図１－１】スキーム１としての式ＶＩａ－２１のリンカー－薬物の例示的な合成を提供する。

【図１－２】スキーム１としての式ＶＩａ－２１のリンカー－薬物の例示的な合成を提供する。

【００４８】

【図２－１】スキーム２としての式ＶＩａ－１１のリンカー－薬物の例示的な合成を提供する。

【図２－２】スキーム２としての式ＶＩａ－１１のリンカー－薬物の例示的な合成を提供する。

【００４９】
【図３】スキーム３としての式ＶＩｂ－１１のリンカー－薬物の例示的な合成を提供する
【００５０】
【図４－１】スキーム４としての式ＶＩｂ－８２のリンカー－薬物の例示的な合成を提供する。
【図４－２】スキーム４としての式ＶＩｂ－８２のリンカー－薬物の例示的な合成を提供する。
【００５１】
【図５－１】スキーム５としての式ＶＩｂ－８１のリンカー－薬物の例示的な合成を提供する。
【図５－２】スキーム５としての式ＶＩｂ－８１のリンカー－薬物の例示的な合成を提供する。
【００５２】
【図６】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－１１またはｍＡｂＡ１７－ＶＩａ－１１ＡＤＣの５Ｔ４－ＡＤＣで処置したＭＤＡ－ＭＢ－４６８細胞の細胞生存率を報告する。
【００５３】
【図７】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－１１またはｍＡｂＡ１７－ＶＩａ－１１ＡＤＣの５Ｔ４－ＡＤＣで処置したＭＣＦ－７細胞の細胞生存率を報告する。
【００５４】
【図８】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２またはｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣで処置したＭＤＡ－ＭＢ－４６８細胞の細胞生存率を報告する。
【００５５】
【図９】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２またはｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣで処置したＭＣＦ－７細胞の細胞生存率を報告する。
【００５６】
【図１０】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２またはｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣで処置したＭＤＡ－ＭＢ－２３１細胞の細胞生存率を報告する。
【００５７】
【図１１】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２またはｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣで処置したＭＣＩ－Ｈ２２６細胞の細胞生存率を報告する。
【００５８】
【図１２】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２またはｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣで処置したＢＸＰＣ３細胞の細胞生存率を報告する。
【００５９】
【図１３】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－１１またはｍＡｂＡ１７－ＶＩａ－１１の５Ｔ４－ＡＤＣで処置したＭＣＦ－７．１異種移植マウスにおける平均腫瘍体積を報告している。
【００６０】
【図１４】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２またはｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣで処置したＭＣＦ－７．１異種移植マウスにおける平均腫瘍体積を報告している。
【００６１】
【図１５】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣの０．５ｍｇ／ｋｇ、２．５ｍｇ／ｋｇ、または５．０ｍｇ／ｋｇの単回用量で処置したＭＣＦ－７．１異種移植マウスにおける平均腫瘍体積を報告している。
【００６２】
【図１６】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣの０．２５ｍｇ／ｋｇ、１．２５ｍｇ／ｋｇ、または２．５ｍｇ／ｋｇの２用量で（間を１週間空けて）処置したＭＣＦ－７．１異種移植マウスにおける平均腫瘍体積を報告している。
【００６３】
【図１７】式ｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣの０．５ｍｇ／ｋｇ、２．５ｍｇ／ｋｇ、または５．０ｍｇ／ｋｇの単回容量で処置したＭＣＦ－７．１異種移植マウ

スにおける平均腫瘍体積を報告している。
【００６４】
【図１８】式ｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣの０．２５ｍｇ／ｋｇ、１．２５ｍｇ／ｋｇ、または２．５ｍｇ／ｋｇの２用量で（間を１週間空けて）処置したＭＣＦ－７．１異種移植マウスにおける平均腫瘍体積を報告している。
【００６５】
【図１９】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－１１、ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８１、またはｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣで処置したＭＤＡ－ＭＢ－４６８異種移植マウスにおける平均腫瘍体積を報告している。
【００６６】
【図２０】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２またはｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－１１の５Ｔ４－ＡＤＣで処置したＭＤＡ－ＭＢ－２３１異種移植マウスにおける平均腫瘍体積を報告している。
【００６７】
【図２１】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２またはｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－１１の５Ｔ４－ＡＤＣで処置したＮＣＩ－Ｈ２２６異種移植マウスにおける平均腫瘍体積を報告している。
【００６８】
【図２２】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２またはｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－１１の５Ｔ４－ＡＤＣで処置したＢｘＰＣ３異種移植マウスにおける平均腫瘍体積を報告している。
【００６９】
【図２３】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣで処置したＣａｌｕ－６異種移植マウスにおける平均腫瘍体積を報告している。
【００７０】
【図２４Ａ】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣを３０ｍｇ／ｋｇで処置したラットの毒性動態（ＴＫ）試験において、２つのＥＬＩＳＡ法によって定量化した総抗体及び総ＡＤＣ濃度（ｍｇ／ｍＬ）を示す。
【図２４Ｂ】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣを６０ｍｇ／ｋｇで処置したラットの毒性動態（ＴＫ）試験において、２つのＥＬＩＳＡ法によって定量化した総抗体及び総ＡＤＣ濃度（ｍｇ／ｍＬ）を示す。
【図２４Ｃ】式ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣを９０ｍｇ／ｋｇで処置したラットの毒性動態（ＴＫ）試験において、２つのＥＬＩＳＡ法によって定量化した総抗体及び総ＡＤＣ濃度（ｍｇ／ｍＬ）を示す。
【発明を実施するための形態】
【００７１】
詳細な説明
本開示は、５Ｔ４に結合する抗体薬物複合体（ＡＤＣ）及びそれに（直接的または間接的に）コンジュゲートされた薬物を提供する。かかる５Ｔ４－ＡＤＣは、疾患、障害、または状態の１つまたは複数の症状を含めた５Ｔ４媒介性疾患、障害、または状態を処置、予防、または緩和する組成物及び方法において有用である。５Ｔ４媒介性の疾患、障害、及び状態としては、腫瘍細胞が５Ｔ４を発現または過剰発現する任意のがんを含むがこれらに限定されない様々ながんが挙げられる。さらに、５Ｔ４－ＡＤＣは、腫瘍細胞の殺傷及び／または除去に有用である。本明細書に記載される５Ｔ４－ＡＤＣは、がんを処置するための組成物及び方法において有用である。
【００７２】
用語「アルキル」とは、１～１２個の炭素原子、例えば１～１０個、１～６個、１～５個、１～４個、または１～３個の炭素原子を有する一価の飽和脂肪族ヒドロカルビル基を指す。本用語には、例として、直鎖及び分枝鎖ヒドロカルビル基、例えば、メチル（－CH_3）、エチル（－CH_2CH_3）、ｎ－プロピル（－$CH_2CH_2CH_3$）、イソプロピル（－$CH(CH_3)_2$）、ｎ－ブチル（－$CH_2CH_2CH_2CH_3$）、イソブチル

（－$CH_2CH(CH_3)_2$）、ｓｅｃ－ブチル（－$CH(CH_3)(CH_3CH_2)$）、ｔ－ブチル（－$C(CH_3)_3$）、ｎ－ペンチル（－$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$）、及びネオペンチル（－$CH_2C(CH_3)_3$）などが含まれる。

【００７３】

用語「置換アルキル」とは、本明細書中に定義するアルキル基を指し、アルキル鎖中の１個以上の炭素原子（C_1炭素原子を除く）が任意で、－Ｏ－、－Ｎ－、－Ｓ－、－Ｓ（Ｏ）$_n$－（式中、ｎは０～２）、－ＮＲ－（式中、Ｒは水素またはアルキル）などのヘテロ原子で置換されるとともに、アルコキシ、置換アルコキシ、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アミノ、アミノアシル、アミノアシルオキシ、オキシアミノアシル、アジド、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、オキソ、チオケト、カルボキシル、カルボキシアルキル、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、チオヘテロシクロオキシ、チオール、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、ヒドロキシアミノ、アルコキシアミノ、ニトロ、－ＳＯ－アルキル、－ＳＯ－アリール、－ＳＯ－ヘテロアリール、－SO_2－アルキル、－SO_2－アリール、－SO_2－ヘテロアリール、及び－NR^aR^bからなる群から選択される１～５個の置換基を有し、式中、R^a及びR^bは同じでも異なっていてもよく、また、水素、任意置換のアルキル、シクロアルキル、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール及び複素環から選択される。

【００７４】

用語「アルケニル」とは、好ましくは、１～６個、より好ましくは、１～３個の直鎖または分枝鎖の炭素原子を有し、場合により、－Ｏ－、－NR^{10}－、－$NR^{10}C(O)$－、－$C(O)NR^{10}$－などから選択される１つ以上の基で置換される二価の脂肪族ヒドロカルビル基を指す。本用語には、例えば、メチレン（－CH_2－）、エチレン（－CH_2CH_2－）、ｎ－プロピレン（－$CH_2CH_2CH_2$－）、イソプロピレン（－$CH_2CH(CH_3)$－）、（－$C(CH_3)_2CH_2CH_2$－）、（－$C(CH_3)_2CH_2C(O)$－）、（－$C(CH_3)_2CH_2C(O)NH$－）、（－$CH(CH_3)CH_2$－）などが含まれる。

【００７５】

用語「置換アルケニル」とは、炭素について、以下の「置換」の定義において記載するような置換基で置換された１～３個の水素を有するアルキレン基を指す。

【００７６】

用語「アルカリル」または「アラルキル」は、－アルキレン－アリール基及び－置換アルキレン－アリール基を指し、アルキレン、置換アルキレン及びアリールは本明細書中に定義されている。

【００７７】

用語「アルコキシ」とは、－Ｏ－アルキル基を指し、アルキルは本明細書中に定義するとおりである。アルコキシとして、例えば、メトキシ、エトキシ、ｎ－プロポキシ、イソプロポキシ、ｎ－ブトキシ、ｔ－ブトキシ、ｓｅｃ－ブトキシ、ｎ－ペントキシなどが挙げられる。用語「アルコキシ」とはまた、アルケニル－Ｏ－、シクロアルキル－Ｏ－、シクロアルケニル－Ｏ－、及びアルキニル－Ｏ－を指し、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、及びアルキニルは、本明細書中に定義するとおりである。

【００７８】

用語「置換アルコキシ」とは、置換アルキル－Ｏ－、置換アルケニル－Ｏ－、置換シクロアルキル－Ｏ－、置換シクロアルケニル－Ｏ－、及び置換アルキニル－Ｏ－基を指し、置換アルキル、置換アルケニル、置換シクロアルキル、置換シクロアルケニル及び置換アルキニルは、本明細書中に定義するとおりである。

【００７９】

用語「アルコキシアミノ」とは、－ＮＨ－アルコキシ基を指し、アルコキシは本明細書中で定義される。

【００８０】
用語「アルキルアルコキシ」とは、－アルキレン－Ｏ－アルキル、アルキレン－Ｏ－置換アルキル、置換アルキレン－Ｏ－アルキル、及び置換アルキレン－Ｏ－置換アルキルを指し、アルキル、置換アルキル、アルキレン及び置換アルキレンは、本明細書中に定義するとおりである。
【００８１】
用語「アルケニル」は、２～６個の炭素原子、例えば、２～４個の炭素原子を有し、少なくとも１つの、好ましくは１～２つの部位の二重結合不飽和を有する直鎖または分岐状ヒドロカルビル基を指す。本用語には、例として、ビビニル、アリル、及びブタ－３－エン－１－イルが含まれる。本用語には、シス及びトランス異性体またはこれらの異性体の混合物が含まれる。
【００８２】
用語「置換アルケニル」とは、アルコキシ、置換アルコキシ、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アミノアシルオキシ、オキシアミノアシル、アジド、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、オキソ、チオケト、カルボキシル、カルボキシアルキル、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、チオヘテロシクロオキシ、チオール、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、ヒドロキシアミノ、アルコキシアミノ、ニトロ、－ＳＯ－アルキル、－ＳＯ－置換アルキル、－ＳＯ－アリール、－ＳＯ－ヘテロアリール、－SO_2－アルキル、－SO_2－置換アルキル、－SO_2－アリール及び－SO_2－ヘテロアリールから選択される１～５個の置換基、または１～３個の置換基を有する、本明細書中に定義するアルケニル基を指す。
【００８３】
用語「アルキニル」は、２～６個の炭素原子、好ましくは２～３個の炭素原子を有し、少なくとも１個、好ましくは１～２個の部位の三重結合不飽和を有する直鎖または分岐鎖の一価ヒドロカルビル基を指す。そのようなアルキニル基の例として、アセチレニル（－Ｃ≡ＣＨ）、及びプロパルギル（－CH_2Ｃ≡ＣＨ）が挙げられる。
【００８４】
用語「置換アルキニル」とは、アルコキシ、置換アルコキシ、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アミノアシルオキシ、オキシアミノアシル、アジド、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、オキソ、チオケト、カルボキシル、カルボキシアルキル、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、チオヘテロシクロオキシ、チオール、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、ヒドロキシアミノ、アルコキシアミノ、ニトロ、－ＳＯ－アルキル、－ＳＯ－置換アルキル、－ＳＯ－アリール、－ＳＯ－ヘテロアリール、－SO_2－アルキル、－SO_2－置換アルキル、－SO_2－アリール及び－SO_2－ヘテロアリールから選択される１～５個の置換基、または１～３個の置換基を有する、本明細書中に定義するアルキニル基を指す。
【００８５】
用語「アシルアミノ」とは、－NR^{20}Ｃ（Ｏ）アルキル、－NR^{20}Ｃ（Ｏ）置換アルキル、NR^{20}Ｃ（Ｏ）シクロアルキル、－NR^{20}Ｃ（Ｏ）置換シクロアルキル、－NR^{20}Ｃ（Ｏ）シクロアルケニル、－NR^{20}Ｃ（Ｏ）置換シクロアルケニル、－NR^{20}Ｃ（Ｏ）アルケニル、－NR^{20}Ｃ（Ｏ）置換アルケニル、－NR^{20}Ｃ（Ｏ）アルキニル、－NR^{20}Ｃ（Ｏ）置換アルキニル、－NR^{20}Ｃ（Ｏ）アリール、－NR^{20}Ｃ（Ｏ）置換アリール、－NR^{20}Ｃ（Ｏ）ヘテロアリール、－NR^{20}Ｃ（Ｏ）置換ヘテロアリール、－NR^{20}Ｃ（Ｏ）複素環、及び－NR^{20}Ｃ（Ｏ）置換複素環基を指し、式中、R^{20}は、水素またはアルキルであり、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、

シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、複素環、及び置換複素環は、本明細書中に定義するとおりである。

【００８６】

用語「アシル」とは、Ｈ－Ｃ（Ｏ）－、アルキル－Ｃ（Ｏ）－、置換アルキル－Ｃ（Ｏ）－、アルケニル－Ｃ（Ｏ）－、置換アルケニル－Ｃ（Ｏ）－、アルキニル－Ｃ（Ｏ）－、置換アルキニル－Ｃ（Ｏ）－、シクロアルキル－Ｃ（Ｏ）－、置換シクロアルキル－Ｃ（Ｏ）－、シクロアルケニル－Ｃ（Ｏ）－、置換シクロアルケニル－Ｃ（Ｏ）－、アリール－Ｃ（Ｏ）－、置換アリールＣ（Ｏ）－、ヘテロアリール－Ｃ（Ｏ）－、置換ヘテロアリール－Ｃ（Ｏ）－、ヘテロシクリル－Ｃ（Ｏ）－、及び置換ヘテロシクリル－Ｃ（Ｏ）－から選択される基を指し、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、複素環、及び置換複素環は、本明細書中に定義するとおりである。例えば、アシルは、「アセチル」基ＣＨ$_3$Ｃ（Ｏ）－を含む。

【００８７】

用語「アミノカルボニル」または用語「アミノアシル」とは、－Ｃ（Ｏ）ＮＲ^{21}Ｒ^{22}基を指し、式中、Ｒ^{21}及びＲ^{22}は、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、複素環、及び置換複素環からなる群から選択され、Ｒ^{21}及びＲ^{22}は、場合により、それらに結合した窒素と一緒になって複素環または置換複素環基を形成し、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、複素環、及び置換複素環は、本明細書中に定義するとおりである。

【００８８】

用語「アシルオキシ」とは、アルキル－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、置換アルキル－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、シクロアルキル－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、置換シクロアルキル－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、アリール－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、ヘテロアリール－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、及びヘテロシクリル－Ｃ（Ｏ）Ｏ－から選択される基を指し、アルキル、置換アルキル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、及びヘテロシクリルは、本明細書中に定義するとおりである。

【００８９】

用語「アミノスルホニル」とは、－ＳＯ$_2$ＮＲ^{21}Ｒ^{22}基を指し、Ｒ^{21}及びＲ^{22}は、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、複素環、置換複素環からなる群から選択される基を指し、Ｒ^{21}及びＲ^{22}は、場合により、それらに結合した窒素と一緒になって複素環または置換複素環の基を形成し、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、複素環及び置換複素環は、本明細書中に定義するとおりである。

【００９０】

用語「スルホニルアミノ」とは、－ＮＲ^{21}ＳＯ$_2$Ｒ^{22}基を指し、式中、Ｒ^{21}及びＲ^{22}は、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、複素環、及び置換複素環からなる群から選択され、Ｒ^{21}及びＲ^{22}は、場合により、それらに結合した原子と一緒になって複素環または置換複素環の基を形成し、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキ

ル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、複素環、及び置換複素環は、本明細書中に定義するとおりである。

【００９１】

用語「アリール」とは、単一環（フェニル基中に存在するような）を有する６～１８個の炭素原子の一価芳香族炭素環式基または複数の縮合環を有する環系（そのような芳香環系の例として、ナフチル、アントリル及びインダニルが挙げられる）を指し、結合点が芳香環の原子を介してさえいれば、縮合環は芳香族であってもなくてもよい。本用語には、例えば、フェニル及びナフチルが含まれる。アリール置換基についての定義によって特段の制限を受けない限り、そのようなアリール基を、場合により、アシルオキシ、ヒドロキシ、チオール、アシル、アルキル、アルコキシ、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、置換アルキル、置換アルコキシ、置換アルケニル、置換アルキニル、置換シクロアルキル、置換シクロアルケニル、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アシルアミノ、アルカリール、アリール、アリールオキシ、アジド、カルボキシル、カルボキシアルキル、シアノ、ハロゲン、ニトロ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、アミノアシルオキシ、オキシアシルアミノ、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、－ＳＯ－アルキル、－ＳＯ－置換アルキル、－ＳＯ－アリール、－ＳＯ－ヘテロアリール、－SO_2－アルキル、－SO_2－置換アルキル、－SO_2－アリール、－SO_2－ヘテロアリール及びトリハロメチルから選択される１～５個の置換基、または１～３個の置換基で置換することができる。

【００９２】

用語「アリールオキシ」とは、－Ｏ－アリール基を指し、アリールは、本明細書中に定義するとおりであり、例として、フェノキシ、ナフトキシなどが挙げられ、場合により、本明細書中に定義する置換アリール基が含まれる。

【００９３】

用語「アミノ」とは、－NH_2基を指す。

【００９４】

用語「置換アミノ」とは、－ＮＲＲ基を指し、式中、各Ｒは、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、アルケニル、置換アルケニル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、ヘテロアリール、及びヘテロシクリルからなる群から選択されるが、ただし、少なくとも１つのＲは水素ではない。

【００９５】

用語「アジド」は、－N_3基を指す。

【００９６】

用語「カルボキシル」、「カルボキシ」または「カルボキシレート」とは、－CO_2Hまたはそれらの塩を指す。

【００９７】

用語「カルボキシルエステル」もしくは「カルボキシエステル」または用語「カルボキシアルキル」もしくは「カルボキシルアルキル」とは、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－アルキル、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－置換アルキル、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－アルケニル、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－置換アルケニル、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－アルキニル、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－置換アルキニル、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－置換アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－シクロアルキル、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－置換シクロアルキル、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－シクロアルケニル、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－置換シクロアルケニル、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－ヘテロアリール、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－置換ヘテロアリール、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－複素環、及び－Ｃ（Ｏ）Ｏ－置換複素環から選択される基を指し、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、複素環、及び置換複素環は、本明細書中に定義すると

おりである。
【００９８】
用語「シアノ」または「ニトリル」は、－ＣＮ基を指す。
【００９９】
用語「シクロアルキル」とは、縮合、架橋、及びスピロ環系を含む、単環式または多環式環を有する、３～１０個の炭素原子の環式アルキル基を指す。適切なシクロアルキル基の例として、例えば、アダマンチル、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロオクチルなどが挙げられる。
【０１００】
用語「置換シクロアルキル」とは、アルキル、置換アルキル、アルコキシ、置換アルコキシ、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アミノアシルオキシ、オキシアミノアシル、アジド、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、オキソ、チオケト、カルボキシル、カルボキシアルキル、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、チオヘテロシクロオキシ、チオール、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、ヒドロキシアミノ、アルコキシアミノ、ニトロ、－ＳＯ－アルキル、－ＳＯ－置換アルキル、－ＳＯ－アリール、－ＳＯ－ヘテロアリール、－SO_2－アルキル、－SO_2－置換アルキル、－SO_2－アリール及び－SO_2－ヘテロアリールから選択される、１～５個の置換基、または１～３個の置換基を有するシクロアルキル基を指す。
【０１０１】
用語「シクロアルケニル」とは、単環または多環を有し、少なくとも１つの二重結合、好ましくは１～２個の二重結合を有する、３～１０個の炭素原子の非芳香環式アルキル基を指す。
【０１０２】
用語「置換シクロアルケニル」とは、１～５個の置換基、または１～３個の置換基を有するシクロアルケニル基を指し、置換基は、アルコキシ、置換アルコキシ、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アミノアシルオキシ、オキシアミノアシル、アジド、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、ケト、チオケト、カルボキシル、カルボキシアルキル、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、チオヘテロシクロオキシ、チオール、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、ヒドロキシアミノ、アルコキシアミノ、ニトロ、－ＳＯ－アルキル、－ＳＯ－置換アルキル、－ＳＯ－アリール、－ＳＯ－ヘテロアリール、－SO_2－アルキル、－SO_2－置換アルキル、－SO_2－アリール及び－SO_2－ヘテロアリールから独立して選択される。
【０１０３】
用語「ハロ」または「ハロゲン」とは、フルオロ、クロロ、ブロモ、及びヨードを指す。
【０１０４】
用語「ヒドロキシ」及び「ヒドロキシル」とは、－ＯＨ基を指す。
【０１０５】
用語「ヘテロアリール」とは、環内に、１～１５個の炭素原子、例えば１～１０個の炭素原子と、酸素、窒素、及び硫黄からなる群から選択される１～１０個のヘテロ原子の芳香族基を指す。そのようなヘテロアリール基は、単環（例えば、ピリジニル、イミダゾリルまたはフリル）を有するか、または環系内に複数の縮合環（例えば、インドリジニル、キノリニル、ベンゾフラン、ベンズイミダゾリルまたはベンゾチエニルなどの基におけるように）を有することができ、その場合、環系内の少なくとも１つの環は芳香族である。価数の必要条件を満たすために、かかるヘテロアリール環における任意のヘテロ原子は、

Hまたは置換基、例えば、本明細書に記載されるアルキル基または他の置換基に結合していてもよく、またはしていなくてもよい。いくつかの実施形態では、ヘテロアリール基の窒素及び／または硫黄環原子（複数可）は、場合により酸化され、Ｎ－オキシド（Ｎ→Ｏ）、スルフィニル、またはスルホニル部分を提供する。本用語には、例えば、ピリジニル、ピロリル、インドリル、チオフェニル、及びフラニルが含まれる。ヘテロアリール置換基についての定義により特段の制限を受けない限り、そのようなヘテロアリール基を、場合により、１～５個の置換基、または１～３個の置換基で置換することができ、置換基は、アシルオキシ、ヒドロキシ、チオール、アシル、アルキル、アルコキシ、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、置換アルキル、置換アルコキシ、置換アルケニル、置換アルキニル、置換シクロアルキル、置換シクロアルケニル、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アシルアミノ、アルカリール、アリール、アリールオキシ、アジド、カルボキシル、カルボキシルアルキル、シアノ、ハロゲン、ニトロ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、アミノアシルオキシ、オキシアシルアミノ、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、－ＳＯ－アルキル、－ＳＯ－置換アルキル、－ＳＯ－アリール、ＳＯ－ヘテロアリール、－SO_2－アルキル、－SO_2－置換アルキル、－SO_2－アリール及び－SO_2－ヘテロアリール、ならびにトリハロメチルから独立して選択される。

【０１０６】

用語「ヘテロアラルキル」とは、ヘテロアリールに結合されたアルキレンを含む基を指し、アルキレン及びヘテロアリールは、本明細書中に定義するとおりである。本用語には、例えば、ピリジルメチル、ピリジルエチル、インドリルメチルなどが含まれる。

【０１０７】

用語「ヘテロアリールオキシ」とは、－Ｏ－ヘテロアリールを指す。

【０１０８】

用語「複素環」、「複素環式」、「ヘテロシクロアルキル」、及び「ヘテロシクリル」とは、縮合架橋及びスピロ環系を含む、単環または複数の縮合環を有し、１～１０個のヘテロ原子を含む３～２０個の環原子を有する飽和または不飽和基を指す。これらの環原子は、窒素、硫黄、または酸素から選択され、縮合環系では、結合点が非芳香環を介する限りにおいて、１つ以上の環は、シクロアルキル、アリール、またはヘテロアリールであり得る。いくつかの実施形態では、複素環基の窒素及び／または硫黄原子（複数可）を、場合により酸化させ、Ｎ－オキシド、－Ｓ（Ｏ）－、または－SO_2－部分を提供する。価数の必要条件を満たすために、かかる複素環基における任意のヘテロ原子は、１つ以上のHまたは１つ以上の置換基（複数可）、例えば、本明細書に記載されるアルキル基または他の置換基に結合していてもよく、またはしていなくてもよい。

【０１０９】

複素環及びヘテロアリールの例として、アゼチジン、ピロール、イミダゾール、ピラゾール、ピリジン、ピラジン、ピリミジン、ピリダジン、インドリジン、イソインドール、インドール、ジヒドロインドール、インダゾール、プリン、キノリジン、イソキノリン、キノリン、フタラジン、ナフチルピリジン、キノキサリン、キナゾリン、シンノリン、プテリジン、カルバゾール、カルボリン、フェナントリジン、アクリジン、フェナントロリン、イソチアゾール、フェナジン、イソキサゾール、フェノキサジン、フェノチアジン、イミダゾリジン、イミダゾリン、ピペリジン、ピペラジン、インドリン、フタルイミド、１，２，３，４－テトラヒドロイソキノリン、４，５，６，７－テトラヒドロベンゾ［ｂ］チオフェン、チアゾール、チアゾリジン、チオフェン、ベンゾ［ｂ］チオフェン、モルホリニル、チオモルホリニル（チアモルホリニルとも呼ばれる）、１，１－ジオキソチオモルホリニル、ピペリジニル、ピロリジン、テトラヒドロフラニルなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１１０】

複素環式置換基についての定義により特段の制限を受けない限り、そのような複素環基

を、場合により、アルコキシ、置換アルコキシ、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アミノアシルオキシ、オキシアミノアシル、アジド、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、オキソ、チオケト、カルボキシル、カルボキシルアルキル、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、チオヘテロシクロオキシ、チオール、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、ヒドロキシアミノ、アルコキシアミノ、ニトロ、－ＳＯ－アルキル、－ＳＯ－置換アルキル、－ＳＯ－アリール、－ＳＯ－ヘテロアリール、－SO_2－アルキル、－SO_2－置換アルキル、－SO_2－アリール、－SO_2－ヘテロアリール、及び縮合複素環から選択される１～５個、または１～３個の置換基で置換することができる。

【０１１１】

用語「ヒドロキシアミノ」とは、－ＮＨＯＨ基を指す。

【０１１２】

用語「ニトロ」とは、－NO_2基を指す。

【０１１３】

用語「オキソ」は、二重結合した酸素原子（＝Ｏ）を指す。

【０１１４】

用語「スルホニル」とは、－SO_2－アルキル、－SO_2－置換アルキル、－SO_2－アルケニル、－SO_2－置換アルケニル、－SO_2－シクロアルキル、－SO_2－置換シクロアルキル、－SO_2－シクロアルケニル、－SO_2－置換シクロアルケニル、－SO_2－アリール、－SO_2－置換アリール、－SO_2－ヘテロアリール、－SO_2－置換ヘテロアリール、－SO_2－複素環、及び－SO_2－置換複素環基を指し、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、複素環、及び置換複素環は、本明細書中に定義するとおりである。スルホニルには、例えば、メチル－SO_2－、フェニル－SO_2－、及び４－メチルフェニル－SO_2－が含まれる。

【０１１５】

用語「チオール」とは、－ＳＨ基を指す。

【０１１６】

用語「チオキソ」または用語「チオケト」とは、原子（＝Ｓ）を指す。

【０１１７】

用語「アルキルチオ」または用語「チオアルコキシ」とは、－Ｓ－アルキル基を指し、アルキルは本明細書中に定義するとおりである。一部の実施形態では、硫黄は、－Ｓ（Ｏ）－に酸化させることができる。スルホキシドは、１つ以上の立体異性体として存在し得る。

【０１１８】

用語「置換チオアルコキシ」とは、－Ｓ－置換アルキル基を指す。

【０１１９】

用語「チオアリールオキシ」とは、アリール－Ｓ－基を指し、アリール基は、本明細書中に定義するとおりであり、これには任意置換のアリール基が含まれ、これらもまた本明細書中に定義するとおりである。

【０１２０】

用語「チオヘテロアリールオキシ」とは、ヘテロアリール－Ｓ－基を指し、ヘテロアリール基は、本明細書中に定義するとおりであり、これには任意置換のアリール基が含まれ、これらもまた本明細書中に定義するとおりである。

【０１２１】

用語「チオヘテロシクロオキシ」とは、ヘテロシクリル－Ｓ－基を指し、ヘテロシクリル基は、本明細書中に定義するとおりであり、これには任意置換のヘテロシクリル基が含

まれ、これらもまた本明細書中に定義するとおりである。

【０１２２】

本明細書における開示に加えて、用語「置換」は、特定の基またはラジカルを修飾するために使用する場合、特定の基またはラジカルの１つ以上の水素原子を、それぞれ互いに独立して、以下に定義するような同一または異なる置換基で置換することも意味し得る。

【０１２３】

本明細書中の個々の用語に関して開示する基に加えて、特定の基またはラジカル中の飽和炭素原子上の１つ以上の水素を置換するための置換基（単一炭素上の任意の２個の水素を、＝Ｏ、＝ＮＲ^{70}、＝Ｎ－ＯＲ^{70}、＝Ｎ$_2$または＝Ｓで置換することができる）は、特に明記しない限り、－Ｒ^{60}、ハロ、＝Ｏ、－ＯＲ^{70}、－ＳＲ^{70}、－ＮＲ^{80}Ｒ^{80}、トリハロメチル、－ＣＮ、－ＯＣＮ、－ＳＣＮ、－ＮＯ、－ＮＯ$_2$、＝Ｎ$_2$、－Ｎ$_3$、－ＳＯ$_2$Ｒ^{70}、－ＳＯ$_2$Ｏ$^-$Ｍ$^+$、－ＳＯ$_2$ＯＲ^{70}、－ＯＳＯ$_2$Ｒ^{70}、－ＯＳＯ$_2$Ｏ$^-$Ｍ$^+$、－ＯＳＯ$_2$ＯＲ^{70}、
－Ｐ（Ｏ）（Ｏ$^-$）$_2$（Ｍ$^+$）$_2$、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ^{70}）Ｏ$^-$Ｍ$^+$、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ^{70}）$_2$、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{70}、－Ｃ（Ｓ）Ｒ^{70}、－Ｃ（ＮＲ^{70}）Ｒ^{70}、－Ｃ（Ｏ）Ｏ$^-$Ｍ$^+$、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{70}、－Ｃ（Ｓ）ＯＲ^{70}、－Ｃ（Ｏ）ＮＲ^{80}Ｒ^{80}、－Ｃ（ＮＲ^{70}）ＮＲ^{80}Ｒ^{80}、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ^{70}、－ＯＣ（Ｓ）Ｒ^{70}、－ＯＣ（Ｏ）Ｏ$^-$Ｍ$^+$、－ＯＣ（Ｏ）ＯＲ^{70}、－ＯＣ（Ｓ）ＯＲ^{70}、－ＮＲ^{70}Ｃ（Ｏ）Ｒ^{70}、－ＮＲ^{70}Ｃ（Ｓ）Ｒ^{70}、－ＮＲ^{70}ＣＯ$_2$$^-$Ｍ$^+$、－ＮＲ^{70}ＣＯ$_2$Ｒ^{70}、－ＮＲ^{70}Ｃ（Ｓ）ＯＲ^{70}、－ＮＲ^{70}Ｃ（Ｏ）ＮＲ^{80}Ｒ^{80}、－ＮＲ^{70}Ｃ（ＮＲ^{70}）Ｒ^{70}及び－ＮＲ^{70}Ｃ（ＮＲ^{70}）ＮＲ^{80}Ｒ^{80}であり、式中、Ｒ^{60}は、任意置換のアルキル、シクロアルキル、ヘテロアルキル、ヘテロシクロアルキルアルキル、シクロアルキルアルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール及びヘテロアリールアルキルからなる群から選択され、各Ｒ^{70}は、独立して、水素またはＲ^{60}であり、各Ｒ^{80}は、独立してＲ^{70}であるか、あるいは２つのＲ^{80}が、それらが結合している窒素原子と一緒になって５、６または７員ヘテロシクロアルキルを形成し、それは、場合により、Ｏ、Ｎ及びＳからなる群（そのうちのＮは、－ＨまたはＣ$_1$－Ｃ$_6$アルキル置換を有していてもよい）から選択される１～４個の同一または異なる追加のヘテロ原子を有していてもよく；各Ｍ$^+$は、正電荷を有する対イオンである。各Ｍ$^+$は、独立して、例えば、Ｋ$^+$、Ｎａ$^+$、Ｌｉ$^+$などのアルカリイオン；例えば$^+$Ｎ（Ｒ^{60}）$_4$などのアンモニウムイオン；または、［Ｃａ$^{2+}$］$_{0.5}$、［Ｍｇ$^{2+}$］$_{0.5}$、または［Ｂａ$^{2+}$］$_{0.5}$などのアルカリ土類イオンであってもよい（「下付き文字０．５」は、そのような二価アルカリ土類イオンの対イオンの一方を本発明の化合物のイオン化形態、もう一方を塩化物などの典型的な対イオンとすることができるか、または本明細書に開示する２つのイオン化化合物が、そのような二価アルカリ土類イオンに対する対イオンとして作用することができるか、または本発明の二重イオン化化合物が、そのような二価アルカリ土類イオンに対する対イオンとして作用することができることを意味する）。具体例として、－ＮＲ^{80}Ｒ^{80}は、－ＮＨ$_2$、－ＮＨ－アルキル、Ｎ－ピロリジニル、Ｎ－ピペラジニル、４Ｎ－メチル－ピペラジン－１－イル及びＮ－モルホリニルが挙げられる。

【０１２４】

本明細書における開示に加えて、「置換」アルケニル、アルキニル、アリール及びヘテロアリール基における不飽和炭素原子上の水素の置換基は、特に明記しない限り、－Ｒ^{60}、ハロ、－Ｏ$^-$Ｍ$^+$、－ＯＲ^{70}、－ＳＲ^{70}、－Ｓ$^-$Ｍ$^+$、－ＮＲ^{80}Ｒ^{80}、トリハロメチル、－ＣＦ$_3$、－ＣＮ、－ＯＣＮ、－ＳＣＮ、－ＮＯ、－ＮＯ$_2$、－Ｎ$_3$、－ＳＯ$_2$Ｒ^{70}、－ＳＯ$_3$$^-$Ｍ$^+$、－ＳＯ$_3$Ｒ^{70}、－ＯＳＯ$_2$Ｒ^{70}、－ＯＳＯ$_3$$^-$Ｍ$^+$、－ＯＳＯ$_3$Ｒ^{70}、－ＰＯ$_3$$^{-2}$（Ｍ$^+$）$_2$、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ^{70}）Ｏ$^-$Ｍ$^+$、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ^{70}）$_2$、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{70}、－Ｃ（Ｓ）Ｒ^{70}、－Ｃ（ＮＲ^{70}）Ｒ^{70}、－ＣＯ$_2$$^-$Ｍ$^+$、－ＣＯ$_2$Ｒ^{70}、－Ｃ（Ｓ）ＯＲ^{70}、－Ｃ（Ｏ）ＮＲ^{80}Ｒ^{80}、－Ｃ（ＮＲ^{70}）ＮＲ^{80}Ｒ^{80}、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ^{70}、－ＯＣ（Ｓ）Ｒ^{70}、－ＯＣＯ$_2$$^-$Ｍ$^+$、－ＯＣＯ$_2$Ｒ^{70}、－ＯＣ（Ｓ）ＯＲ^{70}、－ＮＲ^{70}Ｃ（Ｏ）Ｒ^{70}、－ＮＲ^{70}Ｃ（Ｓ）Ｒ

７０、－ＮＲ７０ＣＯ２－Ｍ＋、－ＮＲ７０ＣＯ２Ｒ７０、－ＮＲ７０Ｃ（Ｓ）ＯＲ７０、－ＮＲ７０Ｃ（Ｏ）ＮＲ８０Ｒ８０、－ＮＲ７０Ｃ（ＮＲ７０）Ｒ７０及び－ＮＲ７０Ｃ（ＮＲ７０）ＮＲ８０Ｒ８０であり、式中、Ｒ６０、Ｒ７０、Ｒ８０及びＭ＋は、本明細書に定義したとおりであり、ただし、置換アルケニルまたはアルキニルの場合、置換基は、－Ｏ－Ｍ＋、－ＯＲ７０、－ＳＲ７０、または－Ｓ－Ｍ＋ではない。

【０１２５】

本明細書中の個々の用語に関して開示する基に加えて、「置換」ヘテロアルキル及びシクロヘテロアルキル基中の窒素原子上の水素の置換基は、特に明記しない限り、－Ｒ６０、－Ｏ－Ｍ＋、－ＯＲ７０、－ＳＲ７０、－Ｓ－Ｍ＋、－ＮＲ８０Ｒ８０、トリハロメチル、－ＣＦ３、－ＣＮ、－ＮＯ、－ＮＯ２、－Ｓ（Ｏ）２Ｒ７０、－Ｓ（Ｏ）２Ｏ－Ｍ＋、－Ｓ（Ｏ）２ＯＲ７０、－ＯＳ（Ｏ）２Ｒ７０、－ＯＳ（Ｏ）２Ｏ－Ｍ＋、－ＯＳ（Ｏ）２ＯＲ７０、－Ｐ（Ｏ）（Ｏ－）２（Ｍ＋）２、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ７０）Ｏ－Ｍ＋、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ７０）（ＯＲ７０）、－Ｃ（Ｏ）Ｒ７０、－Ｃ（Ｓ）Ｒ７０、－Ｃ（ＮＲ７０）Ｒ７０、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ７０、－Ｃ（Ｓ）ＯＲ７０、－Ｃ（Ｏ）ＮＲ８０Ｒ８０、－Ｃ（ＮＲ７０）ＮＲ８０Ｒ８０、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ７０、－ＯＣ（Ｓ）Ｒ７０、－ＯＣ（Ｏ）ＯＲ７０、－ＯＣ（Ｓ）ＯＲ７０、－ＮＲ７０Ｃ（Ｏ）Ｒ７０、－ＮＲ７０Ｃ（Ｓ）Ｒ７０、－ＮＲ７０Ｃ（Ｏ）ＯＲ７０、－ＮＲ７０Ｃ（Ｓ）ＯＲ７０、－ＮＲ７０Ｃ（Ｏ）ＮＲ８０Ｒ８０、－ＮＲ７０Ｃ（ＮＲ７０）Ｒ７０及び－ＮＲ７０Ｃ（ＮＲ７０）ＮＲ８０Ｒ８０であり、式中、Ｒ６０、Ｒ７０、Ｒ８０及びＭ＋は、以前に定義したとおりである。

【０１２６】

置換されている基は、１、２、３または４個の置換基、例えば、１、２、もしくは３個の置換基、または１個もしくは２個の置換基、または１つの置換基を有し得る。

【０１２７】

特に明記しない限り、本明細書に明示的に定義していない置換基の命名法は、官能基の末端部分に続いて結合点に向かって隣接する官能基を命名することによって得られる。例えば、置換基「アリールアルキルオキシカルボニル」は、（アリール）－（アルキル）－Ｏ－Ｃ（Ｏ）－基を指す。

【０１２８】

１つ以上の置換基を含む本明細書に開示する基のいずれに関しても、当然のことながら、そのような基は立体的に非現実的及び／または合成的に実行不可能ないかなる置換または置換パターンも含まないことが理解される。さらに、本発明の化合物は、これらの化合物の置換から生じる全ての立体化学異性体を含む。

【０１２９】

用語「対象」とは、ヒト及び非ヒトの対象、特に哺乳類の対象を指す。

【０１３０】

本明細書で使用される用語「治療する」または「治療」とは、対象、例えば哺乳類（特にヒト）における疾患または病状を治療することまたはその治療を意味し、（ａ）対象の予防的治療など、疾患または病状を防ぐこと、（ｂ）対象において、疾患または病状を除去するまたは退縮させるなど疾患または病状を改善すること、（ｃ）例えば、対象において疾患または病状の発症を遅延もしくは停止させるなど、疾患もしくは病状を抑制すること、または（ｄ）対象において、疾患または病状の症状を軽減する、ことが含まれる。いくつかの実施形態では、「治療すること」または「治療」という用語は、予防的治療を除外する。

【０１３１】

本明細書で使用される「天然アミノ酸配列」という用語は、修飾アミノ酸残基を含む修飾前のポリペプチドのアミノ酸配列を指す。

【０１３２】

「アミノ酸類似体」、「非天然アミノ酸」などの用語は互換的に使用され、天然のタンパク質に一般的に見られる１つ以上のアミノ酸と構造及び／または全体的な形状が類似しているアミノ酸様化合物を含む（例えば、ＡｌａまたはＡ、ＣｙｓまたはＣ、Ａｓｐまた

はＤ、ＧｌｕまたはＥ、ＰｈｅまたはＦ、ＧｌｙまたはＧ、ＨｉｓまたはＨ、ＩｌｅまたはＩ、ＬｙｓまたはＫ、ＬｅｕまたはＬ、ＭｅｔまたはＭ、ＡｓｎまたはＮ、ＰｒｏまたはＰ、ＧｌｎまたはＱ、ＡｒｇまたはＲ、ＳｅｒまたはＳ、ＴｈｒまたはＴ、ＶａｌまたはＶ、ＴｒｐまたはＷ、ＴｙｒまたはＹ）。アミノ酸類似体にはまた、修飾された側鎖または骨格を有する天然アミノ酸も含まれる。アミノ酸類似体にはまた、天然に存在するＤ型及びＬ型のアミノ酸類似体と同じ立体化学を有するアミノ酸類似体も含まれる。一部の実施形態では、アミノ酸類似体は、１つ以上の天然アミノ酸の骨格構造、及び／または側鎖構造を共有し、差異（複数可）は、分子内の１つ以上の修飾基である。かかる修飾としては、これらに限定されるものではないが、原子（Ｎなど）の関連原子（Ｓなど）への置換、基（メチル、またはヒドロキシルなど）または原子（ＣｌまたはＢｒなど）の追加、基の削除、共有結合の置換（二重結合を単結合へなど）、またはそれらの組み合わせを含み得る。例えば、アミノ酸アナログとしては、α－ヒドロキシ酸、及びα－アミノ酸などが挙げられ得る。

【０１３３】

「アミノ酸側鎖」という用語は、天然アミノ酸、非天然アミノ酸、及びアミノ酸類似体を含むアミノ酸残基のα炭素に結合した置換基を指すために使用される。アミノ酸側鎖はまた、本明細書に記載される修飾アミノ酸及び／またはコンジュゲートの文脈に記載されるアミノ酸側鎖も含み得る。

【０１３４】

「炭水化物」という用語は、単糖、二糖、オリゴ糖、及び多糖のモノマー単位及び／またはポリマーを指すために使用される。糖という用語は、単糖類、二糖類などのより小さな炭水化物を指すために使用される。「炭水化物誘導体」という用語は、目的の炭水化物の１つ以上の官能基が置換され（任意の簡便な置換基によって置き換えられ）、修飾され（任意の簡便な化学作用を使用して別の基に変換され）、または不在である（例えば、Ｈによって除去されまたは置き換えられている）化合物を含む。様々な炭水化物及び炭水化物誘導体が利用可能であり、対象の化合物及びコンジュゲートにおける使用に適合させることができる。

【０１３５】

「グリコシド」または「グリコシル」という用語は、グリコシド結合を介してある部分に結合した糖分子または基を指す。例えば、グリコシドが結合している部分は、本明細書に記載される開裂性リンカーであり得る。グリコシド結合は、Ｏ－グリコシド結合（Ｏ－グリコシド）、Ｎ－グリコシド結合（グリコシルアミン）、Ｓ－グリコシド結合（チオグリコシド）、またはＣ－グリコシド結合（Ｃ－グリコシドまたは Ｃ－グリコシル）などであるがこれらに限定されない様々なタイプの結合を介してグリコシドを他の部分に連結し得る。場合によっては、グリコシドは、それらが結合している部分から、例えば、化学媒介型加水分解または酵素媒介型加水分解によって開裂し得る。

【０１３６】

「５Ｔ４」という用語は、別途示されない限り、ポリペプチド（「ポリペプチド」と「タンパク質」とは本明細書において互換的に使用される）、または霊長類（例えば、ヒト、カニクイザル（ｃｙｎｏ））、イヌ、ならびにげっ歯類（例えば、マウス及びラット）などの哺乳類を含む、任意の脊椎のソースからの任意の天然５Ｔ４を指す。「５Ｔ４がん胎児トロホブラスト糖タンパク質」または「Ｗｎｔ活性化阻害因子１」または「５Ｔ４腫瘍栄養芽細胞糖タンパク質」または「５Ｔ４がん胎児抗原」または「ＷＡＩＦ１」または「Ｍ６Ｐ１」または「５Ｔ４－ＡＧ」または「５Ｔ４ＡＧ」または「ＴＰＢＧ」としても知られる５Ｔ４は、ＴＰＢＧ遺伝子によってコードされる糖タンパク質である。「５Ｔ４」という用語は、「完全長」の５Ｔ４、ならびに細胞内の処理から生じる５Ｔ４の任意の形態または任意のその断片を包含する。いくつかの実施形態では、５Ｔ４は、シグナル配列を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４は、シグナル配列を含まない。いくつかの実施形態では、５Ｔ４という用語は、５Ｔ４細胞外ドメインを含む完全長５Ｔ４の断片を指す。５Ｔ４という用語は、５Ｔ４の天然に存在する変異型、例えば、ＳＮＰ変異型、スプ

ライス変異型、及び対立遺伝子変異型も包含する。ヒト５Ｔ４の全長アミノ酸配列を以下に示す（例示的なシグナル配列＝イタリック体、例示的な細胞外ドメイン＝下線）。

【化２２】

*MPGGCSRGPA AGDGRLRLAR LALVLLGWVS S*SSPTSSASS FSSSAPFLAS AVSAQPPLPD
QCPALCECSE AARTVKCVNR NLTEVPTDLP AYVRNLFLTG NQLAVLPAGA FARRPPLAEL
AALNLSGSRL DEVRAGAFEH LPSLRQLDLS HNPLADLSPF AFSGSNASVS APSPLVELIL
NHIVPPEDER QNRSFEGMVV AALLAGRALQ GLRRLELASN HFLYLPRDVL AQLPSLRHLD
LSNNSLVSLT YVSFRNLTHL ESLHLEDNAL KVLHNGTLAE LQGLPHIRVF LDNNPWVCDC
HMADMVTWLK ETEVVQGKDR LTCAYPEKMR NRVLLELNSA DLDCDPILPP SLQTSYVFLG
IVLALIGAIF LLVLYLNRKG IKKWMHNIRD ACRDHMEGYH YRYEINADPR LTNLSSNSDV

（配列番号６４）

カニクイザル（ｃｙｎｏ）５Ｔ４の全長アミノ酸配列を以下に示す（例示的なシグナル配列＝イタリック体、例示的な細胞外ドメイン＝下線）。

【化２３】

*MPGGCSRGPA AGDGRLRLAR LALVLLGWVS S*SSSTSSASS SSSSAPFLAS AASAQPPLPD
QCPALCECSE AARTVKCVNR NLTEVPTDLP LYVRNLFLTG NQLAVLPAGA FARRPPLAEL
AALNLSGSRL DEVRGGAFEH LPSLRQLDLS HNPLAYLSPF AFSGSNASIS APSPLVELIL
NHIVPPDDKR QNRSFEGMVA AALVAGRALQ GLHLLELASN HFLYLPRDVL AQLPSLRYLD
LSNNSLVSLT YVSFRNLTHL ESLHLEDNAL KVLHNGTLAE LQGLPHVRVF LDNNPWVCDC
HMADMVTWLK QTGVVQGKDR LTCAFPEKMR NRVLLELNSA DLDCDPILPP SLQTSYVFLG
IVLALIGAIF LLVLYLNRKG IKKWMHNIRD ACRDHMEGYH YRYEINADPR LTNLSSNSDV

（配列番号６５）

マウス５Ｔ４の全長アミノ酸配列を以下に示す（例示的なシグナル配列＝イタリック体、例示的な細胞外ドメイン＝下線）。

【化２４】

*MPGAGSRGPS AGDGRLRLAR LALVLLGWVS A*SAPSSSVPS SSTSPAAFLA SGSAQPPPAE
RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL
EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL
NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP
SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN
PWVCDCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT
SYVFLGIVLA LIGAIFLLVL YLNRKGIKKW MHNIRDACRD HMEGYHYRYE INADPRLTNL
SSNSDV

（配列番号６６）

【０１３７】

「抗体」、「免疫グロブリン」、または「Ｉｇ」という用語は、本明細書中で区別なく使用され、最も広い意味で使用され、具体的には、例えば、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体（アゴニスト、アンタゴニスト、中和抗体、全長モノクローナル抗体を含む）、ポリエピトープまたはモノエピトープ特異性を有する抗体組成物、組み換えで生産された抗体、単一ドメイン抗体、単一特異性抗体、多特異性抗体（二重特異性抗体を含む）、合成抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、または全長重鎖及び／または軽鎖を有する抗体のヒトバージョンを包含する。抗体には、単一の抗体ドメイン、ならびに５Ｔ４結合特性を保持する抗体断片（及び／または抗体断片を含むポリペプチド）も含まれる。抗体断片の非限定的な例としては、抗体の抗原結合領域及び／またはエフェクター領域、例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、（ｓｃＦｖ）$_2$、一本鎖抗体分子、二重可変ドメイン抗体、単一可変ドメイン抗体、線状抗体、Ｖ領域、抗体断片から形成される多重特異性抗体、Ｆ（ａｂ）$_2$、Ｆｄ、Ｆｃ、ダイアボディ、ジダイアボディ、ジスルフィド結合Ｆｖ（ｄｓＦｖ）、単一ドメイン抗体（例えば、ナノボディ）または他の断片（例えば、非共有結合の重鎖及び軽鎖の可変領域からなる断片）を含む。一般的に言えば、可変（Ｖ）領域は、免疫グロブリンの重鎖（ＶＨ）及び／または軽鎖（ＶＬ）の可変領域の任意の好適な配置であり得る。例えば、抗体には、２つの重鎖分子及び２つの軽鎖分子を含む四量体抗体、抗体軽鎖単量体、及び抗体重鎖単量体も含まれる。したがって、例えば、Ｖ領域は二量体であってもよく、５Ｔ４に結合するＶＨ－ＶＨ、ＶＨ－ＶＬ、またはＶＬ－ＶＬ二量体を含み得る。任意の実施形態では、ＶＨ領域及びＶＬ領域は、直接的にまたはリンカーを介してのいずれかで共有結合され、単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）を形成し得る。参照を容易にするために、ｓｃＦｖタンパク質は、本明細書では「抗体断片」のカテゴリーに含まれるものとする。抗体断片の別の形態は、抗体の１つ以上の相補性決定領域（ＣＤＲ）を含むペプチドである。ＣＤＲ（「最小認識単位」または「超可変領域」とも呼ばれる）は、１つ以上の目的のＣＤＲをコードするポリヌクレオチドを構築することによって得ることができる。そのようなポリヌクレオチドは、例えば、テンプレートとして抗体生産細胞のｍＲＮＡを用いて、ポリメラーゼ鎖反応を使って変異領域を合成する（例えば、Ｌａｒｒｉｃｋ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ：Ａ Ｃｏｍｐａｎｉｏｎ ｔｏ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ，２：１０６（１９９１）；Ｃｏｕｒｔｅｎａｙ－Ｌｕｃｋ，“Ｇｅｎｅｔｉｃ Ｍａｎｉｐｕｌａｔｉｏｎ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，”ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ，Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ，Ｒｉｔｔｅｒ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），ｐａｇｅ １６６，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ（１９９５）；及びＷａｒｄ ｅｔ ａｌ．，“Ｇｅｎｅｔｉｃ Ｍａｎｉｐｕｌａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｆ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，”ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ｂｉｒｃｈ ｅｔ ａｌ．，（ｅｄｓ．），ｐａｇｅ １３７，Ｗｉｌｅｙ－Ｌｉｓｓ，Ｉｎｃ．（１９９５））を参照）。抗体断片は、例えば、単一ドメイン抗体、マキシボディ、ミニボディ、イントラボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、新規抗原受容体の可変領域（ｖ－ＮＡＲ）、及びビス単鎖Ｆｖ領域（例えば、Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ ａｎｄ Ｈｕｄｓｏｎ，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，２３（９）：１１２６－１１３６，２００５を参照）に組み入れることができる。いくつかの実施形態では、ＶＨ及び／またはＶＬを含む抗体は、軽鎖及び／または重鎖定常領域、例えば、１つ以上のＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３及び／またはＩｇＧ４定常領域を含む１つ以上の定常領域を含有する。いくつかの実施形態では、抗体は、上記のうちのいずれかのエピトープ結合断片を含み得る。本明細書で提供される抗体は、免疫グロブリン分子の任意のクラス（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、及びＩｇＡ）または任意のサブクラス（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１、及びＩｇＡ２）のものであり得る。

【０１３８】

本明細書中で使用する用語「単一特異性」とは、１つ以上の結合部位を有し、それらのそれぞれが同じ抗原の同じエピトープに結合する抗原結合タンパク質を指す。

【０１３９】

「二重特異性」という用語は、抗体が、少なくとも２つの別個の抗原決定基、例えば、異なる抗原または同じ抗原上の異なるエピトープに結合する、それぞれ抗体重鎖可変領域（ＶＨ）及び抗体軽鎖可変領域（ＶＬ）の対によって形成される２つの結合部位に特異的に結合することができることを意味する。このような二重特異性抗体は、１＋１フォーマット（第１の抗原またはエピトープに対する１つの結合部位及び第２の抗原またはエピトープに対する１つの結合部位を含む）を有し得る。他の二重特異性抗体フォーマットは、２＋１または１＋２フォーマット（第１の抗原またはエピトープに対する２つの結合部位と、第２の抗原またはエピトープに対する１つの結合部位を含む）、または２＋２フォーマット形式（第１の抗原またはエピトープに対する２つの結合部位、ならびに第２の抗原またはエピトープのための２つの結合部位を含む）であり得る。二重特異性抗体が２つの抗原結合部位を含む場合、それぞれが異なる抗原決定基に結合することができる。このような二重特異性抗体は、同じ抗原上の２つの異なるエピトープ（例えば、５Ｔ４上のエピトープ）に結合することができる。

【０１４０】

２つ以上の核酸またはポリペプチドの文脈における「同一の」または「同一性」パーセントという用語は、配列同一性の一部としていかなる保存的アミノ酸置換も考慮せずに、最大の対応関係を得るために比較及びアラインした場合（必要に応じてギャップを導入する場合）、同じであるか、または同じであるヌクレオチドまたはアミノ酸残基を指定の割合で有する２つ以上の配列または部分配列を指す。同一性パーセントは、配列比較ソフトウェアまたはアルゴリズムを使用して、または目視検査によって測定することができる。アミノ酸配列またはヌクレオチド配列のアラインメントを得るために使用することができる様々なアルゴリズム及びソフトウェアは、当技術分野で周知である。これらには、ｂａｓｉｃ ｌｏｃａｌ ａｌｉｇｎｍｅｎｔ ｓｅａｒｃｈ ｔｏｏｌ（ＢＬＡＳＴ）、ＡＬＩＧＮ、ＭｅｇＡｌｉｇｎ、ＢｅｓｔＦｉｔ、ＧＣＧ Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｐａｃｋａｇｅ、及びそれらのバリアントが含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、配列比較アルゴリズムを使用してまたは目視検査によって測定し、最大対応関係を比較及びアラインした場合、２つの核酸またはポリペプチドが実質的に同一であるとは、それらが少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、または少なくとも９０％、いくつかの実施形態では、少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％のヌクレオチドまたはアミノ酸残基の同一性を有することを意味する。いくつかの実施形態では、同一性は、少なくとも約１０残基、少なくとも約２０残基、少なくとも約４０～６０残基、少なくとも約６０～８０残基の長さ、またはそれらの間の任意の整数値であるアミノ酸配列の領域にわたって存在する。いくつかの実施形態では、同一性は、６０～８０残基よりも長い領域、例えば、少なくとも約８０～１００残基にわたって存在し、いくつかの実施形態では、配列は、比較される配列、例えば標的タンパク質または抗体のコード領域、の全長にわたって実質的に同一である。いくつかの実施形態では、同一性は、少なくとも約１０塩基、少なくとも約２０塩基、少なくとも約４０～６０塩基、少なくとも約６０～８０塩基の長さ、またはそれらの間の任意の整数値であるヌクレオチド配列の領域にわたって存在する。いくつかの実施形態では、同一性は、６０～８０塩基よりも長い領域、例えば、少なくとも約８０～１０００塩基以上にわたって存在し、いくつかの実施形態では、配列は、比較される配列、例えば目的のタンパク質をコードするヌクレオチド配列、の全長にわたって実質的に同一である。

【０１４１】

「保存的アミノ酸置換」とは、アミノ酸残基が、類似の側鎖を有するアミノ酸残基に置換されている置換である。類似の側鎖を有するアミノ酸残基ファミリーは、当該技術分野において定義されており、これらのファミリーとしては、塩基性側鎖（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷

電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、β分岐側鎖（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）及び芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を有するアミノ酸が挙げられる。例えば、フェニルアラニンをチロシンに置換することは保存的置換である。一般に、本開示のポリペプチド、可溶性タンパク質、及び／または抗体の配列における保存的置換は、アミノ酸配列を含有するポリペプチド、可溶性タンパク質、または抗体の標的結合部位への結合を阻害しない。結合を排除しないアミノ酸保存的置換を同定する方法は、当技術分野で周知である。

【０１４２】

「ポリペプチド」という用語は、任意の長さのアミノ酸のポリマーを指す。ポリマーは、直鎖状であっても分岐状であってもよく、修飾アミノ酸を含んでもよく、非アミノ酸を含み得る（例えば、それによって置換され得る）。これらの用語はまた、天然にまたは介入によって修飾されたアミノ酸ポリマー、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化、または、例えば、標識成分もしくは薬剤などの部分（例えば毒素）とリンクまたはコンジュゲーション（直接または間接的に）など任意の他の操作もしくは修飾も抱合する。この定義に同様に含まれるのは、例えば、アミノ酸（例えば、非天然アミノ酸等を含む）の１つ以上の類似体を含むポリペプチド、及び当技術分野で既知の他の修飾である。本開示のポリペプチドは抗体または他の免疫グロブリンスーパーファミリーに基づくことが可能なため、いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、一本鎖または結合鎖として存在し得ることが理解される。

【０１４３】

本明細書で使用される場合、「抗原」は、抗体が結合することができるエピトープを含む部分または分子である。かくして、抗原は抗体によって結合され得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体が結合する抗原は、５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）、またはその断片、例えば、５Ｔ４の１つ以上の領域を含むである。

【０１４４】

本明細書で使用される場合、「エピトープ」は、当該技術分野における用語であり、抗体が結合することができる抗原の局在領域を指す。エピトープは、線状エピトープまたは高次構造、非線状、もしくは不連続エピトープであり得る。ポリペプチド抗原の場合、例えば、エピトープは、ポリペプチドの連続したアミノ酸であるか（「線状」エピトープ）、あるいは、エピトープは、ポリペプチドの２つ以上の非連続領域のアミノ酸（「高次構造」、「非線状」または「不連続」エピトープ）、例えばヒト５Ｔ４を含み得る。一般に、線状エピトープは、二次、三次、または四次構造に依存する場合もあれば、しない場合もあることが当業者には理解されるであろう。例えば、いくつかの実施形態において、抗体は、天然の三次元タンパク質構造に折り畳まれるかどうかに関係なく、アミノ酸の群に結合する。他の実施形態において、抗体は、エピトープを認識し結合するために、エピトープを構成するアミノ酸残基が特定の高次構造（例えば、屈曲、ねじれ、回転または折り畳み）を示すことを必要とする。

【０１４５】

抗体は、参照抗体として、「エピトープ」、「本質的に同じエピトープ」、または「同じエピトープ」に結合する。２つの抗体が三次元空間内の同一のエピトープ、重複するエピトープ、または隣接するエピトープに結合するかどうかを決定するための最も広く使用されている迅速な方法は競合アッセイであり、この競合アッセイは、例えば、標識抗原または標識された抗体のいずれかを用いて様々な異なるフォーマットで構成され得る。一部のアッセイでは、抗原を９６ウェルプレートに固定化するか、または細胞表面に発現させ、標識されていない抗体が標識された抗体の結合をブロックする能力を、放射性、蛍光、または酵素標識を使用して測定する。

【０１４６】

「エピトープビニング」は、抗体が認識するエピトープに基づいて抗体を分類するプロ

セスである。より具体的には、エピトープビニングは、そのエピトープ認識特性に基づいて抗体をクラスター化し、異なる結合特異性を有する抗体を同定するための計算プロセスと組み合わせた競合アッセイを使用して、異なる抗体のエピトープ認識特性を識別するための方法及びシステムを含む。抗体のエピトープビニング及びエピトープ結合の判定方法に関するさらなる詳細は、実施例５に示すように、本明細書に記載する。

【０１４７】

本明細書で使用される場合、「特異的に結合する」、「特異的に認識する」、「免疫特異的に結合する」、「選択的に結合する」、「免疫特異的に認識する」、及び「免疫特異的」という用語は、抗体の文脈における類似した用語であり、当業者によって理解されるように、抗原（例えば、エピトープ）に結合する分子を指す。

【０１４８】

いくつかの実施形態では、「特異的に結合する」とは、例えば、ポリペプチドまたは分子が、関連する及び関連のないタンパク質を含む代替物質に比べて、エピトープ、タンパク質、もしくは標的分子に対して、より頻繁に、より速く、より長い期間、より高い親和性で、または上記のいずれかの組み合わせで、相互作用することを意味する。例えば、抗原に特異的に結合する分子は、例えば、イムノアッセイ、ＢＩＡＣＯＲＥ（商標）、ＫｉｎＥｘＡ　３０００機器（Ｓａｐｉｄｙｎｅ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ，　Ｂｏｉｓｅ，ＩＤ）、ＯｃｔｅｔＱＫ３８４システム（ＦｏｒｔｅＢｉｏ，Ｍｅｎｌｏ　Ｐａｒｋ，ＣＡ）、または当技術分野で公知の他のアッセイで決定されるように一般的により低い親和性で他のペプチドまたはポリペプチドに結合し得る。いくつかの実施形態では、抗体または抗原結合領域は、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）及び酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）などの実験技法を使用して決定したときに、いずれの交差反応性抗原よりも高い親和性で抗原に結合する場合に、抗原に結合する、または特異的に結合する。典型的に、特異的または選択的な反応は、バックグラウンドシグナルまたはノイズの少なくとも２倍であり、バックグラウンドの１０倍を超えることもある。結合特異性に関する考察については、例えば、Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　３３２－３６（Ｐａｕｌ　ｅｄ．，２ｄ　ｅｄ．１９８９）を参照されたい。いくつかの実施形態において、「非標的」タンパク質に対する抗体または抗原結合領域の結合の程度は、例えば、蛍光標識細胞分取（ＦＡＣＳ）分析またはＲＩＡによって決定される場合、抗体または抗原結合領域のその標的抗原に対する結合の約１０％未満である。いくつかの実施形態では、抗原に特異的に結合する分子は、これらの分子が別の抗原に結合する場合のK_Aよりも少なくとも２ｌｏｇ、２．５ｌｏｇ、３ｌｏｇ、４ｌｏｇ、またはそれより大きいK_Aで抗原に結合する。いくつかの実施形態では、抗原に特異的に結合する分子は、他のタンパク質とは交差反応しない。別の特定の実施形態では、抗原に特異的に結合する分子は、他の非５Ｔ４タンパク質と交差反応しない。いくつかの実施形態では、「特異的に結合する」とは、例えば、ポリペプチドまたは分子がタンパク質または標的に約０．１ｍＭ以下、しかしより通常は約１μＭ未満のK_Dで結合することを意味する。いくつかの実施形態では、「特異的に結合する」とは、ポリペプチドまたは分子が、少なくとも約０．１μＭ以下、少なくとも約０．０１μＭ以下、または少なくとも約１ｎＭ以下のK_Dで標的に結合することを意味する。異なる種における相同なタンパク質間の配列同一性のため、特異的結合は、複数の種においてタンパク質または標的を認識するポリペプチドまたは分子を含み得る。同様に、異なるタンパク質のポリペプチド配列のある特定の領域内での相同性のために、特異的結合は、複数のタンパク質または標的を認識するポリペプチドまたは分子を含み得る。いくつかの実施形態では、第１の標的に特異的に結合するポリペプチドまたは分子は、第２の標的に特異的に結合してもよいし、または結合しなくてもよいことが理解される。したがって、「特異的結合」は、排他的結合、例えば、単一の標的への結合を必ずしも必要としない（ただし、それは含むことができる）。したがって、いくつかの実施形態では、ポリペプチドまたは分子は、複数の標的に特異的に結合することができる。いくつかの実施形態では、複数の標的は、ポリペプチドまたは分子上の同じ抗原結合部位によって結合され得る。例えば、いくつかの実施形態では、抗体は、２つの同一の抗原結合部位

を含むことができ、その各々は、２つ以上のタンパク質上の同じエピトープに特異的に結合する。別の実施形態では、抗体は二重特異性であり、特異性の異なる少なくとも２つの抗原結合部位を含むことができる。概して、必ずしもではないが、「結合」への言及は、「特異的結合」を意味する。

【０１４９】

用語「結合親和性」とは、概して、分子の単一の結合部位（例えば、抗体）とその結合パートナー（例えば、５Ｔ４のような抗原）との間の非共有相互作用の合計の強度を指す。特に明記しない限り、本明細書中で使用する場合、「結合親和性」とは、結合ペアのメンバー（例えば、抗体と抗原）間の１：１相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。結合分子Ｘのそのパートナー Ｙに対する親和性は、一般に、解離定数（ＫＤ）で表し得る。親和性は、本明細書に記載される方法を含む、当該技術分野で既知の一般的な方法によって測定することができる。低親和性抗体は、一般に、抗原にゆっくり結合し、容易に解離する傾向があるが、高親和性抗体は、一般に、抗原により早く結合し、より長く結合したままである傾向がある。結合親和性を測定する様々な方法が当技術分野で既知であり、これらのいずれも、本開示の目的のために使用することができる。一実施形態では、「K_D」または「K_D値」は、例えばＯｃｔｅｔＱＫ３８４システム（ＦｏｒｔｅＢｉｏ，Ｍｅｎｌｏ Ｐａｒｋ，ＣＡ）を使用したバイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）によって測定することができる。別の方法として、K_Dはまた、例えば、目的の抗体のＦａｂバージョン及びその抗原で行われる、放射性標識抗原結合アッセイ（ＲＩＡ）で測定してもよい（Ｃｈｅｎ ｅｔ ａｌ．，（１９９９）Ｊ．Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ２９３：８６５－８８１）によって、または、例えば、ＢＩＡＣＯＲＥ（商標）－２０００またはＢＩＡＣＯＲＥ（商標）－３０００（ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．， Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）を使用して、ＢＩＡＣＯＲＥ（商標）による表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）アッセイを使用して行ってもよい。「オンレート」または「結合の速度」または「結合速度」または「k_{on}」、ならびに「オフレート」または「解離の速度」または「解離速度」または「k_{off}」は、また、例えば、それぞれ、ＯｃｔｅｔＱＫ３８４システム（ＦｏｒｔｅＢｉｏ，Ｍｅｎｌｏ Ｐａｒｋ，ＣＡ）またはＢＩＡＣＯＲＥ（商標）－２０００もしくはＢＩＡＣＯＲＥ（商標）－３０００（ＢＩＡＣＯＲＥ（商標），Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）を使用して、本明細書に記載されているのと同じＳＰＲまたはＢＬＩ技術によって決定することもできる。

【０１５０】

「競合する」という用語は、５Ｔ４抗体の文脈において使用される場合、別の結合剤の存在下で、別の結合剤の結合のために、エピトープまたは結合部位への結合が少なくとも部分的に阻害される結合剤を表す。競合は、試験中の結合剤が、参照分子（例えば、参照リガンド、または参照抗体などの参照抗原結合タンパク質）の共通抗原（例えば、５Ｔ４）への特異的結合を防止または抑制するアッセイによって決定し得る。試験結合剤が５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）に対する結合をめぐって参照分子と競合するか否かを判定するために、多数の種類の競合的結合アッセイを使用することができる。使用することができるアッセイの例としては、固相直接または間接ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、固相直接または間接酵素イムノアッセイ（ＥＩＡ）、サンドイッチ競合アッセイ（例えば、Ｓｔａｈｌｉ ｅｔ ａｌ．，（１９８３）Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ ９：２４２－２５３）、固相直接ビオチン－アビジンＥＩＡ（例えば、Ｋｉｒｋｌａｎｄ ｅｔ ａｌ．，（１９８６）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３７：３６１４－３６１９、またはＣｈｅｕｎｇ ｅｔ ａｌ．，（１９９０）Ｖｉｒｏｌｏｇｙ １７６：５４６－５５２を参照されたい）、固相直接標識アッセイ、固相直接標識サンドイッチアッセイ（例えば、Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｅ，（１９８８）Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ参照）、Ｉ－１２５標識を使用した固相直接標識ＲＩＡ（例えば、Ｍｏｒｅｌ ｅｔ ａｌ．，（１９８８）Ｍｏｌｅｃ． Ｉｍｍｕｎｏｌ． ２５：７－１５）、及び直接標識ＲＩＡ（Ｍｏｌｄｅｎｈａｕｅｒ ｅｔ ａｌ．，（１９９０）Ｓｃａｎｄ． Ｊ． Ｉｍｍ

ｕｎｏｌ．３２：７７－８２を参照）が含まれる。通常、かかるアッセイは、標識されていない試験抗原結合タンパク質（例えば、試験５Ｔ４抗体もしくはＡＤＣ）または標識された抗原結合タンパク質（例えば、参照５Ｔ４抗体もしくはＡＤＣ）のいずれかを有する固相表面または細胞に結合した精製抗原（例えば、ヒト５Ｔ４などの５Ｔ４）の使用を伴う。競合阻害は、試験抗原結合タンパク質の存在下で固相表面または細胞に結合する標識の量を決定することによって測定することができる。通常、試験抗原結合タンパク質は過剰に存在する。競合アッセイによって同定される抗体（競合抗体）には、参照抗体と同じエピトープに結合する抗体、及び／または抗体の立体障害が生じるための参照によって結合されるエピトープに十分に近い隣接エピトープに結合する抗体（例えば、類似のエピトープ重複するエピトープ）が含まれる。通常、競合抗体が過剰に存在すると、共通抗原に対する参照抗体の特異的結合が少なくとも２０％、例えば、少なくとも２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、または７５％阻害される。いくつかの実施形態では、結合は、少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、またはそれ以上阻害される。

【０１５１】

「定常領域」または「定常ドメイン」という用語は、本明細書において区別無く使用され、当該技術分野において周知の抗体の用語であり、抗体の部分、例えば抗体の抗原への結合には直接関与しないが、Ｆｃ受容体との相互作用などの様々なエフェクター機能を呈する、軽鎖及び重鎖のカルボキシ末端部分を指す。この用語は、免疫グロブリン可変領域と比較して、一般的により保存されたアミノ酸配列を有する免疫グロブリン分子の部分を含む。

【０１５２】

抗体の「エフェクター機能」は、抗体のＦｃ領域（例えば、天然配列のＦｃ領域またはアミノ酸配列変異形Ｆｃ領域）に帰属する生物学的活性を指し、抗体のアイソタイプに応じて多様である。抗体のエフェクター機能の例としては、Ｃ１ｑ結合及び補体依存性細胞毒性、Ｆｃ受容体結合、抗体依存性細胞媒介性細胞毒性（ＡＤＣＣ）、ファゴサイトーシス、細胞表面受容体（例えば、Ｂ細胞受容体）の下方制御、ならびにＢ細胞活性化が挙げられる。

【０１５３】

本明細書における「Ｆｃ領域」という用語は、例えば、天然配列Ｆｃ領域、組み換えＦｃ領域、及びバリアントＦｃ領域を含む、免疫グロブリン重鎖のＣ末端領域を定義するために使用される。免疫グロブリン重鎖のＦｃ領域の境界はさまざまに異なり得るが、ヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ領域はしばしば、Ｃｙｓ２２６位（ＥＵ番号付けシステムによる）、またはＰｒｏ２３０（ＥＵ番号付けシステムによる）のアミノ酸残基からそのカルボキシル末端まで延びると定義される。Ｆｃ領域のＣ末端リシン（ＥＵ番号付けシステムによる残基４４７）は、例えば、抗体の産生もしくは精製時に、または抗体の重鎖をコードする核酸を組み換え操作することによって、除去することができる。例示的なＦｃ領域の配列を以下に提供する（ＣＨ２ドメイン＝太字、ＣＨ３ドメイン＝下線）。

【化２５】

CPPCP**APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD**
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

（配列番号６７）。

【０１５４】

「機能的Ｆｃ領域」は、天然配列Ｆｃ領域の「エフェクター機能」を有する。例示的な「エフェクター機能」としては、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細胞傷害（ＡＤＣＣ）、ファゴサイトーシス、細胞表面受容体（例えば、Ｂ細胞受容体、ＢＣＲ）の下方制御、などが挙げられる。そのようなエフェクター機能は、概して、Ｆｃ領域と結合領域または結合ドメイン（例えば、抗体可変領域またはドメイン）との結合を必要とし、本明細書に開示される様々なアッセイを使用して評価することができる。

【０１５５】

「天然配列Ｆｃ領域」は、自然界に見出されるＦｃ領域のアミノ酸配列と同一であり、人為的な操作、修飾及び／または変更（例えば、単離、精製、選択、可変領域配列などの他の配列を含めるかまたはこれと組み合わせること）が行われていないアミノ酸配列を含む。天然配列ヒトＦｃ領域には、天然配列ヒトＩｇＧ１のＦｃ領域（非Ａ及びＡアロタイプ）、天然配列ヒトＩｇＧ２のＦｃ領域、天然配列ヒトＩｇＧ３のＦｃ領域、及び天然配列ヒトＩｇＧ４のＦｃ領域、ならびにそれらの天然のバリアントが含まれる。

【０１５６】

「バリアントＦｃ領域」は、少なくとも１つのアミノ酸改変（例えば、置換、付加、または欠失）、好ましくは１つ以上のアミノ酸置換（複数可）によって天然配列Ｆｃ領域のものとは異なるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、バリアントＦｃ領域は、天然配列Ｆｃ領域または親ポリペプチドのＦｃ領域と比較して少なくとも１つのアミノ酸置換、例えば、天然配列Ｆｃ領域中または親ポリペプチドのＦｃ領域中に約１～約１０個のアミノ酸置換、好ましくは約１～約５個のアミノ酸置換を有する。本明細書におけるバリアントＦｃ領域は、天然配列Ｆｃ領域及び／または親ポリペプチドのＦｃ領域と少なくとも約８０％の相同性、または少なくとも約９０％の相同性、例えば、少なくとも約９５％の相同性を有し得る。本明細書に記載のバリアントＦｃ領域は、エフェクター機能の喪失を有し得る（例えば、サイレントＦｃ）。例示的なバリアントＦｃ領域（「サイレントＦｃ」）配列を以下に提供する（ＣＨ２ドメイン＝太字でアミノ酸変化に下線、ＣＨ３ドメイン＝下線テキスト）。

【化２６】

CPPCPAPE<u>AA</u>GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL<u>K</u>APIEK
TISKAK<u>GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN</u>
<u>YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP</u>
<u>GK</u>

（配列番号６８）。

【０１５７】

「重鎖」という用語は、抗体に関して使用される場合、約５０～７０ｋＤａのポリペプチド鎖を指し、アミノ末端部分は、約１２０～１３０以上のアミノ酸の可変領域を含み、カルボキシ末端部分は、定常領域を含む。「重鎖」とは、例えば、重鎖のアミノ酸配列に基づいて、任意の別個のタイプ、例えば、アルファ（α）、デルタ（δ）、イプシロン（ε）、ガンマ（γ）、及びミュー（μ）を指し得る。これらはそれぞれ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、及びＩｇＭクラスの抗体を生じさせ、ＩｇＧのサブクラス、例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、及びＩｇＧ４を含む。

【０１５８】

本明細書に使用される「軽鎖」という用語は、抗体に関して使用される場合、約２５ｋＤａのポリペプチド鎖を指し、アミノ末端部分は、約１００～約１１０以上のアミノ酸の可変領域を含み、カルボキシ末端部分は、定常領域を含む。軽鎖のおおよその長さは、２

１１～２１７アミノ酸である。軽鎖には、２つの異なるタイプがあり、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（κ）またはラムダ（λ）と呼ばれる。軽鎖アミノ酸配列は、当技術分野で周知である。

【０１５９】

「抗原結合断片」、「抗原結合ドメイン」、「抗原結合領域」という用語、及び同様の用語は、抗原と相互作用して結合断片または領域に抗原に対するその特異性と親和性を付与するアミノ酸残基を含む抗体の部分を指す（例えば、ＣＤＲ）。本明細書で使用される、「抗原結合性断片」には、抗体の抗原結合性または可変領域などの１つ以上のＣＤＲを含む抗体の部分を含む「抗体断片」が含まれる。

【０１６０】

本明細書に記載される抗体としては、これらに限定されるものではないが、合成抗体、モノクローナル抗体、組換えにより作製された抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体を含む）、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、イントラボディ、単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）（例えば、単一特異性、二重特異性などを含む）、ラクダ化抗体、Ｆａｂ断片、Ｆ（ａｂ’）断片、ジスルフィド結合Ｆｖ（ｓｄＦｖ）、抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体、及び上記のいずれかのエピトープ結合断片が挙げられる。

【０１６１】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体には、免疫グロブリン分子、及び５Ｔ４に結合する１つ以上の抗原結合部位を含有する分子等の免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分が含まれる。

【０１６２】

本明細書に記載される抗体は、免疫グロブリン分子の任意のタイプ（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、またはＩｇＹ）、任意のクラス（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１、またはＩｇＡ２）、または任意のサブクラス（例えば、ＩｇＧ２ａまたはＩｇＧ２ｂ）のものであり得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される５Ｔ４抗体は、ＩｇＧ抗体（例えば、ヒトＩｇＧ）、またはそのクラス（例えば、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、もしくはＩｇＧ４）もしくはそのサブクラスのものである。

【０１６３】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、２つの重（Ｈ）鎖／軽（Ｌ）鎖の対を含む４本鎖の抗体ユニットであり、Ｈ鎖のアミノ酸配列は同一であり、Ｌ鎖のアミノ酸配列は、同一である。いくつかの実施形態では、Ｈ鎖及び／またはＬ鎖は、定常領域、例えば、ヒト定常領域を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体のＬ鎖定常領域は、カッパまたはラムダ軽鎖定常領域、例えば、ヒトカッパまたはラムダ軽鎖定常領域である。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体のＨ鎖定常領域は、ガンマ重鎖定常領域、例えば、ヒトガンマ重鎖定常領域を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、ＩｇＧ定常領域、例えば、ヒトＩｇＧ定常領域（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、及び／またはＩｇＧ４定常領域）を含む。

【０１６４】

本明細書で使用される、「５Ｔ４抗体」及び「５Ｔ４に結合する抗体」は、互換的に使用され、５Ｔ４に優先的に結合する抗体を指す。抗体またはその断片は、ヒト５Ｔ４などの５Ｔ４に優先的に結合することができ、これは、抗体またはその断片が、ヒト５Ｔ４などの５Ｔ４に、それが無関係の対照タンパク質に結合するよりも高い親和性で結合することを意味する。例えば、抗体またはその断片は、５Ｔ４またはその一部を特異的に認識し、結合することができる。「特異的結合」とは、５Ｔ４抗体またはその断片が、５Ｔ４に、無関係の対照タンパク質（例えば、ニワトリ卵白リゾチーム）に対する親和性よりも少なくとも５、１０、１５、２０、２５、５０、１００、２５０、５００、１０００、または１０，０００倍高い親和性で結合することを意味する。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体またはその断片は、５Ｔ４に実質的に排他的に結合することができる（例えば、結合親和性における測定可能な差によって、５Ｔ４を他の既知のポリペプチドと区別するこ

とができる）。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、ヒト５Ｔ４配列以外の５Ｔ４配列（例えば、カニクイザル５Ｔ４配列）と反応することができる。

【０１６５】

「可変領域」及び「可変ドメイン」という用語は、区別なく使用され、一般的に軽鎖または重鎖のアミノ末端に位置し、重鎖が約１２０～１３０アミノ酸及び軽鎖が約１００～１１０アミノ酸の長さを有し、抗体のその抗原に対する結合及び特異性に使用される、抗体の軽鎖及び重鎖の部分を指す。重鎖の可変領域は、本明細書では「ＶＨ」と称され得る。軽鎖の可変領域は、本明細書では「ＶＬ」と称され得る。「可変」という用語は、可変領域のある特定のセグメントの配列が抗体間で大きく異なるという事実を指す。Ｖ領域は、抗原結合を媒介し、特定の抗体のその抗原に対する特異性を定義する。しかしながら、可変性は、可変領域の１１０アミノ酸範囲全体に均一に分散しているわけではない。むしろ、Ｖ領域は、「超可変領域」あるいは「相補性決定領域」と呼ばれる可変性のより大きい（例えば、極端な可変性の）短い領域によって隔てられた、約１５～３０アミノ酸のフレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれる可変性の低い（例えば、比較的不変である）ストレッチからなる。重鎖及び軽鎖の可変領域はそれぞれ、４つのＦＲ（ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及びＦＲ４）を含み、これらのＦＲは、βシート立体配置を主に採用し、３つの超可変領域によって接続され、これらの超可変領域は、βシート構造を接続するループを形成し、場合により、βシート構造の一部を形成する。各鎖における超可変領域は、フレームワークによって近接して一緒に保持されており、他の鎖の超可変領域と共に、抗体の抗原結合部位の形成に寄与している（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．, Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ, ５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ, Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ, Ｂｅｔｈｅｓｄａ, Ｍｄ．（１９９１）を参照のこと）。定常領域は、抗体の抗原への結合に直接関与しないが、抗体の抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）及び補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）への関与などの様々なエフェクター機能を呈する。可変領域は、異なる抗体間で配列が大きく異なる。配列の可変性はＣＤＲに集中している一方、可変領域の可変性の低い部分は、フレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれる。軽鎖及び重鎖のＣＤＲは、抗体と抗原との相互作用を主として担う。具体的な実施形態において、可変領域は、ヒト可変領域である。

【０１６６】

本明細書で使用されるとき、「超可変領域」、「ＨＶＲ」、「ＨＶ」、「相補性決定領域」及び「ＣＤＲ」という用語は、配列が超可変性であり、及び／または構造的に定義されたループを形成する抗体可変ドメインの領域を指す。一般に、抗体は、６つの超可変領域を含み、ＶＨに３つ（Ｈ１またはＶＨ　ＣＤＲ１、Ｈ２またはＶＨ　ＣＤＲ２、及びＨ３またはＶＨ　ＣＤＲ３）、ＶＬに３つ（Ｌ１またはＶＬ　ＣＤＲ１、Ｌ２またはＶＬ　ＣＤＲ２、及びＬ３またはＶＬ　ＣＤＲ３）を含む。いくつかの超可変領域の記述が使用されており、本明細書に包含される。Ｋａｂａｔ　ＣＤＲは、配列可変性に基づくものであり、最も使用されている（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．, Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ, ５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ, Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ, Ｂｅｔｈｅｓｄａ, ＭＤ．（１９９１））。Ｃｈｏｔｈｉａはその代わりに、構造ループの位置を指す（例えば、Ｃｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－１７（１９８７）を参照）。Ｋａｂａｔナンバリング規則を用いてナンバリングした場合、Ｃｈｏｔｈｉａ　ＣＤＲ－Ｈ１ループの末端は、ループの長さに応じてＨ３２とＨ３４の間で異なる（これは、Ｋａｂａｔナンバリングスキームが３５Ａと３５Ｂに挿入を置くためであり、３５Ａも３５Ｂも存在しない場合、このループは３２で終わり、３５Ａのみが存在する場合、このループは３３で終わり、３５Ａ及び３５Ｂの両方が存在する場合、このループは３４で終わる）。ＡｂＭ超可変領域は、Ｋａｂａｔ　ＣＤＲとＣｈｏｔｈｉａ構造ループとの間の妥協案を示すものであり、Ｏｘｆｏｒｄ ＭｏｌｅｃｕｌａｒのＡｂＭ抗体モデリングソフトウェ

アで使用されている（例えば、Ｍａｒｔｉｎ，ｉｎ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ Ｖｏｌ．２，Ｃｈａｐｔｅｒ ３，Ｓｐｒｉｎｇｅｒ Ｖｅｒｌａｇ参照）。「Ｃｏｎｔａｃｔ」超可変領域は、利用可能な複合体結晶構造の分析に基づく。これらの超可変領域の各々由来の残基を以下に示す。

【０１６７】

ユニバーサルナンバリングシステムは、開発され、広く採用されている（ＩｍＭｕｎｏＧｅｎｅＴｉｃｓ（ＩＭＧＴ（登録商標））Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ Ｓｙｓｔｅｍ（Ｌｅｆｒａｎｃ ｅｔ ａｌ．，Ｄｅｖ．Ｃｏｍｐ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２７（１）：５５－７７（２００３））。ＩＭＧＴ（登録商標）は、ヒト及び他の脊椎動物の免疫グロブリン（ＩＧ）、Ｔ細胞受容体（ＴＲ）、及び主要組織適合遺伝子複合体（ＭＨＣ）に特化した総合情報システムである。本明細書において、ＣＤＲは、アミノ酸配列と軽鎖または重鎖内での位置の両方について参照される。免疫グロブリン可変ドメインの構造内のＣＤＲの「位置」は、種間で保存されており、ループと呼ばれる構造で存在していることから、構造的な特徴の可変ドメイン配列を整列させるナンバリングシステムを使用することによって、ＣＤＲ及びフレームワーク残基は、容易に特定される。この情報は、ある種の免疫グロブリンに由来するＣＤＲ残基を、典型的にはヒト抗体に由来するアクセプターフレームワークにグラフト化及び置換する際に使用することができる。更なるナンバリングシステム（ＡＨｏｎ）がＨｏｎｅｇｇｅｒ ａｎｄ Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３０９：６５７－６７０（２００１）によって開発されている。例えば、ＫａｂａｔナンバリングＩＭＧＴ（登録商標）独自ナンバリングシステムを含む、ナンバリングシステム間の対応関係は、当業者によく知られており、（例えば、Ｋａｂａｔ（上掲）；Ｃｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ（上掲）；Ｍａｒｔｉｎ（上掲）；Ｌｅｆｒａｎｃ ｅｔ ａｌ．（上掲）参照）下記にも説明される。当技術分野で知られている、または本明細書に記載されている様々なシステムは、ＣＤＲを画定する異なる方法を表しており、それらが同じ抗体を定義するために使用される場合、それらは同等であると見なされることが多い。本明細書に示される例示的なシステムは、ＫａｂａｔとＣｈｏｔｈｉａを組み合わせたものである。

【表１５】

	例	IMGT(登録商標)	Kabat	AbM	Chothia	Contact
V_H CDR1	26-35	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
V_H CDR2	50-65	56-65	50-65	50-58	53-55	47-58
V_H CDR3	95-102	105-117	95-102	95-102	96-101	93-101
V_L CDR1	24-34	27-38	24-34	24-34	26-32	30-36
V_L CDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-52	46-55
V_L CDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	91-96	89-96

【０１６８】

超可変領域は、次の「伸長超可変領域」を含み得る：ＶＬでは２４～３６または２４～３４（Ｌ１）、４６～５６または５０～５６（Ｌ２）、及び８９～９７または８９～９６（Ｌ３）、ならびにＶＨでは２６～３５または２６～３５Ａ（Ｈ１）、５０～６５または４９～６５（Ｈ２）、及び９３～１０２、９４～１０２、または９５～１０２（Ｈ３）。本明細書に使用される用語「超可変領域」、「ＨＶＲ」、「ＨＶ」、「相補性決定領域」または「ＣＤＲ」は互換的に使用される。

【０１６９】

「ベクター」という用語は、例えば、核酸配列を宿主細胞に導入するために、核酸配列

を運搬または含むために使用される物質を指す。ベクターの例としては、発現ベクター、プラスミド、ファージベクター、ウイルスベクター、エピソーム、及び人工染色体が挙げられ、宿主細胞の染色体に安定的に組み込むための選択配列または選択マーカーを含み得る。更に、ベクターは、１つ以上の選択マーカー遺伝子及び適切な発現制御配列を含み得る。含めることができる選択可能なマーカー遺伝子は、例えば、抗生物質もしくは毒素に対する耐性を付与し、栄養要求性欠損を補完し、または培地中にはない重要な栄養素を供給する。発現制御配列は、当該技術分野においてよく知られている構成的及び誘導性プロモーター、転写エンハンサー、転写ターミネーターなどを含み得る。２つ以上の核酸分子（例えば、抗体重鎖と軽鎖または抗体ＶＨとＶＬ領域の両方）が共発現される場合、両方の核酸分子は、例えば、単一の発現ベクターまたは別個の発現ベクターに挿入され得る。単一のベクター発現の場合、コード核酸は、１つの共通する発現制御配列に機能的に連結されるか、または１つの誘導性プロモーター及び１つの構成的プロモーターなどの異なる発現制御配列に連結され得る。核酸分子の宿主細胞への導入は、当該技術分野においてよく知られている方法を使用して確認することができる。そのような方法には、例えば、ｍＲＮＡのノーザンブロットもしくはポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）増幅などの核酸分析、遺伝子産物の発現に関する免疫ブロット法、または導入された核酸配列もしくはその対応する遺伝子産物の発現を試験するのに好適な他の分析方法が含まれる。当業者は、核酸分子が所望の産物（例えば、５Ｔ４）を産生するのに十分な量で発現されることを理解し、更に、当該技術分野においてよく知られている方法を使用して十分な発現が得られるように発現レベルを最適化することができることも理解している。

【０１７０】

「５Ｔ４媒介性疾患」、「５Ｔ４媒介性障害」、及び「５Ｔ４媒介性状態」という用語は、互換的に使用され、５Ｔ４発現腫瘍細胞などの、５Ｔ４発現細胞に関連するまたはそれを特徴とする任意の疾患、障害または状態を指す。５Ｔ４媒介性疾患としては、５Ｔ４を発現または過剰発現するがんが挙げられるがこれらに限定されないがんが挙げられる。

【０１７１】

「腫瘍」という用語は、本明細書のいずれかの実施形態において、悪性または良性にかかわらず、任意の腫瘍細胞の成長及び増殖、ならびに全ての前癌性及び癌性の細胞及び組織を指す。

【０１７２】

「がん」及び「がん性」という用語は、制御されていない細胞成長を典型的に特徴とする哺乳動物における生理学的状態を指すか、または説明する。

【０１７３】

「ＡＤＣ」という用語は、抗体薬物複合体を指し、これは、本発明の文脈では、本明細書に記載されるような薬物を含む別の部分に結合された５Ｔ４抗体を指す。

【０１７４】

本明細書で使用される場合、「薬物」は、細胞毒性化合物（例えば、細胞毒性小分子、細胞毒性合成ペプチドなど）のような、生物活性を有する化合物を指す。

【０１７５】

薬物の例としては、がん化学療法剤などの小分子薬が挙げられる。例えば、ポリペプチドが、腫瘍細胞に対する特異性を有する抗体（またはその断片）である場合、抗体は、修飾アミノ酸を含むように本明細書に記載されるように修飾され得、その後、この修飾アミノ酸は、がん化学療法薬にコンジュゲートされ得る。がん化学療法剤としては、がん細胞の増殖を低減させる非ペプチド性（すなわち、非タンパク質性）化合物が挙げられ、細胞傷害性薬剤及び細胞分裂阻害剤が包含される。化学療法剤の非限定的な例としては、アルキル化剤、ニトロ酸尿素、代謝拮抗薬、抗腫瘍抗生物質、植物（ビンカ）アルカロイド、及びステロイドホルモンが挙げられる。ペプチド性化合物も使用され得る。

【０１７６】

適切ながん化学療法剤としては、ドラスタチンならびにその活性類似体及び誘導体及びアウリスタチンならびにその活性類似体及び誘導体（例えば、モノメチルアウリスタチン

Ｄ（ＭＭＡＤ）、モノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）、モノメチルアウリスタチンＦ（ＭＭＡＦ）など）が挙げられる。例えば、ＷＯ９６／３３２１２、ＷＯ９６／１４８５６、及びＵＳ６，３２３，３１５を参照されたい。例えば、ドラスタチン１０またはアウリスタチンＰＥが、本開示の５Ｔ４－ＡＤＣに含まれ得る。好適ながん化学療法剤としてはまた、マイタンシノイドならびにその活性類似体及び誘導体（例えば、ＥＰ１３９１２１３、及びＬｉｕ ｅｔ ａｌ（１９９６）Ｐｒｏｃ． Ｎａｔｌ． Ａｃａｄ． Ｓｃｉ． ＵＳＡ９３：８６１８－８６２３を参照されたい）、デュオカルマイシンならびにその活性類似体及び誘導体（例えば、合成類似体、ＫＷ－２１８９及びＣＢ１－ＴＭ１を含む）；及びベンゾジアゼピンならびにその活性類似体及び誘導体（例えば、ピロロベンゾジアゼピン（ＰＢＤ））も挙げられる。

【０１７７】

細胞増殖を低減するように作用する薬剤は、当該技術分野で公知であり、広く使用されている。かかる薬剤としては、アルキル化剤、例えば、ナイトロジェンマスタード、ニトロソ尿素、エチレンイミン誘導体、アルキルスルホン酸塩、及びトリアゼンが挙げられ、限定されるものではないが、メクロレタミン、シクロホスファミド（ＣＹＮＯＴＡＮ（商標））、メルファラン（Ｌ－サルコリシン）、カルムスチン（ＢＣＮＵ）、ロムスチン（ＣＣＮＵ）、セムスチン（メチル－ＣＣＮＵ）、ストレプトゾシン、クロロゾトシン、ウラシルマスタード、クロルメチン、イホスファミド、クロラムブシル、ピポブロマン、トリエチレンメラミン、トリエチレンチオホスホロアミン、ブスルファン、ダカルバジン、及びテモゾロミドが含まれる。

【０１７８】

代謝拮抗剤としては、葉酸類似体、ピリミジン類似体、プリン類似体、及びアデノシンデアミナーゼ阻害剤が挙げられ、これらには、限定されるものではないが、シタラビン（ＣＹＴＯＳＡＲ－Ｕ（登録商標））、シトシンアラビノシド、フルオロウラシル（５－ＦＵ）、フロキシウリジン（ＦｕｄＲ）、６－チオグアニン、６－メルカプトプリン（６－ＭＰ）、ペントスタチン、５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）、メトトレキサート、１０－プロパルギル－５，８－ジデアザ葉酸（ＰＤＤＦ、ＣＢ３７１７）、５，８－ジデアザテトラヒドロ葉酸（ＤＤＡＴＨＦ）、ロイコボリン、リン酸フルダラビン、ペントスタチン、及びゲムシタビンが挙げられる。

【０１７９】

好適な天然物及びそれらの誘導体（例えば、ビンカアルカロイド、抗腫瘍抗生物質、酵素、リンホカイン、及びエピポドフィロトキシン）としては、Ａｒａ－Ｃ、パクリタキセル（ＴＡＸＯＬ（登録商標））、ドセタキセル（ＴＡＸＯＴＥＲＥ（登録商標））、デオキシコホルマイシン、ミトマイシン－Ｃ、Ｌ－アスパラギナーゼ、アザチオプリン、ブレクナール、アルカロイド、例えばビンクリスチン、ビンブラスチン、ビノレルビン、ビンデシンなど、ポドフィロトキシン、例えば、エトポシド、テニポシドなど、抗生物質、例えば、アントラサイクリン、ダウノルビシン塩酸塩（ダウノマイシン、ルビマイシン、セルビジン）、イダルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、及びモルホリノ誘導体など；フェノキシゾンビシクロペプチド、例えば、ダクチノマイシン、塩基性グリコペプチド、例えば、ブレオマイシン、アントラキノングリコシド、例えば、プリカマイシン（ミトラマイシン）、アントラネジオン、例えばミトキサントロン；アジリノピロロインドールジオン、例えば、マイトマイシン；大環状免疫抑制剤、例えば、シクロスポリン、ＦＫ－５０６（タクロリムス、プログラフ）、ラパマイシンなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１８０】

他の抗増殖性細胞傷害性薬剤は、ナベルベン、ＣＰＴ－１１、アナストラゾール、レトラゾール、カペシタビン、レロキサフィン、シクロホスファミド、イホサミド、及びドロロキサフィンである。

【０１８１】

抗増殖活性を有する微小管影響剤もまた使用に好適であり、アロコルヒチン（ＮＳＣ４

０６０４２）、ハリコンドリンＢ（ＮＳＣ６０９３９５）、コルヒチン（ＮＳＣ７５７）、コルヒチン誘導体（例えば、ＮＳＣ３３４１０）、ドルスタチン１０（ＮＳＣ３７６１２８）、マイタンシン（ＮＳＣ１５３８５８）、リゾキシン（ＮＳＣ３３２５９８）、パクリタキセル（ＴＡＸＯＬ（登録商標））、ＴＡＸＯＬ（登録商標）誘導体、ドセタキセル（ＴＡＸＯＴＥＲＥ（登録商標））、チオコルヒチン（ＮＳＣ３６１７９２）、トリチルシステリン、硫酸ビンブラスチン、硫酸ビンクリスチン、エポチロンＡ、エポチロンＢ、ディスコデルモリドを含むがこれらに限定されない天然及び合成エポチロン、エストラムスチン、ノコナゾールなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１８２】

使用に好適なホルモンモジュレーター及びステロイド（合成類似体を含む）としては、副腎皮質ステロイド、例えば、プレドニゾン、デキサメタゾンエストロゲン及びプレゲスチン、例えば、カプロキシプロゲステロン、酢酸メドロキシプロゲステロン、酢酸メゲストロール、エストラジオール、クロミフェン、タモキシフェンなど、副腎皮質抑制剤、例えば、アミノグルテチミド；１７α－エチニルエストラジオール、ジエチルスチルベストロール、テストステロン、フルオキシメステロン、プロピオン酸ドロモスタンノロン、テストラクトン、メチルプレドニゾロン、メチル－テストステロン、プレドニゾロン、トリアムシノロン、クロロトリアニセン、ヒドロキシプロゲステロン、アミノグルテチミド、エストラムスチン、酢酸メドロキシプロゲステロン、ルプロリド、フルタミド（ＤＲＯＧＥＮＩＬ（登録商標））、トレミフェン（ＦＡＲＥＳＴＯＮ（登録商標））、及びゴセレリン（ＺＯＬＡＤＥＸ（登録商標））などが挙げられるが、これらに限定されない。エストロゲンは増殖及び分化を刺激する。したがって、エストロゲン受容体に結合する化合物がこの活性を遮断するために使用される。コルチコステロイドは、Ｔ細胞増殖を阻害し得る。

【０１８３】

他の適切な化学療法薬としては、金属錯体、例えば、シスプラチン（ｃｉｓ－ＤＤＰ）、カルボプラチンなど、尿素、例えば、ヒドロキシ尿素、ヒドラジン、例えば、Ｎ－メチルヒドラジン、エピドフィロトキシン、トポイソメラーゼ阻害剤、プロカルバジン、ミトキサントロン、ロイコボリン、テガフルなどが含まれる。対象となる他の抗増殖剤としては、免疫抑制剤、例えば、ミコフェノール酸、サリドマイド、デオキシスペルグアリン、アザスポリン、レフルノミド、ミゾリビン、アザスピラン（ＳＫＦ１０５６８５）、ゲフィチニブ（ＩＲＥＳＳＡ（登録商標）、ＺＤ　１８３９、４－（３－クロロ－４－フルオロフェニルアミノ）－７－メトキシ－６－（３－（４－モルホリニル）プロポキシ）キナゾリン）、などが含まれる。

【０１８４】

タキサンが使用に好適である。「タキサン」には、パクリタキセル、ならびに任意の活性タキサン誘導体またはプロドラッグが含まれる。「パクリタキセル」（本明細書では、類似体、製剤、及び誘導体、例えば、ドセタキセル、ＴＡＸＯＬ（登録商標）、ＴＡＸＯＴＥＲＥ（登録商標）（ドセタキセルの製剤）、パクリタキセルの１０－デスアセチル類似体、及びパクリタキセルの３’Ｎ－デスベンゾイル－３’Ｎｔ－ブトキシカルボニル類似体）は、当業者に既知の技術を利用して容易に調製することができる（ＷＯ９４／０７８８２、ＷＯ９４／０７８８１、ＷＯ９４／０７８８０、ＷＯ９４／０７８７６、ＷＯ９３／２３５５５、ＷＯ９３／１００７６、米国特許第５，２９４，６３７号、第５，２８３，２５３号、第５，２７９，９４９号、第５，２７４，１３７号、第５，２０２，４４８号、第５，２００，５３４号、第５，２２９，５２９号、及びＥＰ５９０，２６７も参照されたい）、または例えば、Ｓｉｇｍａ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏ．，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，Ｍｏ．（Ｔａｘｕｓ　ｂｒｅｖｉｆｏｌｉａからのＴ７４０２、またはＴａｘｕｓ　ｙａｎｎａｎｅｎｓｉｓからのＴ－１９１２）を含む様々な商業的供給源から得られる。パクリタキセルは、パクリタキセルの一般的な化学的に利用可能な形態だけでなく、類似体及び誘導体（例えば、本明細書に記載のＴＡＸＯＴＥＲＥ（登録商標）ドセタキセル）及びパクリタキセルコンジュゲート（例えば、パクリタキセル－ＰＥＧ、パクリタキセル－

デキストラン、またはパクリタキセル－キシロース）を指すと理解されたい。

【０１８５】

親水性誘導体及び疎水性誘導体の両方を含む、様々な既知の誘導体もまた「タキサン」という用語の範囲内に含まれる。タキサン誘導体としては、国際特許出願第ＷＯ９９／１８１１３号に記載のガラクトース及びマンノース誘導体、ＷＯ９９／１４２０９に記載のピペラジノ及び他の誘導体、ＷＯ９９／０９０２１、ＷＯ９８／２２４５１、及び米国特許第５，８６９，６８０号に記載のタキサン誘導体、ＷＯ９８／２８２８８に記載されている６－チオ誘導体、米国特許第５，８２１，２６３号に記載のスルフェンアミド誘導体、及び米国特許第５，４１５，８６９号に記載のタキソール誘導体が挙げられるが、これらに限定されない。これはさらに、ＷＯ９８／５８９２７、ＷＯ９８／１３０５９、及び米国特許第５，８２４，７０１号に記載されるものを含むがこれに限定されないパクリタキセルのプロドラッグを含む。

【０１８６】

使用に適した生物学的応答修飾剤としては、限定されないが、（１）チロシンキナーゼ（ＲＴＫ）活性の阻害剤、（２）セリン／スレオニンキナーゼ活性の阻害剤、（３）腫瘍抗原に特異的に結合する抗体などの腫瘍関連抗原アンタゴニスト、（４）アポトーシス受容体アゴニスト、（５）インターロイキン－２、（６）ＩＦＮ－α、（７）ＩＦＮ－γ、（８）コロニー刺激因子、及び（９）血管新生の阻害剤が挙げられる。

【０１８７】

「有効量」は、一般に、症状の重症度及び／または頻度を減少させ、症状及び／または根本的な原因を排除し、症状及び／またはその根本的な原因の発生を予防し、及び／または疾患、障害、もしくは状態に起因するか、またはそれに関連する損傷を改善または修復するのに十分な量である。いくつかの実施形態において、有効量とは、治療有効量である。

【０１８８】

「治療有効量」という用語は、本明細書で使用する場合、所定の疾患、障害もしくは状態、及び／またはそれに関連する症状の重症度及び／または期間を低減及び／または改善するのに充分である、ＡＤＣの量を指す。治療剤を含む薬剤の治療上有効量は、（ｉ）所定の疾患、障害、または状態の進行もしくは憎悪の低減もしくは改善、（ｉｉ）所定の疾患、障害もしくは状態の再発、発現もしくは発症の低減もしくは改善、及び／または（ｉｉｉ）別の治療（例えば、本明細書に記載の抗体またはＡＤＣの投与以外の治療）の治療効果の向上または増進に必要な量であり得る。本開示の物質／分子／薬剤（例えば、５Ｔ４抗体またはＡＤＣ）の「治療有効量」は、個体の病態、年齢、性別、及び体重、及び個体において所望の応答を誘発する物質／分子／薬剤の能力等のいくつかの因子に基づいて変化し得る。治療有効量は、その物質／分子／薬剤のいかなる毒性または有害効果も治療有益な効果が上回る量を包含する。いくつかの実施形態では、「治療有効量」という用語は、対象または哺乳動物において、疾患、障害、または状態を「治療する」のに有効な抗体または他の薬剤（例えば、または薬物）の量を指す。

【０１８９】

いくつかの実施形態では、薬物は、マイタンシノイド等の、抗増殖活性を有する微小管影響剤である。いくつかの実施形態では、薬物は、有糸分裂阻害薬、例えば、アウリスタチンまたは活性アウリスタチン類似体もしくはその誘導体である。いくつかの実施形態では、薬物は、ＤＮＡアルキル化剤である。

【０１９０】

本明細書で使用される「薬学的に許容される」という用語は、動物における使用、より具体的にはヒトにおける使用について、連邦政府もしくは州政府の規制機関によって承認されているか、または米国薬局方、欧州薬局方、もしくは他の一般に認知されている薬局方に収載されていることを意味する。

【０１９１】

「賦形剤」には、使用される用量及び濃度でそれらに曝露される細胞または哺乳動物に

対して無毒である、担体、賦形剤、防腐剤、または安定剤が含まれ、例えば、安定性に影響を与えるか、製剤をバルクアップするか、または最終剤形中の活性成分の治療的増強（例えば、吸収促進、粘度の低減、溶解性の増強）を付与するために含まれ得る。「賦形剤」は、活性成分の使用、例えば、対象への活性成分の投与を容易にするために活性成分と組み合わされる、有機または無機成分、天然または合成であり得る。賦形剤の例としては、リン酸、クエン酸、及び他の有機酸などの緩衝剤、アスコルビン酸などの抗酸化剤、低分子量（例えば、約１０アミノ酸残基未満）ポリペプチド、血清アルブミン、ゼラチン、も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、アルギニン、もしくはリシンなどのアミノ酸、グルコース、マンノース、もしくはデキストリンを含む単糖、二糖、及び他の炭水化物、ＥＤＴＡなどのキレート剤、マンニトールもしくはソルビトールなどの糖アルコール、ナトリウムなどの塩形成対イオン、及び／またはＴＷＥＥＮ（商標）、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、及びＰＬＵＲＯＮＩＣＳ（商標）などの非イオン性界面活性剤が挙げられる。「賦形剤」という用語は、それらとともに治療薬が投与される希釈剤、アジュバント（例えば、フロイントアジュバント（完全または不完全））、賦形剤、またはビヒクルも指し得る。かかる賦形剤は、水及び油などの滅菌された液体であってもよく、石油、動物、植物、または合成由来のもの、例えば、ピーナッツ油、ダイズ油、鉱油、ゴマ油などを含む。水は、組成物（例えば、医薬組成物）が静脈内投与される場合の例示的な賦形剤である。食塩水溶液ならびにデキストロース及びグリセロールの水溶液はまた、特に注射溶液のために液体賦形剤として用いられ得る。適当な賦形剤（例えば、薬学的賦形剤）としては、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥脱脂粉乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールなどが挙げられる。任意の実施形態における組成物はまた、微量の湿潤剤または乳化剤、またはｐＨ緩衝剤を含有し得る。組成物は、液剤、懸濁剤、乳剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、徐放性製剤などの形態を取り得る。製剤などの経口組成物は、医薬品等級のマンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなどの標準的な賦形剤を含むことができる。好適な賦形剤の例は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：　Ｔｈｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　ａｎｄ　Ｐｒａｃｔｉｃｅ　ｏｆ　Ｐｈａｒｍａｃｙ（２０２０）（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ　Ｓｃｉｅｎｃｅ，Ａｍｓｔｅｒｄａｍ，Ｎｅｔｈｅｒｌａｎｄｓ）に記載されており、医薬化合物を含み、例えば、単離または精製された形態の５Ｔ４－ＡＤＣを、適切な量の賦形剤とともに、有効量または治療的有効量含み得、対象への適切な投与のための形態を提供する。製剤は、投与様式に適したものである必要がある。

【０１９２】

５Ｔ４抗体

【０１９３】

本明細書に記載される５Ｔ４－ＡＤＣは、薬物及びそれにコンジュゲートされた５Ｔ４抗体を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、５Ｔ４タンパク質、５Ｔ４ポリペプチド、５Ｔ４ポリペプチド断片、５Ｔ４ペプチド、または５Ｔ４エピトープなどの５Ｔ４に特異的に結合する抗体を指す。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、５Ｔ４に結合するヒトまたはヒト化抗体（例えば、ヒト定常領域を含む）である。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、５Ｔ４発現腫瘍細胞を含む哺乳類（例えば、ヒト）細胞の表面で発現される５Ｔ４に結合することができる。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、腫瘍細胞等の細胞で発現する５Ｔ４細胞外エピトープ（例えば、細胞外５Ｔ４エピトープ）に結合する。いくつかの実施形態では、５Ｔ４は、ヒト５Ｔ４である。ヒト５Ｔ４の例示的なアミノ酸配列を本明細書に記載する。

【０１９４】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、５Ｔ４への結合を、例えば、本明細書に記載する任意の抗体、例えば、表１～３のいずれか１つに記載するＶＨ領域、ＶＬ領域、ＶＨ

ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及び／またはＶＬ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列のＶＨ領域、ＶＬ領域、ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及び／またはＶＬ　ＣＤＲ３を含む参照５Ｔ４抗体との結合に競合する。したがって、いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、５Ｔ４への結合を、（ａ）ｍＡｂＡ４と特定される抗体、または（ｂ）ｍＡｂＡ１５と特定される抗体、または（ｃ）ｍＡｂＡ１７と特定される抗体のうち１、２、及び／または３のＶＨ　ＣＤＲ及び／または１、２、及び／または３のＶＬ　ＣＤＲを含む参照５Ｔ４抗体と競合する。いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４－ＡＤＣへの結合を、（ａ）ｍＡｂＡ４と特定される抗体、または（ｂ）ｍＡｂＡ１５と特定される抗体、または（ｃ）ｍＡｂＡ１７と特定される抗体のうち１、２、及び／または３のＶＨ　ＣＤＲ及び１、２、及び／または３のＶＬ　ＣＤＲを含む参照５Ｔ４抗体と競合する５Ｔ４抗体に（直接的にまたは間接的に）コンジュゲートする薬剤を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、５Ｔ４への結合を、（ａ）ｍＡｂＡ４と特定される抗体、または（ｂ）ｍＡｂＡ１５と特定される抗体、または（ｃ）ｍＡｂＡ１７と特定される抗体からのＶＨ領域及びＶＬ領域を含む参照５Ｔ４抗体との結合に競合する。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、５Ｔ４への結合を、（ａ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＶＨ領域及び配列番号２６のアミノ酸配列を含むＶＬ領域、または（ｂ）配列番号４４のアミノ酸配列を含むＶＨ領域及び配列番号４５のアミノ酸配列を含むＶＬ領域、または（ｃ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＶＨ領域及び配列番号６３のアミノ酸配列を含むＶＬ領域を含む、ＶＨ領域を含む参照５Ｔ４との結合に競合する。

【０１９５】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、本明細書に記載する任意の抗体のＶＨ領域、ＶＬ領域、ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及び／またはＶＬ　ＣＤＲ３、例えば、表１～３のいずれか１つに記載するＶＨ領域、ＶＬ領域、ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及び／またはＶＬ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列を含む。したがって、いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、（ａ）ｍＡｂＡ４と特定される抗体、または（ｂ）ｍＡｂＡ１５と特定される抗体、または（ｃ）ｍＡｂＡ１７と特定される抗体からの１、２、及び／または３の重鎖ＣＤＲ及び／または１、２、及び／または３の軽鎖ＣＤＲを含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、（ａ）ｍＡｂＡ４と特定される抗体、または（ｂ）ｍＡｂＡ１５と特定される抗体、または（ｃ）ｍＡｂＡ１７と特定される抗体からの１、２、及び／または３の重鎖ＣＤＲ及び／または１、２、及び／または３の軽鎖ＣＤＲを含む。

【０１９６】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、表１～３のいずれか１つ等の本明細書に記載のＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３のうちの１つ以上（１つ、２つ、または３つ等）を含むＶＨ領域、及び／または表１～３のいずれか１つ等の本明細書に記載のＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３のうちの１つ以上（１つ、２つ、または３つなど）を含む、ＶＬ領域を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は二重特異性であり、表１～３のいずれか１つに記載の１、２、及び／または３つの重鎖ＣＤＲ及び／または１、２、及び／または３つの軽鎖ＣＤＲを含む第１の結合領域、ならびに５Ｔ４ではない第２の標的抗原に結合する結合剤由来の１、２、及び／または３つの重鎖ＣＤＲ及び／または１、２、及び／または３つの軽鎖ＣＤＲを含む第２の領域を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は二重特異性であり、表１～３のいずれか１つに記載の１、２、及び／または３つの重鎖ＣＤＲ及び／または１、２、及び／または３つの軽鎖ＣＤＲを含む第１の結合ドメイン、ならびに第２の５Ｔ４エピトープに結合する結合剤由来の１、２、及び／または３つの重鎖ＣＤＲ及び／または１、２、及び／または３つの軽鎖ＣＤＲを含む第２の結合ドメインを含む。

【０１９７】

ｍＡｂＡ４と特定される抗体は、配列番号２５のＶＨアミノ酸配列及び配列番号２６の

ＶＬアミノ酸配列を含む。

【０１９８】

ｍＡｂＡ１５と特定される抗体は、配列番号４４のＶＨアミノ酸配列及び配列番号４５のＶＬアミノ酸配列を含む。

【０１９９】

ｍＡｂＡ１７と特定される抗体は、配列番号６２のＶＨアミノ酸配列及び配列番号６３のＶＬアミノ酸配列を含む。

【表１】

表１：抗体ｍＡｂＡ４

		例	IMGT（登録商標）	Kabat	Chothia	Contact	AbM
VH CDR配列	VH CDR1	GFTFSRYYIH (配列番号1)	GFTFSRYY (配列番号7)	RYYIH (配列番号12)	GFTFSRY (配列番号13)	SRYYIH (配列番号18)	GFTFSRYYIH (配列番号1)
	VH CDR2	FISPGGSYTYYA DSVKG (配列番号2)	ISPGGSYT (配列番号8)	FISPGGSYTYYA DSVKG (配列番号2)	PGGS (配列番号14)	WVAFISPGGSYT Y (配列番号19)	FISPGGSYTY (配列番号24)
	VH CDR3	EYYSMGVLDY (配列番号3)	AREYYSMGVLDY (配列番号9)	EYYSMGVLDY (配列番号3)	YYSMGVLD (配列番号15)	AREYYSMGVLD (配列番号20)	EYYSMGVLDY (配列番号3)
VL CDR配列	VL CDR1	RASQSVSSAVA (配列番号4)	QSVSSA (配列番号10)	RASQSVSSAVA (配列番号4)	SQSVSSA (配列番号16)	SSAVAWY (配列番号21)	RASQSVSSAVA (配列番号4)
	VL CDR2	SASSLYS (配列番号5)	SAS (配列番号11)	SASSLYS (配列番号5)	SAS (配列番号11)	LLIYSASSLY (配列番号22)	SASSLYS (配列番号5)
	VL CDR3	QQAYESPYT (配列番号6)	QQAYESPYT (配列番号6)	QQAYESPYT (配列番号6)	AYESPY (配列番号17)	QQAYESPY (配列番号23)	QQAYESPYT (配列番号6)
VHアミノ酸配列: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYYIHWVRQAPGKGLEWVAFISPGGSYTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAV YYCAREYYSMGVLDYWGQGTLVTVSS (配列番号25)							
VLアミノ酸配列: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAYES PYTFGQGTKVEIK (配列番号26)							

【表２】

表２：抗体ｍＡｂＡ１５

		例	IMGT (登録商標)	Kabat	Chothia	Contact	AbM
VH CDR 配列	VH CDR1	GFTFSSYYIH (配列番号 27)	GFTFSSYY (配列番号 31)	SYYIH (配列番号 34)	GFTFSSY (配列番号 35)	SSYYIH (配列番号 39)	GFTFSSYYIH (配列番号 27)
	VH CDR2	YITSTGSYTEYADSVKG (配列番号 28)	ITSTGSYT (配列番号 32)	YITSTGSYTEYADSVKG (配列番号 28)	STGS (配列番号 36)	WWAYITSTGSYTE (配列番号 40)	YITSTGSYTE (配列番号 43)
	VH CDR3	YDRSTRYSGLDY (配列番号 29)	ARYDRSTRYSGLDY (配列番号 33)	YDRSTRYSGLDY (配列番号 29)	DRSTRYSGLD (配列番号 37)	ARYDRSTRYSGLD (配列番号 41)	YDRSTRYSGLDY (配列番号 29)
VL CDR 配列	VL CDR1	RASQSVSSAVA (配列番号 4)	QSVSSA (配列番号 10)	RASQSVSSAVA (配列番号 4)	SQSVSSA (配列番号 16)	SSAVAWY (配列番号 21)	RASQSVSSAVA (配列番号 4)
	VL CDR2	SASSLYS (配列番号 5)	SAS (配列番号 11)	SASSLYS (配列番号 5)	SAS (配列番号 11)	LLIYSASSLY (配列番号 22)	SASSLYS (配列番号 5)
	VL CDR3	QQAYATPVT (配列番号 30)	QQAYATPVT (配列番号 30)	QQAYATPVT (配列番号 30)	AYATPV (配列番号 38)	QQAYATPV (配列番号 42)	QQAYATPVT (配列番号 30)
VHアミノ酸配列: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYIHWVRQAPGKGLEWVAYITSTGSYTEYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAV YYCARYDRSTRYSGLDYWGQGTLVTVSS (配列番号 44)							
VLアミノ酸配列: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAYAT PVTFGQGTKVEIK (配列番号 45)							

【表３】

表３：抗体ｍＡｂＡ１７

		例	IMGT (登録商標)	Kabat	Chothia	Contact	AbM
VH CDR配列	VH CDR1	GFTFSRYWIH (配列番号 46)	GFTFSRYW (配列番号 50)	RYWIH (配列番号 53)	GFTFSRY (配列番号 13)	SRYWIH (配列番号 57)	GFTFSRYWIH (配列番号 46)
	VH CDR2	AIFPYSGSTLYADSVKG (配列番号 47)	IFPYSGST (配列番号 51)	AIFPYSGSTLYADSVKG (配列番号 47)	PYSG (配列番号 54)	WVAAIFPYSGSTL (配列番号 58)	AIFPYSGSTL (配列番号 61)
	VH CDR3	SPSRSILPSGLDY (配列番号 48)	ARSPSRSILPSGLDY (配列番号 52)	SPSRSILPSGLDY (配列番号 48)	PSRSILPSGLD (配列番号 55)	ARSPSRSILPSGLD (配列番号 59)	SPSRSILPSGLDY (配列番号 48)
VL CDR配列	VL CDR1	RASQSVSSAVA (配列番号 4)	QSVSSA (配列番号 10)	RASQSVSSAVA (配列番号 4)	SQSVSSA (配列番号 16)	SSAVAWY (配列番号 21)	RASQSVSSAVA (配列番号 4)
	VL CDR2	SASSLYS (配列番号 5)	SAS (配列番号 11)	SASSLYS (配列番号 5)	SAS (配列番号 11)	LLIYSASSLY (配列番号 22)	SASSLYS (配列番号 5)
	VL CDR3	QQGDGSPYT (配列番号 49)	QQGDGSPYT (配列番号 49)	QQGDGSPYT (配列番号 49)	GDGSPY (配列番号 56)	QQGDGSPY (配列番号 60)	QQGDGSPYT (配列番号 49)
VHアミノ酸配列: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWIHWVRQAPGKGLEWVAAIFPYSGSTLYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSPSRSILPSGLDYWGQGTLVTVSS (配列番号 62)							
VLアミノ酸配列: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDGSPYTFGQGTKVEIK (配列番号 63)							

【０２００】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、ＶＨ領域を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、ＶＬ領域を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、（ｉ）ＶＨ領域、及び（ｉｉ）ＶＬ領域の組み合わせを含む。

【０２０１】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、（ｉ）表１～３のいずれか１つに記載されるような本明細書に記載されるＶＨ、及び（ｉｉ）１つ以上の重鎖定常領域（例えば、ＣＨ１、ヒンジ、ＣＨ２、及びＣＨ３）の組み合わせを有する重鎖を含む。例示的なＩｇＧの重鎖は、本明細書に記載の任意のＶＨアミノ酸配列ならびに以下のＣＨ１、ヒンジ、ＣＨ

２、及びＣＨ３を含み得る：
ＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳ
ＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴ
ＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧ
ＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷ
ＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫ
ＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥ
ＬＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶ
ＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴ
ＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ（配列番号６９）。

他の例示的なＩｇＧの重鎖は、本明細書に記載の任意のＶＨアミノ酸配列ならびに以下のＣＨ１、ヒンジ、ＣＨ２、及びＣＨ３を含み得る：
ＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳ
ＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴ
ＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＡＡＧＧ
ＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷ
ＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫ
ＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＫＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥ
ＬＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶ
ＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴ
ＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ（配列番号７０）。

【０２０２】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、（ｉ）表１～３のいずれか１つに記載されるような本明細書に記載されるＶＬ領域、及び（ｉｉ）軽鎖定常領域（ＣＬ）の組み合わせを有する軽鎖を含む。例示的な軽鎖（例えば、ＩｇＧ重鎖と対合する軽鎖）は、本明細書に記載される任意のＶＬアミノ酸配列及び以下のＣＬアミノ酸配列を含み得る：
ＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰＳＤＳＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱ
ＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮＳＱＥＳＶＴＥＱＤＳＫＤＳＴＹＳＬＳＳＴＬＴＬＳＫＡＤＹＥ
ＫＨＫＶＹＡＣＥＶＴＨＱＧＬＳＳＰＶＴＫＳＦＮＲＧＥＣ（配列番号７１）。

【０２０３】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、（ａ）（ｉ）表１～３のいずれか１つに記載されるような本明細書に記載されるＶＨと、（ｉｉ）１つ以上の重鎖定常領域（（例えば、ＣＨ１、ヒンジ、ＣＨ２、及びＣＨ３）を含む重鎖、及び（ｂ）（ｉ）表１～３のいずれか１つに記載されるような本明細書に記載のＶＬと、（ｉｉ）ＩｇＧ形式の軽鎖定常領域（ＣＬ１）との組み合わせを有する軽鎖を含む。

【０２０４】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４に結合する抗体は、以下のアミノ酸配列を有する重鎖
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＲＹＹＩＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＦＩＳＰＧＧＳＹＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＹＹＳＭＧＶＬＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡ
ＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷ
ＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴＹ
ＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰ
ＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹ
ＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥ
ＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥＭ
ＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬ
ＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱ
ＫＳＬＳＬＳＰＧＳＬＣＴＰＳＲＧＳ（配列番号９０）、及び以下のアミノ酸配列を有する軽鎖

ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＶＳＳＡＶＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＳＡＳＳＬＹＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＲＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＡＹＥＳＰＹＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ
ＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮＳＱ
ＥＳＶＴＥＱＤＳＫＤＳＴＹＳＬＳＳＴＬＴＬＳＫＡＤＹＥＫＨＫＶＹＡＣＥＶＴＨＱＧ
ＬＳＳＰＶＴＫＳＦＮＲＧＥＣ（配列番号９１）を含み得る。

【０２０５】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４に結合する抗体は、ホルミルグリシン残基を含むように修飾された重鎖を含み得、したがって、以下のアミノ酸配列

ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＲＹＹＩＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＦＩＳＰＧＧＳＹＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＹＹＳＭＧＶＬＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡ
ＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷ
ＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴＹ
ＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰ
ＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹ
ＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥ
ＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥＭ
ＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬ
ＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱ
ＫＳＬＳＬＳＰＧＳＬＣＴＰＳＲＧＳ（配列番号９２）を含み得、ここでｆ（Ｇｌｙ）はホルミルグリシン残基である。

【０２０６】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、以下のアミノ酸配列を有する重鎖

ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＲＹＹＩＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＦＩＳＰＧＧＳＹＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＹＹＳＭＧＶＬＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡ
ＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷ
ＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴＹ
ＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰ
ＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹ
ＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥ
ＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥＭ
ＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬ
ＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱ
ＫＳＬＳＬＳＰＧＳＬｎＴＰＳＲＧＳ（配列番号９３）を含み、ここでｎは、本明細書で開示されるような側鎖がリンカードラッグ（例えば式（ＸＩＶ）、（ＸＶ）、または（ＸＶＩ）のリンカードラッグ）に置き換えられたアミノ酸である。

【０２０７】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４に結合する抗体は、以下のアミノ酸配列を有する重鎖

ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＹＩＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＹＩＴＳＴＧＳＹＴＥＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＹＤＲＳＴＲＹＳＧＬＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳ
ＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶ
ＳＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱ
ＴＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧ
ＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮ
ＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧ
ＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥ
ＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰ

ＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＳＬＣＴＰＳＲＧＳ（配列番号９４）、及び以下のアミノ酸配列を含む軽鎖ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＶＳＳＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＳＡＳＳＬＹＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＲＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＡＹＡＴＰＶＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮＳＱＥＳＶＴＥＱＤＳＫＤＳＴＹＳＬＳＳＴＬＴＬＳＫＡＤＹＥＫＨＫＶＹＡＣＥＶＴＨＱＧＬＳＳＰＶＴＫＳＦＮＲＧＥＣ（配列番号９５）を含む。

【０２０８】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４に結合する抗体は、ホルミルグリシン残基を含むように修飾された重鎖を含み得、したがって、以下のアミノ酸配列

ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＹＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＹＩＴＳＴＧＳＹＴＥＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＹＤＲＳＴＲＹＳＧＬＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＳＬ（ｆＧｌｙ）ＴＰＳＲＧＳ（配列番号９６）を含み、ここでｆ（Ｇｌｙ）はホルミルグリシン残基である。

【０２０９】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは以下のアミノ酸配列を有する重鎖

ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＲＹＹＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＦＩＳＰＧＧＳＹＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＹＹＳＭＧＶＬＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＳＬｎＴＰＳＲＧＳ（配列番号９７）を含み、ここでｎは、本明細書で開示されるような側鎖がリンカードラッグ（例えば式（ＸＩＶ）、（ＸＶ）、または（ＸＶＩ）のリンカードラッグ）で置き換えられたアミノ酸である。

【０２１０】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４に結合する抗体は、以下のアミノ酸配列を有する重鎖

ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＲＹＷＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＡＩＦＰＹＳＧＳＴＬＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＳＰＳＲＳＩＬＰＳＧＬＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮ

ＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲ
ＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰ
ＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨ
ＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＳＬＣＴＰＳＲＧＳ（配列番号９８）、及び以下のアミノ酸配列
を有する軽鎖
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＶＳＳＡＶＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＳＡＳＳＬＹＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＲＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＧＤＧＳＰＹＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ
ＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮＳＱ
ＥＳＶＴＥＱＤＳＫＤＳＴＹＳＬＳＳＴＬＴＬＳＫＡＤＹＥＫＨＫＶＹＡＣＥＶＴＨＱＧ
ＬＳＳＰＶＴＫＳＦＮＲＧＥＣ（配列番号９９）を含む。

【０２１１】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４に結合する抗体は、ホルミルグリシン残基を含むように修飾された重鎖を含み得、したがって、以下のアミノ酸配列
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＲＹＷＩＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＡＩＦＰＹＳＧＳＴＬＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＳＰＳＲＳＩＬＰＳＧＬＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶ
ＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴ
ＶＳＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴ
ＱＴＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬ
ＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦ
ＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮ
ＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲ
ＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰ
ＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨ
ＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＳＬ（ｆＧｌｙ）ＴＰＳＲＧＳ（配列番号１００）を含み、ここでｆ（Ｇｌｙ）はホルミルグリシ得残基である。

【０２１２】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、以下のアミノ酸配列を有する重鎖
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＲＹＹＩＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＦＩＳＰＧＧＳＹＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＹＹＳＭＧＶＬＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡ
ＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷ
ＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴＹ
ＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰ
ＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹ
ＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥ
ＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥＭ
ＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬ
ＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱ
ＫＳＬＳＬＳＰＧＳＬｎＴＰＳＲＧＳ（配列番号１０１）を含み、ここでｎは、本明細書で開示されるような側鎖がリンカードラッグ（例えば式（ＸＩＶ）、（ＸＶ）、または（ＸＶＩ）のリンカードラッグ）で置き換えられたアミノ酸である。

【０２１３】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、１つ以上のＣＤＲ（例えば、１、２、３、４、５、または６つのＣＤＲ）、例えば、表１に記載のＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及び／またはＶＬ　ＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、１つ以上のＣＤＲ（例えば、１、２、３、４、５、または６つのＣＤＲ）、例えば、表２に記載のＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及び／またはＶＬ　ＣＤＲ３を含

む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、１つ以上のＣＤＲ（例えば、１、２、３、４、５、または６つのＣＤＲ）、例えば、表３に記載のＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及び／またはＶＬ　ＣＤＲ３を含む。

【０２１４】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、１つ以上のＣＤＲ、（例えば、１つ、２つ、または３つのＶＨ　ＣＤＲ）、例えば、表１に記載されるＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、１つ以上のＣＤＲ、（例えば、１つ、２つ、または３つのＶＬ　ＣＤＲ）、例えば、表１に記載されるＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及び／またはＶＬ　ＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、１つ以上のＣＤＲ、（例えば、１、２、または３つのＶＨ　ＣＤＲ）、例えば、表１に記載されるＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３、及び１つ以上のＣＤＲ（例えば、１、２、または３つのＶＬ　ＣＤＲ）、例えば、表１に記載されるＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及び／またはＶＬ　ＣＤＲ３を含む。

【０２１５】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、１つ以上のＣＤＲ（例えば、１、２、または３つのＶＨ　ＣＤＲ）、例えば、表２に記載のＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、１つ以上のＣＤＲ（例えば、１、２、または３つのＶＬ　ＣＤＲ）、例えば、表２に記載のＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及び／またはＶＬ　ＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、１つ以上のＣＤＲ（例えば、１、２、または３つのＶＨ　ＣＤＲ）、例えば、表２に記載のＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３及び１つ以上のＣＤＲ（例えば、１、２、または３つのＶＬ　ＣＤＲ）、例えば、表２に記載のＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及び／またはＶＬ　ＣＤＲ３を含む。

【０２１６】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、１つ以上のＣＤＲ（例えば、１、２、または３つのＶＨ　ＣＤＲ）、例えば、表３に記載のＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、１つ以上のＣＤＲ（例えば、１、２、または３つのＶＬ　ＣＤＲ）、例えば、表３に記載のＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及び／またはＶＬ　ＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、１つ以上のＣＤＲ（例えば、１、２、または３つのＶＨ　ＣＤＲ）、例えば、表３に記載のＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３及び１つ以上のＣＤＲ（例えば、１、２、または３つのＶＬ　ＣＤＲ）、例えば、表３に記載のＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及び／またはＶＬ　ＣＤＲ３を含む。

【０２１７】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、表１～３等の本明細書に記載される１つ以上（例えば、１つ、２つ、または３つ）のＶＨ　ＣＤＲを含む。他の実施形態では、５Ｔ４抗体は、表１～３等の本明細書に記載される１つ以上（例えば、１つ、２つ、または３つ）のＶＬ　ＣＤＲを含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、表１～３等の本明細書に記載の１つ以上（例えば、１、２、または３つ）のＶＨ　ＣＤＲ及び表１～３等の本明細書に記載の１つ以上（例えば、１、２、または３つ）のＶＬ　ＣＤＲを含む。したがって、いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、配列番号１、７、１２、１３、１８、２７、３１、３４、３５、３９、４６、５０、５３、及び５７のいずれか１つを含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、配列番号２、８、１４、１９、２４、２８、３２、３６、４０、４３、４７、５１、５４、５８、及び６１のいずれか１つを含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、配列番号３、９、１５、２０、２９、３３、３７、４１、４８、５２、５５、及び５９のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、表１～３のいずれか１つに記載されるＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３から独立して選択されるＶＨ　ＣＤＲ１及び／またはＶＨ　ＣＤＲ２及び／またはＶＨ　ＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態では、５

５Ｔ４抗体は、配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、配列番号６、１７、２３、３０、３８、４２、４９、５６、及び６０のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、表１～３のいずれか１つに記載されるＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、ＶＬ　ＣＤＲ３から独立して選択されるＶＬ　ＣＤＲ１及び／またはＶＬ　ＣＤＲ２及び／またはＶＬ　ＣＤＲ３を含む。

【０２１８】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、（１）（ｉ）配列番号１、２７、もしくは４６、（ｉｉ）配列番号７、３１、もしくは５０、（ｉｉｉ）配列番号１２、３４、もしくは５３、（ｉｖ）配列番号１３もしくは５３、及び（ｖ）配列番号１８、３９、または５７のいずれか１つのアミノ酸配列含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）（ｉ）配列番号２、２８、もしくは４７、（ｉｉ）配列番号８、３２、もしくは５１、（ｉｉｉ）配列番号１４、３６、もしくは５４、（ｉｖ）配列番号１９、４０、もしくは５８、及び（ｖ）配列番号２４、４３、もしくは６１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）（ｉ）配列番号３、２９、もしくは４８、（ｉｉ）配列番号９、３３、もしくは５２、（ｉｉｉ）配列番号１５、３７、もしくは５５、及び（ｉｖ）配列番号２０、４１、もしくは５９のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含む重鎖可変領域（ＶＨ）及び／または、（１）（ｉ）配列番号４、（ｉｉ）配列番号１０、（ｉｉｉ）配列番号１６、及び（ｉｖ）配列番号２１、のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）（ｉ）配列番号５、（ｉｉ）配列番号１１、及び（ｉｉｉ）配列番号２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）（ｉ）配列番号６、３０、もしくは４９、（ｉｉ）配列番号１７、３８、もしくは５６、及び（ｉｉｉ）配列番号２３、４２、もしくは６０、のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、を含む。

【０２１９】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、（１）（ｉ）配列番号１、２７、もしくは４６、（ｉｉ）配列番号７、３１、もしくは５０、（ｉｉｉ）配列番号１２、３４、もしくは５３、（ｉｖ）配列番号５３、及び（ｖ）配列番号１８、３９、もしくは５７、のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）（ｉ）配列番号２、２８、もしくは４７、（ｉｉ）配列番号８、３２、もしくは５１、（ｉｉｉ）配列番号１４、３６、もしくは５４、（ｉｖ）配列番号１９、４０、もしくは５８、及び（ｖ）配列番号２４、４３、もしくは６１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）（ｉ）配列番号３、２９、もしくは４８、（ｉｉ）配列番号９、３３、もしくは５２、（ｉｉｉ）配列番号１５、３７、または５５、及び（ｉｖ）配列番号２０、４１、または５９のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域を含む。

【０２２０】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、（１）（ｉ）配列番号４、（ｉｉ）配列番号１０、（ｉｉｉ）配列番号１６、及び（ｉｖ）配列番号２１、のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）（ｉ）配列番号５、（ｉｉ）配列番号１１、及び（ｉｉｉ）配列番号２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）（ｉ）配列番号６、３０、もしくは４９、（ｉｉ）配列番号１７、３８、もしくは５６、及び（ｉｉｉ）配列番号２３、４２、または６０のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域を含む。

【０２２１】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）（ｉ）配列番号１、２７、もしくは４６、（ｉｉ）配列番号７、３１、もしくは５０、（ｉｉｉ）配列番号１２、３４、もしくは５３、（ｉｖ）配列番号５３、及び（ｖ）配列番号１８、３９、または５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１

、（２）（ｉ）配列番号２、２８、もしくは４７、（ｉｉ）配列番号８、３２、もしくは５１、（ｉｉｉ）配列番号１４、３６、もしくは５４、（ｉｖ）配列番号１９、４０、もしくは５８、及び（ｖ）配列番号２４、４３、もしくは６１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）（ｉ）配列番号３、２９、もしくは４８、（ｉｉ）配列番号９、３３、もしくは５２、（ｉｉｉ）配列番号１５、３７、もしくは５５、及び（ｉｖ）配列番号２０、４１、もしくは５９のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び／または（１）（ｉ）配列番号４、（ｉｉ）配列番号１０、（ｉｉｉ）配列番号１６及び（ｉｖ）配列番号２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）（ｉ）配列番号５、（ｉｉ）配列番号１１、（ｉｉｉ）配列番号２２、のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）（ｉ）配列番号６、３０、もしくは４９、（ｉｉ）配列番号１７、３８、もしくは５６、及び（ｉｉｉ）配列番号２３、４２、または６０のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域を含む。

【０２２２】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（１）（ｉ）配列番号１、２７、もしくは４６、（ｉｉ）配列番号７、３１、もしくは５０、（ｉｉｉ）配列番号１２、３４、もしくは５３、（ｉｖ）配列番号１３、３５、もしくは５３、及び（ｖ）配列番号１８、３９、もしくは５７、のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）（ｉ）配列番号２、２８、もしくは４７、（ｉｉ）配列番号８、３２、もしくは５１、（ｉｉｉ）配列番号１４、３６、もしくは５４、（ｉｖ）配列番号１９、４０、もしくは５８、及び（ｖ）配列番号２４、４３、もしくは６１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）（ｉ）配列番号３、２９、もしくは４８、（ｉｉ）配列番号９、３３、もしくは５２、（ｉｉｉ）配列番号１５、３７、または５５、及び（ｉｖ）配列番号２０、４１、または５９のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域を含む。

【０２２３】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（１）（ｉ）配列番号４、（ｉｉ）配列番号１０、（ｉｉｉ）配列番号１６、及び（ｉｖ）配列番号２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１及び、（２）（ｉ）配列番号５、（ｉｉ）配列番号１１、及び（ｉｉｉ）配列番号２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）（ｉ）配列番号６、３０、もしくは４９、（ｉｉ）配列番号１７、３８、もしくは５６、及び（ｉｉｉ）配列番号２３、４２、または６０のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域を含む。

【０２２４】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）配列番号２５のＶＨアミノ酸配列及び配列番号２６のＶＬアミノ酸配列、を含むｍＡｂＡ４と特定される抗体、または（ｂ）配列番号４４のＶＨアミノ酸配列及び配列番号４５のＶＬアミノ酸配列を含むｍＡｂＡ１５と特定される抗体、または（ｃ）配列番号６２のＶＨアミノ酸配列及び配列番号６３のＶＬアミノ酸配列を含むｍＡｂＡ１７と特定される抗体、からの３つの重鎖ＣＤＲすべて及び／または３つの軽鎖ＣＤＲすべてを含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４抗体を含み、５Ｔ４抗体は、ｍＡｂＡ４と特定される抗体に由来する３つの重鎖ＣＤＲすべて及び／または３つの軽鎖ＣＤＲすべてを含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４抗体を含み、この５Ｔ４抗体は、ｍＡｂＡ１５と特定される抗体に由来する３つの重鎖ＣＤＲすべて及び／または３つの軽鎖ＣＤＲすべてを含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４抗体を含み、この５Ｔ４抗体は、ｍＡｂＡ１７と特定される抗体に由来する３つの重鎖ＣＤＲすべて及び／または３つの軽鎖ＣＤＲすべてを含む。

【０２２５】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）表１～３等の本明細書に記載されるＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ

ＣＤＲ３アミノ酸配列を含むＶＨ領域、及び／または（ｂ）表１～３等の本明細書に記載されるＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３アミノ酸配列を含むＶＬ領域を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、表１～３等の本明細書に記載されるＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３アミノ酸配列を含むＶＨ領域を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、表１～３等の本明細書に記載されるＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３アミノ酸配列を含むＶＬ領域を含む。

【０２２６】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２を含む。

【０２２７】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（１）配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２を含む。

【０２２８】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（１）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２を含む。

【０２２９】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２を含む。

【０２３０】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（１）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２を含む。

【０２３１】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。

【０２３２】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。

【０２３３】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。

【０２３４】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。

【０２３５】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２３６】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２３７】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号１８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２３８】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号１８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２３９】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２４０】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２４１】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２４２】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２４３】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号３４のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。

【０２４４】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）配列番号３４のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２４５】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号３５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２４６】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号３５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２４７】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号３９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２４８】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）配列番号３９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２４９】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２５０】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２５１】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２５２】
いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。
【０２５３】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。

【０２５４】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。

【０２５５】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。

【０２５６】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。

【０２５７】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号１、７、１２、１３、及び１８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号２、８、１４、１９、及び２４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号３、９、１５、及び２０のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号６、１７、及び２３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２５８】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号２のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２５９】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２６０】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号２のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤ

Ｒ１、（２）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２６１】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号１７のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２６２】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号１８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号１９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２６３】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号２４のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２６４】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号２７、３１、３４、３５、及び３９のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号２８、３２、３６、４０、及び４３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号２９、３３、３７、及び４１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号３０、３８、及び４２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２６５】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号２８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２６６】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号３３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２６７】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号３４のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号２８の

アミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２６８】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号３５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号３６のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号３７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号３８のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２６９】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号３９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号４０のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号４１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号４２のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２７０】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号４３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２７１】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号１３、４６、５０、５３、及び５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号４７、５１、５４、５８、及び６１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号４８、５２、５５、及び５９のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号４９、５６、及び６０のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２７２】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号４９のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２７３】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号４９のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２７４】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号４９のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２７５】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号５５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号５６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２７６】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号５９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号６０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２７７】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、（ａ）（１）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号６１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号４９のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０２７８】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、配列番号２７、３１、３４、３５、及び３９からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、を含むＶＨ領域、及び（１）配列番号４、１０、１６、及び２１を含むＶＬ　ＣＤＲ１、及び（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、を含むＶＬ領域、を含む。

【０２７９】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体を含み、抗体は、本明細書に記載のＶＨ領域及び／またはＶＬ領域を含み、ＶＨ及び／またはＶＬは、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、ＶＨ領域及び／またはＶＬ領域は、フレームワーク１（ＦＲ１）、フレームワーク２（ＦＲ２）、フレームワーク３（ＦＲ３）、及び／またはフレームワーク４（ＦＲ４）配列、例えば、ヒトＦＲ１、ヒトＦＲ２、ヒトＦＲ３、及び／またはヒトＦＲ４を含む。

【０２８０】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体のＣＤＲは、Ｋａｂａｔシステムによって決定され得る（Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．（１９７１）Ａｎｎ．ＮＹ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．１９０：３８２－３９１及びＫａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，Ｆｉｆｔｈ　Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ　Ｈｕｍａｎ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，ＮＩＨ　Ｐｕｌｉｃａｔｉｏｎ　Ｎｏ．９１－３２４２）。

【０２８１】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体のＣＤＲは、Ｃｈｏｔｈｉａシステムによって決

定することができ、これは、本明細書では「Ｃｈｏｔｈｉａ　ＣＤＲ」と呼ばれる（例えば、Ｃｈｏｔｈｉａ　ａｎｄ　Ｌｅｓｋ，１９８７，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，１９６：９０１－９１７、Ａｌ－Ｌａｚｉｋａｎｉ　ｅｔ　ａｌ．，１９９７，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２７３：９２７－９４８、Ｃｈｏｔｈｉａ　ｅｔ　ａｌ．，１９９２，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２７：７９９－８１７、Ｔｒａｍｏｎｔａｎｏ　Ａ．ｅｔ　ａｌ．．，１９９０，Ｊ．　Ｍｏｌ．　Ｂｉｏｌ．　２１５（１）：１７５－８２、及び米国特許第７，７０９，２２６号を参照されたい）。

【０２８２】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体のＣＤＲは、例えば、Ｌｅｆｒａｎｃ，Ｍ．－Ｐ．，　１９９９，Ｔｈｅ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｓｔ，７：１３２－１３６及びＬｅｆｒａｎｃ，Ｍ．　－Ｐ．　ｅｔ　ａｌ．，１９９９，Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．，２７：２０９－２１２（「ＩＭＧＴ（登録商標）ＣＤＲｓ」）に記載のＩｍＭｕｎｏＧｅｎｅ　Ｔｉｃｓ（ＩＭＧＴ（登録商標））システムによって決定され得る。

【０２８３】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体のＣＤＲは、ＡｂＭシステムによって決定することができ、これは、本明細書では「ＡｂＭ　ＣＤＲ」と呼ばれ、例えば、ＭａｃＣａｌｌｕｍ　ｅｔ　ａｌ．，１９９６，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２６２：７３２－７４５に記載されている。例えば、Ｍａｒｔｉｎ，Ａ．，“Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｅｑｕｅｎｃｅ　ａｎｄ　Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ　Ａｎａｌｙｓｉｓ　ｏｆ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｖａｒｉａｂｌｅ　Ｄｏｍａｉｎｓ，”ｉｎ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，　Ｋｏｎｔｅｒｍａｎｎ　ａｎｄ　Ｄｕｂｅｌ，ｅｄｓ．，Ｃｈａｐｔｅｒ　３１，ｐｐ．４２２－４３９，Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｂｅｒｌｉｎ（２００１）も参照されたい。

【０２８４】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体のＣＤＲは、Ｃｏｎｔａｃｔのシステムによって決定することができ、これは、本明細書では「Ｃｏｎｔａｃｔ　ＣＤＲ」と呼ばれる（例えば、ＭａｃＣａｌｌｕｍ　ＲＭ　ｅｔ　ａｌ．，　１９９６，Ｊ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ　５：７３２－７４５を参照されたい）。Ｃｏｎｔａｃｔ　ＣＤＲは、利用可能な複合体結晶構造の分析に基づく。

【０２８５】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体のＶＨ（例えば、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、もしくはＣＤＲ３）及び／またはＶＬ（例えば、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、もしくはＣＤＲ３）領域に沿った１つ以上（例えば、１、２、３つ）のＣＤＲの位置は、５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）への結合が維持される（例えば、実質的に維持される、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％）ことを条件として、１、２、３、４、５、または６つのアミノ酸位置によって異なり得る。例えば、いくつかの実施形態では、表１、２、または３のうちのいずれかのＣＤＲを定義する位置は、５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）への結合が（例えば、実質的に維持される、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％）維持されることを条件に、現在のＣＤＲの位置に対して、ＣＤＲのＮ末端及び／またはＣ末端境界を１、２、３、４、５または６つのアミノ酸分シフトすることによって異なり得る。付加的または代替的に、いくつかの実施形態では、本明細書に記載のＶＨ（例えば、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、またはＣＤＲ３）及び／またはＶＬ（例えば、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、またはＣＤＲ３）に沿った１つ以上の（例えば、１、２、３つ）ＣＤＲの長さは、５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）への結合が維持される（例えば、実質的に維持される、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％）ことを条件に、１、２、３、４、５またはそれ以上のアミノ酸分異なり得る（例えば、より短くまたは長く）。例えば、いくつかの実施形態では、５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）への結合が維持される（例えば、実質的に維持される、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０

％、または少なくとも９５％）ことを条件に、ＶＨ及び／またはＶＬのＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及び／またはＣＤＲ３は、配列番号１～２４、２７～４３、または４６～６１に記載の１つ以上のＣＤＲに比べて、１、２、３、４、５またはそれ以上のアミノ酸分短くてもよい。他の実施形態では、５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）への結合が維持される（例えば、実質的に維持される、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％）ことを条件として、ＶＨ及び／またはＶＬのＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及び／またはＣＤＲ３は、１、２、３、４、５、またはそれ以上のアミノ酸分長くてもよい。付加的または代替的に、いくつかの実施形態では、ＶＨ及び／またはＶＬのＣＤＲ１、ＣＤＲ２、またはＣＤＲ３のアミノ酸末端は、５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）への結合が維持される（例えば、実質的に維持される、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％）ことを条件として、配列番号１～２４、２７～４３、または４６～６１に記載の１つまたはそれ以上のＣＤＲに比べて、１、２、３、４、５、またはそれ以上のアミノ酸分延長することができる。付加的または代替的に、いくつかの実施形態では、ＶＨ及び／またはＶＬのＣＤＲ１、ＣＤＲ２、またはＣＤＲ３のカルボキシ末端は、５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）への結合が維持される（例えば、実質的に維持される、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％）ことを条件として、配列番号１～２４、２７～４３、または４６～６１に記載の１つまたはそれ以上のＣＤＲに比べて、１、２、３、４、５、またはそれ以上のアミノ酸分延長することができる。付加的または代替的に、いくつかの実施形態では、ＶＨ及び／またはＶＬのＣＤＲ１、ＣＤＲ２、またはＣＤＲ３のアミノ酸末端は、５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）への結合が維持される（例えば、実質的に維持される、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％）ことを条件として、配列番号１～２４、２７～４３、または４６～６１に記載の１つまたはそれ以上のＣＤＲに比べて、１、２、３、４、５、またはそれ以上のアミノ酸分短縮することができる。いくつかの実施形態では、ＶＨ及び／またはＶＬのＣＤＲ１、ＣＤＲ２、またはＣＤＲ３のカルボキシ末端は、５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）への結合が維持される（例えば、実質的に維持される、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％）ことを条件として、配列番号１～２４、２７～４３、または４６～６１に記載の１つまたはそれ以上のＣＤＲに比べて、１、２、３、４、５、またはそれ以上のアミノ酸分短縮することができる。５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）への結合が維持されているかどうかを確認するためには、例えば、本明細書に記載の「実施例」の節に記載される結合アッセイ及び条件のような、当該技術分野で公知の任意の方法を使用することができる。例えば、本明細書に記載の実施例２では、５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）への結合を測定するためのアッセイを記載する。

【０２８６】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、１つまたは複数（例えば、１、２、３、４、またはそれ以上）の保存的配列修飾を含む５Ｔ４抗体を含み得る。ヒト５Ｔ４抗体などの５Ｔ４抗体であるポリペプチドに関して、保存的配列修飾には、アミノ酸残基が同様の側鎖を有するアミノ酸残基で置き換えられる保存的アミノ酸置換が含まれる。同様の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当該技術分野で定義されている。これらのファミリーは、本明細書に開示されている。したがって、いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体における予測される非必須アミノ酸残基を、同じ側鎖ファミリーからの別のアミノ酸残基で置き換えることができる。抗原結合とそのヌクレオチドのコーディングを排除しない、アミノ酸の保存的置換を特定する方法は当該技術分野では周知のものである（例えば、Ｂｒｕｍｍｅｌｌ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ．３２：１１８０－１１８７（１９９３）；Ｋｏｂａｙａｓｈｉ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．１２（１０）：８７９－８８４（１９９９）；及びＢｕｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃ

ａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９４：４１２－４１７（１９９７）を参照）。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の保存的配列修飾は、５Ｔ４抗体（例えば、ヒト５Ｔ４抗体）のアミノ酸配列を、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、または９９％修飾する。いくつかの実施形態では、アミノ酸配列修飾は、表１～３のいずれか１つに記載されるもの等の、ＣＤＲに対する、最大で１、２、３、４、５、または６のアミノ酸置換を指す。したがって、例えば、各かかるＣＤＲは、最大５個の保存的アミノ酸置換、例えば、最大４（それ以下）の保存的アミノ酸置換、例えば、最大３（それ以下）の保存的アミノ酸置換、例えば、最大２（それ以下）の保存的アミノ酸置換、または１以下の保存的アミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、ｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、またはｍＡｂＡ１７のＣＤＲに対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する５Ｔ４抗体を含む（例えば、表１、２、または３を参照されたい）。いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、ｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、またはｍＡｂＡ１７のものと同一のＣＤＲを含むＶＨ及びＶＬを含有する５Ｔ４抗体を含む（例えば、表１、２、または３を参照されたい）。いくつかの実施形態では、アミノ酸配列修飾は、特異性決定残基（ＳＤＲ）内のいかなる修飾も含まない。いくつかの実施形態では、アミノ酸配列修飾は、ＣＤＲ（ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、ＣＤＲ３、またはそれらの任意の組み合わせなど）内のいかなる修飾も含まない。さらなる実施形態では、アミノ酸配列修飾は、フレームワークまたは定常領域内にある。

【０２８７】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣにおける抗体は、配列番号２５に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号２６に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬを含み、５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）に対する抗体の結合が、維持される（例えば、実質的に維持される、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％）。

【０２８８】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣにおける抗体は、配列番号４４に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号４５に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬを含み、５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）に対する抗体の結合が、維持される（例えば、実質的に維持される、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％）。

【０２８９】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣにおける抗体は、配列番号６２に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号６３に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬを含み、５Ｔ４（例えば、ヒト５Ｔ４）に対する抗体の結合が、維持される（例えば、実質的に維持される、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％）。

【０２９０】

加えて、本明細書に開示される５Ｔ４結合剤（例えば、抗体または抗体断片）または融合ポリペプチドをコードする核酸、それに相補的な核酸、本明細書で開示される核酸を含むベクター、本明細書で開示される核酸を含む細胞またはベクターが提供される。いくつ

かの実施形態では、細胞は、５Ｔ４結合剤を発現する。いくつかの実施形態では、細胞は、核酸またはベクターを複製する。いくつかの実施形態では、ＡＤＣの調製に有用な、ヒト５Ｔ４抗体を含む５Ｔ４抗体を生成するための材料がさらに提供される。この点で、細胞（例えば、単離された細胞）は、本明細書に記載のＶＨ及びＶＬを含む抗体を産生することができる。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、５Ｔ４抗体または抗体断片をコードする１つ以上の核酸配列を含み得る。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは、単離及び／または組み換えポリヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、単離ポリヌクレオチドは、抗体重鎖可変領域（ＶＨ）及び／または抗体軽鎖可変領域（ＶＬ）をコードするヌクレオチド配列を含み、ＶＨ及びＶＬは、本明細書に記載のＣＤＲと同一のＣＤＲを含む。

【０２９１】

いくつかの実施形態では、１つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）は、適切な宿主細胞において１つ以上のポリヌクレオチドを発現させるための１つ以上のポリヌクレオチドを含み得る。かかるベクターは、例えば、宿主細胞内のポリヌクレオチドを増幅させて有用な量を創出するために、及び結合剤、例えば、抗体または抗体断片を、組換え技法を使用して発現させるために有用である。

【０２９２】

いくつかの実施形態では、１つ以上のベクターは、１つ以上のポリヌクレオチドが、発現制御配列を含む１つ以上のポリヌクレオチドに作動可能に連結される発現ベクターである。５Ｔ４に結合する抗体配列をコードする１つ以上のポリヌクレオチドを組み込んだプラスミド及びウイルスＤＮＡベクターなどの自己複製組み換え発現構築物が具体的に企図される。発現対照ＤＮＡ配列には、プロモーター、エンハンサー、及びオペレーターが含まれ、一般に、発現構築物が利用される発現系に基づいて選択される。プロモーター及びエンハンサー配列は一般に、遺伝子発現を増加させる能力のために選択されるが、オペレーター配列は、一般に、遺伝子発現を調節する能力のために選択される。発現構築物はまた、構築物を保有する宿主細胞の同定を可能にする１つ以上の選択可能マーカーをコードする配列を含むこともできる。発現構築物はまた、宿主細胞における相同組換えを助長する、例えば促進する、配列を含むこともできる。いくつかの実施形態では、発現構築物はまた、宿主細胞における複製に必要な配列も含む。

【０２９３】

いくつかの実施形態では、発現制御配列は、プロモーター／エンハンサー配列、例えば、サイトメガロウイルスプロモーター／エンハンサー（Ｌｅｈｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．，２９：２４９４－２５０２，１９９１、Ｂｏｓｈａｒｔ ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ，４１： ５２１－５３０，１９８５）；ラウス肉腫ウイルスプロモーター（Ｄａｖｉｓ ｅｔ ａｌ．，Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．，４：１５１，１９９３）、タイプロモーター（Ｋｏｒｈｏｎｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ，８６（５）：１８２８－１８３５，１９９５）、サルウイルス４０プロモーター、ＤＲＡ（ｄｏｗｎｒｅｇｕｌａｔｅｄ ｉｎ ａｄｅｎｏｍａ；Ａｌｒｅｆａｉ ｅｔ ａｌ．，Ａｍ．Ｊ．Ｊ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．Ｇａｓｔｒｏｉｎｔｅｓｔ．Ｌｉｖｅｒ Ｐｈｙｓｉｏｌ．，２９３： Ｇ９２３－Ｇ９３４，２００７）；ＭＣＴ１（モノカルボキシレートトランスポーター１、Ｃｕｆｆ ｅｔ ａｌ．，Ａｍ．Ｊ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．Ｇａｓｔｒｏｉｎｔｅｓｔ．Ｌｉｖｅｒ Ｐｈｙｓｉｏｌ．，Ｇ９７７－Ｇ９７９． ２００５）、及びＭａｔｈ１（ｍｏｕｓｅ ａｔｏｎａｌ ｈｏｍｏｌｏｇ １、Ｓｈｒｏｙｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ，１３２：２４７７－２４７８，２００７）を含んでもよく、哺乳類細胞での発現のため、プロモーターはポリペプチドコード配列の上流（例えば、５’）に作動可能に連結される。いくつかの実施形態では、プロモーターは、上皮特異的プロモーターまたは内皮特異的プロモーターであり得る。ポリヌクレオチドはまた、任意選択で、ポリペプチドコード配列の下流（例えば、３’）に作動可能に連結された好適なポリアデニル化配列（例えば、ＳＶ４０またはヒト成長ホルモン遺伝子ポリアデニル化配列）を含み得る。

【０２９４】
任意の実施形態では、１つ以上のポリヌクレオチドは、ポリペプチド配列とインフレームで融合された１つ以上の分泌シグナルペプチドをコードする１つ以上のヌクレオチド配列を任意選択的にさらに含むことができる。１つ以上の分泌シグナルペプチドは、１つ以上のポリヌクレオチドを発現する細胞による抗体ポリペプチドの分泌を導くことができ、分泌されたポリペプチドから細胞によって開裂し得る。任意の実施形態では、１つ以上のポリヌクレオチドは、さらに、任意選択で、ベクターの大スケール生産を容易にすることのみが意図される機能である１つ以上の配列を含み得る。
【０２９５】
発現ベクターは、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ，ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，２ｄ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹ（１９８９）、及びＡｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ ａｎｄ Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ（１９９４）に記載される標準的な組み換えＤＮＡ技術を使って調製することができる。任意選択で、ウイルスベクターは、例えば、ウイルスの複製に必要な選択遺伝子を欠失または破壊することによって複製欠損にされる。
【０２９６】
細胞は、１つ以上のポリヌクレオチド及び／または１つ以上のベクターを含み得る。例えば、任意の実施形態では、細胞は、５Ｔ４抗体（例えば、ヒト５Ｔ４抗体）をコードする１つ以上のポリヌクレオチド、または５Ｔ４抗体（例えば、ヒト５Ｔ４抗体）をコードする１つ以上のポリヌクレオチドを含む１つ以上のベクターで形質転換またはトランスフェクトされ得る。いくつかの実施形態では、細胞は、例えば、本明細書に記載のｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、及び／またはｍＡｂＡ１７（例えば、表１、２、及び／または３を参照のこと）のようなＣＤＲに対して、少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する、１またはそれ以上の（例えば、１、２、３、４、５、または６の）ＣＤＲを含む５Ｔ４抗体を発現することができる。いくつかの実施形態では、細胞は、ｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、及び／またはｍＡｂＡ１７（例えば、表１、２、及び／または３）を含むＶＨ領域及びＶＬ領域を含む５Ｔ４抗体（例えばヒト５Ｔ４抗体）を発現することができる。本明細書に記載の５Ｔ４抗体の生成に適した細胞としては、原核細胞、例えば、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ（例えば、Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．，１７８：４９７－５１５，１９８９を参照のこと）、及び真核細胞、例えば、動物細胞（例えば、骨髄腫細胞、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、もしくはハイブリドーマ細胞）、酵母（例えば、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）、または植物細胞（例えば、タバコ、トウモロコシ、ダイズ、もしくはコメ細胞）が挙げられる。哺乳類宿主細胞の使用は、組換え発現産物に最適な生物活性を与えることが望ましい場合がある翻訳修飾（例えば、グリコシル化、トランケーション、脂質化、及びリン酸化）を提供することができる。同様に、任意の実施形態において、ポリペプチド（例えば、ヒト５Ｔ４抗体を含む５Ｔ４抗体）は、グリコシル化もしくは非グリコシル化されていてもよく、及び／またはポリエチレングリコール、ポリオキシエチレングリコールまたはポリプロピレングリコールなどの１つ以上の水溶性ポリマーアタッチメントを含むように共有結合修飾されていてもよい。
【０２９７】
ＤＮＡまたはＲＮＡを宿主細胞に導入するための方法は周知であり、形質転換、形質移入、エレクトロポレーション、核内注射、ならびにリポソーム、ミセル、シャドウ細胞、及びプロトプラストなどの担体との融合が含まれるが、これらに限定されない。かかる宿主細胞は、ポリヌクレオチドを増幅させるのに、及びポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドを発現させるのに有用である。この点で、５Ｔ４抗体を生成するための

プロセスは、本明細書に記載されるように５Ｔ４抗体をコードするＲＮＡまたはＤＮＡを宿主細胞に導入し、宿主細胞を培養し、したがって生成された５Ｔ４抗体を単離することを含み得る。

【０２９８】

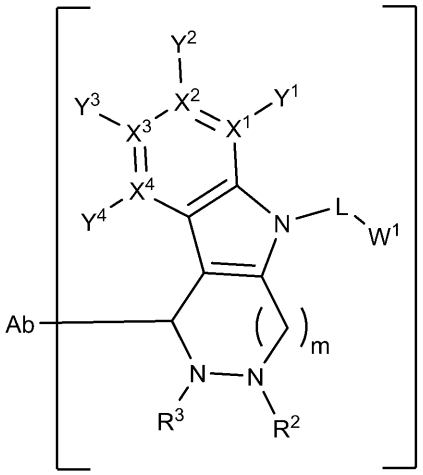
ポリヌクレオチドから抗体を生成するための様々な方法が一般的に周知である。例えば、基本的な分子生物学手順は、Ｍａｎｉａｔｉｓ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，２ｎｄ ｅｄ．， Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８９（Ｍａｎｉａｔｉｓ ｅｔ ａｌ，３ｒｄ ｅｄ．， Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ， ２００１）も参照されたい）によって説明されている。さらに、多数の刊行物が、ＤＮＡの操作、発現ベクターの作製、ならびに適切な細胞の形質転換及び培養による抗体の調製に適した技術を記載している（例えば、Ｍｏｕｎｔａｉｎ ａｎｄ Ａｄａｉｒ，Ｃｈａｐｔｅｒ １ ｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｇｅｎｅｔｉｃ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ Ｒｅｖｉｅｗｓ，Ｔｏｍｂｓ ｅｄ．， Ｉｎｔｅｒｃｅｐｔ，Ａｎｄｏｖ，ＵＫ，１９９２）、及びＣｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｄ．，Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９９９）。

【０２９９】

５Ｔ４－ＡＤＣ

５Ｔ４に結合する抗体及び薬物をピリダジン－ピロロカップリング部分を介して互いに直接的にまたは間接的に連結して、本明細書に記載される５Ｔ４－ＡＤＣを形成することができる。いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）で表され得：

【化２７】



ｒ（ＩＶ）、

式中、

Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、

ｒは、１～１０の整数であり、

ｍは０または１であり、

R^2及びR^3は、各々独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、またはR^2及びR^3は、環状に連結されて、５員もしくは６員ヘテロシクリルを形成し、

X^1、X^2、X^3、及びX^4は、各々独立して、C、N、O、またはSであり、
Y^1、Y^2、Y^3及びY^4は、各々独立して、水素、ハロゲン、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、またはY^1及びY^2、Y^2及びY^3、またはY^3及びY^4は、環状に連結され、
Lが、本明細書に記載されるようなリンカーであり、及び
W^1は薬物である。

【０３００】

式（ＩＶ）は、ＷＯ２０１５／０８１２８２で以前に説明されており、これは参照によりその全体が本明細書に援用される。

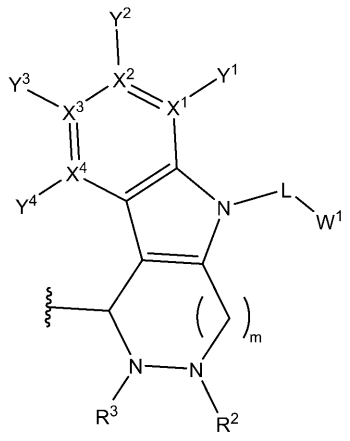
【０３０１】

いくつかの実施形態では、mは、０または１であり、R^2及びR^3は各々、アルキルである。例えば、R^2及びR^3は、各々独立して、C_1～C_{10}アルキル（例えば、C_1～C_6アルキル）であり得る。いくつかの実施形態では、R^2及びR^3は、各々独立して、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソ－プロピル、ｎ－ブチル、ｓｅｃ－ブチル、イソブチル、またはｔ－ブチルである。いくつかの実施形態では、R^2及びR^3のうちの少なくとも１つは、メチルである。いくつかの実施形態では、R^2及びR^3の両方がメチルである。いくつかの実施形態では、X^1、X^2、X^3、及びX^4の各々は、独立して、ＣまたはＮである。いくつかの実施形態では、X^1は、Ｃである。一部の実施形態では、X^1は、Ｎである。一部の実施形態では、X^2は、ＣまたはＮである。一部の実施形態では、X^2はＣである。一部の実施形態では、X^3はＣまたはＮである。一部の実施形態では、X^3はＣである。一部の実施形態では、X^4はＣまたはＮである。一部の実施形態では、X^4は、Ｃである。X^1、X^2、X^3、及びX^4の様々な組み合わせが可能である。例えば、いくつかの実施形態では、X^1、X^2、X^3、及びX^4の各々がＣである。他の実施形態では、X^1、X^2、X^3、及びX^4のうちの３つはＣであり、X^1、X^2、X^3、及びX^4のうち１つはＮである。一部の実施形態では、Y^1、Y^2、Y^3、及びY^4の各々は、水素である。

【０３０２】

式（ＩＶ）の５Ｔ４－ＡＤＣの文脈において、式（ＩＶ）のリンカー－薬物は、下記の式（ＸＩＶ）で表され得：

【化２８】



（ＸＩＶ）、

式中、

【化２９】

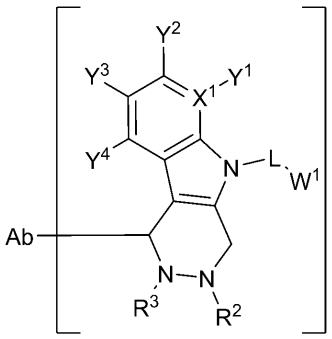
〰

は、５Ｔ４に結合する抗体への結合点を表す（例えば、配列番号９３、９７、または１０１の残基ｎ）。式（ＸＩＶ）のリンカー－薬物の他の可変要素は全て、式（ＩＶ）に関してなど、本明細書で定義する通り、及び／または本明細書に記載される通りであり得る。

【０３０３】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（Ｖ）で表され得：

【化３０】



r（Ｖ）、

式中、

Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、

ｒは、１～１０の整数であり、

R^2及びR^3は、各々独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、またはR^2及びR^3は、環状に連結されて、５員もしくは６員ヘテロシクリルを形成し、

X^1はＣまたはＮであり、

Y^1、Y^2、Y^3及びY^4は、各々独立して、水素、ハロゲン、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、またはY^1及びY^2、Y^2及びY^3、またはY^3及びY^4は、環状に連結され、

Ｌが、本明細書に記載されるようなリンカーであり、及び

W^1は薬物である。

【０３０４】

式（Ｖ）は、ＷＯ２０１５／０８１２８２で以前に説明されており、これは参照によりその全体が本明細書に援用される。

【０３０５】

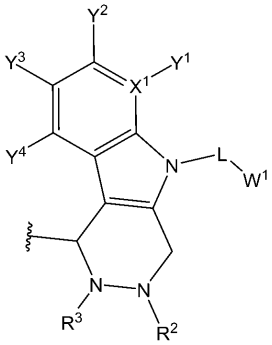
いくつかの実施形態では、R^2及びR^3は各々アルキルである。例えば、R^2及びR^3は、各々独立して、C_1～C_{10}アルキル（例えば、C_1～C_6アルキル）であり得る。いくつかの実施形態では、R^2及びR^3は、各々独立して、メチル、エチル、ｎ－プロピ

ル、イソ－プロピル、ｎ－ブチル、ｓｅｃ－ブチル、イソブチル、またはｔ－ブチルである。いくつかの実施形態では、Ｒ^{2}及びＲ^{3}のうちの少なくとも１つは、メチルである。いくつかの実施形態では、Ｒ^{2}及びＲ^{3}の両方がメチルである。一部の実施形態では、Ｙ^{1}、Ｙ^{2}、Ｙ^{3}、及びＹ^{4}の各々は、水素である。

【０３０６】

式（Ｖ）の５Ｔ４－ＡＤＣの文脈において、式（Ｖ）のリンカー－薬物は、下記の式（ＸＶ）：

【化３１】



（ＸＶ）、

で表され得、式中、

【化３２】

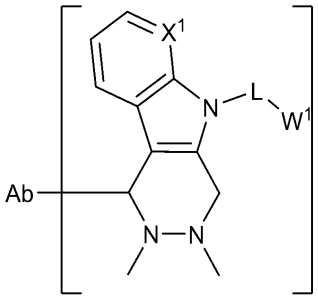
〰

は、５Ｔ４に結合する抗体への結合点を表す（例えば、配列番号９３、９７、または１０１の残基ｎ）。式（ＸＶ）のリンカー－薬物の他の可変要素は全て、式（Ｖ）に関してなど、本明細書で定義する通り、及び／または本明細書に記載される通りであり得る。

【０３０７】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ）で表され得：

【化３３】



ｒ（ＶＩ）、

式中、

Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、

ｒは、１～１０の整数であり、

Ｘ^{1}はＣまたはＮであり、

Ｌが、本明細書に記載されるようなリンカーであり、及び

Ｗ^{1}は薬物である。

【０３０８】

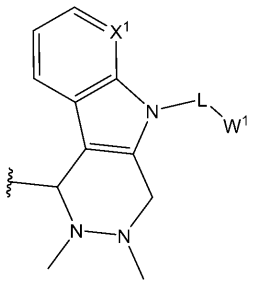
式（ＩＶ）は、ＷＯ２０１５／０８１２８２で以前に説明されており、これは参照によ

りその全体が本明細書に援用される。

【０３０９】

式（ＶＩ）の５Ｔ４－ＡＤＣの文脈において、式（ＶＩ）のリンカー－薬物は、下記の式（ＸＶＩ）で表され得：

【化３４】



（ＸＶＩ）、

式中、

【化３５】

は、５Ｔ４に結合する抗体への結合点を表す（例えば、配列番号９３、９７、または１０１の残基ｎ）。式（ＸＶＩ）のリンカー－薬物の他の可変要素は全て、式（ＶＩ）に関してなど、本明細書で定義する通り、及び／または本明細書に記載される通りであり得る。

【０３１０】

リンカー

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、本明細書に記載されるようなピリダジン－ピロロカップリング部分を薬物に連結するリンカー（Ｌ）部分を含み得る。任意の実施形態において、リンカーＬは、以下の構造によって表され得：

－（T^1V^1）$_a$－（T^2V^2）$_b$－（T^3V^3）$_c$－（T^4V^4）$_d$－（T^5V^5）$_e$－、

式中、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅが、各々独立して、０または１であり、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅの合計が、１～５である。一部の実施形態では、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅの合計が、３である。一部の実施形態では、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅの合計は、５である。

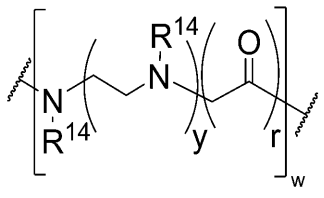
【０３１１】

リンカーにおいて、Ｌ、T^1、T^2、T^3、T^4、及びT^5は、各々独立して、C_1～C_{12}アルキル、置換C_1～C_{12}アルキル、（ＥＤＡ）$_w$、（ＰＥＧ）$_n$、（ＡＡ）$_p$、－（$CR^{13}OH$）$_h$－、ピペリジン－４－アミン（Ｐ４Ａ）、メタ－アミノベンジルカルバメート（ＭＡＢＣ）基、メタ－アミノベンジルオキシ（ＭＡＢＯ）基、パラ－アミノベンジルオキシ（ＰＡＢＯ）基、パラ－アミノベンジルカルバメート（ＰＡＢＣ）基、パラ－アミノベンジル（ＰＡＢ）基、アセタール、ジスルフィド、ヒドラジン、プロテアーゼ開裂性部分、グルクロニダーゼ開裂性部分、ベーターラクタマーゼ開裂性部分、エステル、（ＡＡ）$_p$－ＭＡＢＣ－（ＡＡ）$_p$、（ＡＡ）$_p$－ＭＡＢＯ－（ＡＡ）$_p$、（ＡＡ）$_p$－ＰＡＢＯ－（ＡＡ）$_p$、または（ＡＡ）$_p$－ＰＡＢＣ－（ＡＡ）$_p$であり（式中、ｗは、１～２０の整数であり、ｎは１～３０の整数であり、各ｐは独立して、ゼロまたは１～２０の整数であり、ｈは１～１２の整数であり、各R^{13}は独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、または置換アリールである。

【０３１２】

本明細書で使用される場合、「（ＥＤＡ）$_w$」は、以下の構造を有するエチレンジアミン部分である：

【化３６】



、

式中、ｙは、１～６の整数であり、ｒは、０または１であり、ｗは、１～２０の整数であり、各Ｒ^{14}は、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、ＰＥＧ、アリール、または置換アリールであり、任意の２つの隣接するＲ^{14}の基は、環状に連結されてピペラジニル環を形成することができ、式中、各

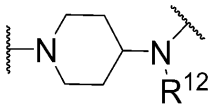
【化３７】

は、隣接する化学部分への任意の方向での結合点を表す。

【０３１３】

ピペリジン－４－アミン部分は、１つ以上の位置で任意の置換基、例えば、アルキル、置換アルキル、ポリエチレングリコール部分、アシル、置換アシル、アリール、または置換アリールで任意に置換されていてもよい。したがって、本明細書で使用される場合、本明細書で使用されるピペリジン－４－アミンは、以下の構造に対応する「Ｐ４Ａ－Ｒ^{12}」という用語によって説明することができる：

【化３８】



式中、Ｒ^{12}は独立して、水素、アルキル、置換アルキル、ポリエチレングリコール部分（例えば、ポリエチレングリコールまたは修飾ポリエチレングリコール）、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、式中、各

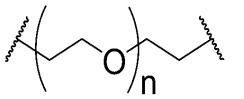
【化３９】

が、隣接する化学部分への任意の方向での結合点を表す。

【０３１４】

本明細書で使用される場合、（ＰＥＧ）$_n$は、以下の構造を有するポリエチレングリコールである：

【化４０】



、

式中、ｎは、１～５０、例えば、１～４０、１～３０、１～２０、１～１２、または１～６、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、または２０の整数であり、式中、各

【化４１】

は、隣接する化学部分への任意の方向での結合点を表す。

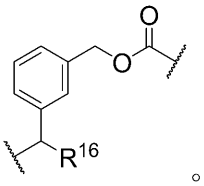
【０３１５】

本明細書で使用される場合、「ＡＡ」は、任意の天然に存在するアミノ酸、天然に存在するアミノ酸類似体、天然に存在するアミノ酸のエナンチオマー、及び天然に存在しないアミノ酸を含むがこれらに限定されない、本明細書に記載のアミノ酸を指す。（ＡＡ）$_p$において、各アミノ酸残基は独立して、独立して本明細書に記載されるものから選択することができ、ｐは、１～４０、１～３０、１～２０、１～１２または１～６など、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、もしくは２０などの１～５０の整数であり得る。

【０３１６】

本明細書で使用される場合、ＭＡＢＣ基は、「ＭＡＢＣ－Ｒ^{16}」という用語によって、及び以下の構造によって説明され得る：

【化４２】

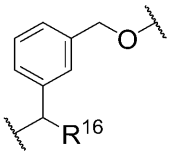


。

【０３１７】

本明細書で使用される場合、ＭＡＢＯ基は、「ＭＡＢＯ－Ｒ^{16}」という用語によって、及び以下の構造によって説明され得る：

【化４３】

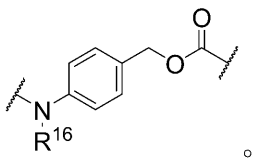


。

【０３１８】

本明細書で使用される場合、ＰＡＢＣ基は、「ＰＡＢＣ－Ｒ^{16}」という用語によって、及び以下の構造によって説明され得る：

【化４４】

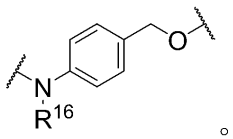


。

【０３１９】

本明細書で使用される場合、ＰＡＢＯ基は、「ＰＡＢＯ－Ｒ１６」という用語によって、及び以下の構造によって説明され得る：

【化４５】

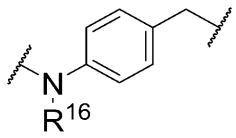


。

【０３２０】

本明細書で使用される場合、パラ‐アミノベンジル（ＰＡＢ）基は、「ＰＡＢ－Ｒ１６」という用語によって、及び以下の構造によって説明され得る：

【化４６】



。

【０３２１】

ＭＡＢＣ－Ｒ１６、ＭＡＢＯ－Ｒ１６、ＰＡＢＣ－Ｒ１６、ＰＡＢＯ－Ｒ１６、及びＰＡＢ－Ｒ１６において各

【化４７】

は隣接する化学部分への任意の方向での結合点を表し、Ｒ１６は独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルである。

【０３２２】

いくつかの実施形態では、Ｔ１、Ｔ２、Ｔ３、Ｔ４、及びＴ５のうちの１つ以上は、Ｃ１～Ｃ６アルキルである。いくつかの実施形態では、Ｔ１は、独立して、Ｃ１～Ｃ６アルキルである。いくつかの実施形態では、Ｔ１は、エチルである。いくつかの実施形態では、Ｔ１及びＴ３の各々は、Ｃ１～Ｃ６アルキルである。いくつかの実施形態では、Ｔ１及びＴ３の各々は、エチルである。

【０３２３】

いくつかの実施形態では、Ｔ１、Ｔ２、Ｔ３、Ｔ４、及びＴ５のうちの１つ以上は、Ｐ

４Ａ－Ｒ^{12}である。一部の実施形態では、各Ｒ^{12}は独立して、ポリエチレングリコール部分である。一部の実施形態では、各Ｒ^{12}は独立して、カルボン酸変性ポリエチレングリコールである。一部の実施形態では、Ｔ^{2}は、Ｐ４Ａ－Ｒ^{12}であり、式中、Ｒ^{12}は、カルボン酸変性ポリエチレングリコールである。

【０３２４】

一部の実施形態では、Ｔ^{1}、Ｔ^{2}、Ｔ^{3}、Ｔ^{4}、及びＴ^{5}のうちの１つ以上は、（ＰＥＧ）$_{n}$である。一部の実施形態では、ｎは、２である。一部の実施形態では、Ｔ^{3}は、（ＰＥＧ）$_{n}$であり、式中、ｎは、２である。

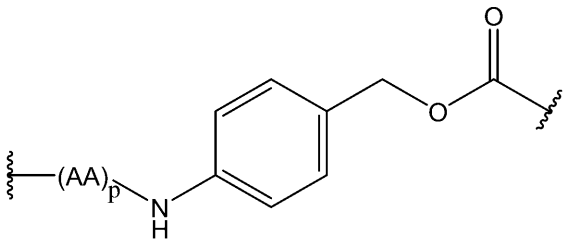
【０３２５】

いくつかの実施形態では、Ｔ^{1}、Ｔ^{2}、Ｔ^{3}、Ｔ^{4}、及びＴ^{5}のうちの１つ以上は、（ＡＡ）$_{p}$である。一部の実施形態では、ｐは、１である。一部の実施形態では、Ｔ^{2}は、（ＡＡ）$_{p}$であり、式中、ｐは１である。一部の実施形態では、（ＡＡ）$_{p}$のＡＡは、極性非荷電側鎖を有するアミノ酸（例えば、セリン、スレオニン、アスパラギン、またはグルタミンである）。一部の実施形態では、（ＡＡ）$_{p}$のＡＡは、グルタミンである。

【０３２６】

いくつかの実施形態では、Ｔ^{1}、Ｔ^{2}、Ｔ^{3}、Ｔ^{4}、及びＴ^{5}のうちの１つ以上は、（ＡＡ）$_{p}$－（Ｐ４ＢＣ－Ｒ^{16}）－（ＡＡ）$_{p}$であるいくつかの実施形態では、Ｒ^{16}は、水素である。一部の実施形態では、ｐは、０である。一部の実施形態では、Ｒ^{16}は、水素であり、ｐは、０である。したがって、一部の実施形態では、Ｔ^{1}、Ｔ^{2}、Ｔ^{3}、Ｔ^{4}、及びＴ^{5}のうちの１つ以上は、以下の構造によって説明されるＡＡ－ＰＡＢＣである：

【化４８】



、

ここで各

【化４９】

が、リンカー中の隣接化学部分への任意の方向での結合点を表す。

【０３２７】

一部の実施形態では、ＡＡ－ＰＡＢＣのｐは、２である。一部の実施形態では、Ｔ^{4}は、ＡＡ－ＰＡＢＣであり、式中、ｐは、２である。一部の実施形態では、（ＡＡ）$_{2}$の２つのアミノ酸は、バリン及びシトルリンである。

【０３２８】

リンカーＬのＶ^{1}、Ｖ^{2}、Ｖ^{3}、Ｖ^{4}、及びＶ^{5}は、各々独立して、共有結合、アミノ、カルボニル、アミド、オキシカルボニル、カルボキシ、スルホニル、スルホキシド、スルホニルアミノ、アミノスルホニル、チオ、オキシ、ホスホ、ホスホロアミデート、またはチオホスホリデートであり得る。一部の実施形態では、Ｖ^{1}、Ｖ^{2}、Ｖ^{3}、Ｖ^{4}、及びＶ^{5}は、各々独立して、共有結合、－Ｃ（＝Ｏ）－、－ＮＲ^{11}－、－Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ^{11}－、ＮＲ^{11}Ｃ（＝Ｏ）－、－Ｃ（＝Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（＝Ｏ）－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ（＝Ｏ）－、－ＳＯ$_{2}$－、－ＳＯ$_{2}$ＮＲ^{11}－、－ＮＲ^{11}ＳＯ$_{2}$－、及び－Ｐ（＝Ｏ）ＯＨ－であり、式中、Ｒ^{11}は、水素、アルキル、置換アルキル、ＰＥＧ、アリール、

または置換アリールである。一部の実施形態では、V^1、V^2、及びV^3は独立して、C（＝O）または－NR^{11}－であり、R^{11}は独立して、水素またはC_1～C_6アルキルである。

【０３２９】

いくつかの実施形態において、リンカーＬは、以下の構造によって表され得：

－$(T^1V^1)_a$－$(T^2V^2)_b$－$(T^3V^3)_c$－$(T^4V^4)_d$－$(T^5V^5)_e$－、

式中、

ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅが、各々独立して、０または１であり、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅの合計が、１～５であり、

T^1は、C_1～C_6アルキルであり、

T^2、T^3、T^4、及びT^5は、各々独立して、$(PEG)_n$、C_1～C_6アルキル、$(AA)_p$、P4A－R^{12}、$(AA)_p$－(PABO－R^{16})－$(AA)_p$、$(AA)_p$－(PABC－R^{16})－$(AA)_p$、$(AA)_p$－(PABO－R^{16})、または$(AA)_p$－(PABC－R^{16})であり、

V^1、V^2、V^3、V^4、及びV^5は、各々独立して、共有結合、－ＣＯ－、または－NR^{11}－であり、

各R^{11}が独立して、水素、アルキル、置換アルキル、ポリエチレングリコール、アリール、または置換アリールであり、

各R^{12}が独立して、水素、アルキル、置換アルキル、または修飾もしくは未修飾ポリエチレングリコール部分であり、

R^{16}は、水素であり、

ｎが、１～３０の整数であり、

ｐが、１～２０の整数である。

【０３３０】

一部の実施形態では、R^{12}は、$(PEG)_n$である。一部の実施形態では、R^{12}は、カルボン酸で末端修飾された$(PEG)_n$である。いくつかの実施形態において、R^{11}は、水素またはC_1～C_{12}アルキルである。一部の実施形態では、ｐは、１である。一部の実施形態では、ｐは、２である。一部の実施形態では、ｐは、リンカー内の１つの位置で１であり、ｐは、リンカー内の他の位置で２である。いくつかの実施形態では、ｎは、１～５の整数である。いくつかの実施形態では、ｎは、２である。

【０３３１】

非開裂性リンカー

【０３３２】

いくつかの実施形態において、リンカーＬは、以下の構造によって表され得：

－$(T^1V^1)_a$－$(T^2V^2)_b$－$(T^3V^3)_c$－$(T^4V^4)_d$－$(T^5V^5)_e$－、

式中、

ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅが、各々独立して、０または１であり、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅの合計が、１～５であり、

T^1は、C_1～C_6であり、

T^2及びT^3は、各々独立して、C_1～C_6アルキルまたはP4A－R^{12}であり、

T^4及びT^5は、各々独立して、$(PEG)_n$、C_1～C_6アルキル、$(AA)_p$、P4A－R^{12}、$(AA)_p$－(PABO－R^{16})－$(AA)_p$、$(AA)_p$－(PABC－R^{16})－$(AA)_p$、$(AA)_p$－(PABO－R^{16})、または$(AA)_p$－(PABC－R^{16})、

V^1、V^2、V^3、V^4、及びV^5は、各々独立して、共有結合、－ＣＯ－、または－NR^{11}－であり、

各R^{11}は独立して、水素またはC_1～C_6アルキルであり、及び

各R^{12}が独立して、修飾または未修飾ポリエチレングリコール部分である。

【０３３３】

いくつかの実施形態では、T^1及びT^3の各々は、独立して、C_1～C_6アルキル、例

えば、独立して、メチル、エチル、またはプロピルである。いくつかの実施形態では、T^1及びT^3の各々は、エチルである。一部の実施形態では、T^2は、$P4A-R^{12}$であり、式中、R^{12}は、修飾または未修飾ポリエチレングリコール部分である。いくつかの実施形態において、d及びeは、0である。

【0334】

いくつかの実施形態において、リンカーLは、以下の構造によって表され得：

－（C_1～C_6アルキル）－（V^1）－（$P4A-R^{12}$）－（V^2）－（C_1～C_6アルキル）－（V^3）－であり、

式中、

V^1、V^2、V^3は、各々独立して、－CO－または－NR^{11}であり、

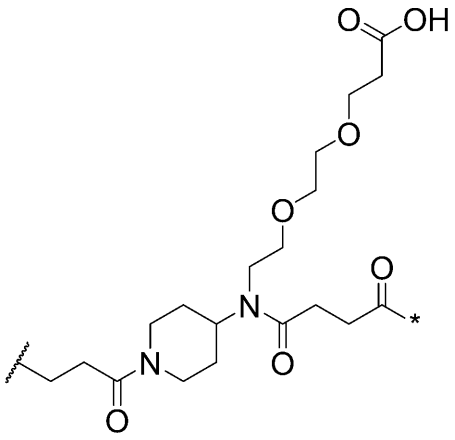
各R^{11}は独立して、水素またはC_1～C_6アルキルであり、及び

各R^{12}が独立して、カルボン酸変性ポリエチレングリコール部分である。

【0335】

一部の実施形態では、リンカーLは、リンカー（L－1）であり：

【化50】



（L－1）、

式中、

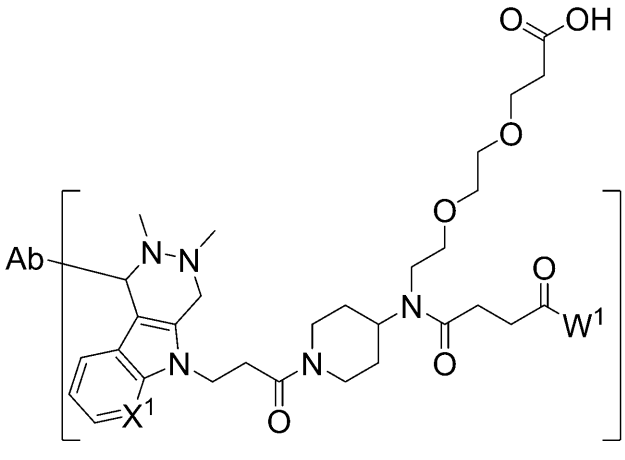
【化51】

が本明細書に記載の通り、ピリダジン－ピロロカップリング部分の窒素への結合点を表し、＊がW^1への結合点を表す。

【0336】

したがって、一部の実施形態では、5T4－ADCは、式（VI－1）によって表され得：

【化５２】



ｒ（ＶＩ－１）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
W^1は薬物である。

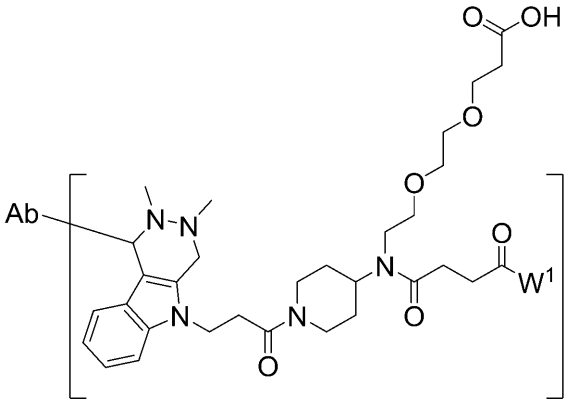
【０３３７】

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０３３８】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－１）によって表され得、式中、X^1は、Ｃである。したがって、一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩａ－１）によって表され得：

【化５３】



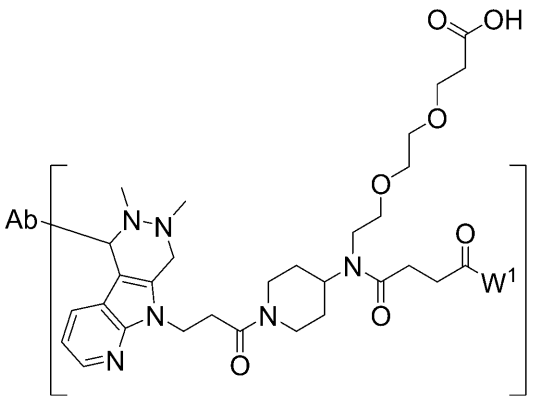
ｒ（ＶＩａ－１）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
W^1は薬物である。
いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０３３９】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－１）によって表され得、式中、X^1は、Ｎである。したがって、一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩｂ－１）によって表され得：

【化５４】



（ＶＩｂ－１）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
W^1は薬物である。

【０３４０】

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０３４１】

開裂性リンカー

【０３４２】

いくつかの実施形態では、抗体及び薬物は、開裂性リンカーを介して互いにコンジュゲートされる。開裂性リンカーは、１つ以上の開裂性部分を含むリンカーであり、その開裂性部分は、いくつかの条件下で解離可能であり、したがって、開裂性リンカーを２つ以上の分離可能な部分に分離することができる１つ以上の結合を含む。例えば、開裂性部分は、１つ以上の共有結合を含むことができ、これは、いくつかの条件下で、解離または分解可能であり、開裂性リンカーを２つ以上の部分に分離することができる。かくして、開裂性リンカーは、５Ｔ４－ＡＤＣに含まれ得、その結果、ある特定の条件下では、開裂性リンカーは、薬物の所望の標的作用部位で、薬物を抗体から分離または放出する。

【０３４３】

いくつかの実施形態では、開裂性リンカーは、酵素的に開裂可能なリンカーであり得る。酵素的に開裂可能なリンカーは、酵素の酵素作用により上記のように２つ以上の部分に分離され酵素的に開裂可能なリンカーは、ペプチド、グリコシドなどであるがこれらに限定されない、酵素の酵素作用を介して開裂し得る任意の開裂可能な部分を含み得る。一部の事例では、酵素的に開裂可能なリンカーを開裂する酵素は、抗体薬物複合体から放出される薬物の所望の作用標的部位等の、所望の作用標的部位に存在する。場合によっては、酵素的に開裂可能なリンカーを開裂する酵素は、全血、血漿、または血清等の他の領域では相当量で存在しない。かくして、酵素的に開裂可能な部分の開裂は、所望の作用部位で実質的な開裂が起こるように制御することができるが、一方で、他の領域で、または抗体薬物複合体所望の作用部位に到達する前は、開裂は有意には生じない。

【０３４４】

いくつかの実施形態では、酵素的に開裂可能なリンカーは、ペプチドを含む。ペプチドは、開裂性リンカーにおける使用に好適であり、酵素の酵素作用を介して開裂し得る、任意のペプチドであり得る。酵素的に開裂可能な部分として使用され得るペプチドの非限定的な例としては、例えば、Ｖａｌ－Ａｌａ、Ｐｈｅ－Ｌｙｓなどが挙げられる。

【０３４５】

いくつかの実施形態において、リンカーＬは開裂可能であり、以下の構造によって表さ

れ得：
－（T^1V^1）$_a$－（T^2V^2）$_b$－（T^3V^3）$_c$－（T^4V^4）$_d$－（T^5V^5）$_e$－、
式中、
ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅが、各々独立して、０または１であり、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、及びｅの合計が、１～５であり、
T^1及びT^5は各々C_1～C_6アルキルであり、
T^2、T^3、及びT^4は、各々独立して、（ＰＥＧ）$_n$、（ＡＡ）$_p$、または（ＡＡ）$_p$－ＰＡＢＣ－R^{16}であり、
V^1、V^2、V^3、V^4、及びV^5は、各々独立して、共有結合、－ＣＯ－、または－ＮR^{11}－であり、
R^{11}は、本明細書に記載される通りであり、
R^{16}は、本明細書に記載される通りであり、
各ｎが、独立して１～３０の整数であり、ならびに
各ｐは、独立して、１～２０の整数である。

【０３４６】

いくつかの実施形態では、ｎは、１～５の整数である。いくつかの実施形態では、ｎは、２である。

【０３４７】

一部の実施形態では、ｐは、１である。一部の実施形態では、ｐは、２である。一部の実施形態では、ｐは、リンカーＬ内の１つの位置で１であり、リンカーＬ内の他の位置で２である。

【０３４８】

いくつかの実施形態では、T^2は、アミノ酸残基である。一部の実施形態では、T^2は、極性の非荷電側鎖を有するアミノ酸残基である。一部の実施形態では、T^2は、グルタミン残基である。

【０３４９】

一部の実施形態では、T^3は、（ＰＥＧ）$_n$であり、式中、ｎは、１～５など、１～３０の整数である。一部の実施形態では、ｎは、２である。

【０３５０】

一部の実施形態では、T^4は、（ＡＡ）$_p$－ＰＡＢＣ－R^{16}であり、式中、ｐは、１～５など、１～２０の整数であり、R^{16}は、水素である。一部の実施形態では、ｐは、２である。一部の実施形態では、アミノ酸（ＡＡ）は、バリン及びシトルリンである。

【０３５１】

いくつかの実施形態において、リンカーＬは、以下の構造によって表され得：
－（C_1～C_6アルキル）－V^1－（ＡＡ）－V^2－（ＰＥＧ）$_n$－V^3－（（ＡＡ）$_p$－（ＰＡＢＣ－R^{16}））－V^4－（C_1－C_6アルキル）－V^5－、
式中、
R^{16}は、水素であり、
ｎ及びｐの各々が、独立して、１～３０、１～２０、または１～５の整数であり、
V^1、V^2、V^3、V^4、及びV^5は、各々独立して、共有結合、－ＣＯ－、または－ＮR^{11}－であり、及び
各R^{11}は独立して、水素またはC_1～C_6アルキルである。

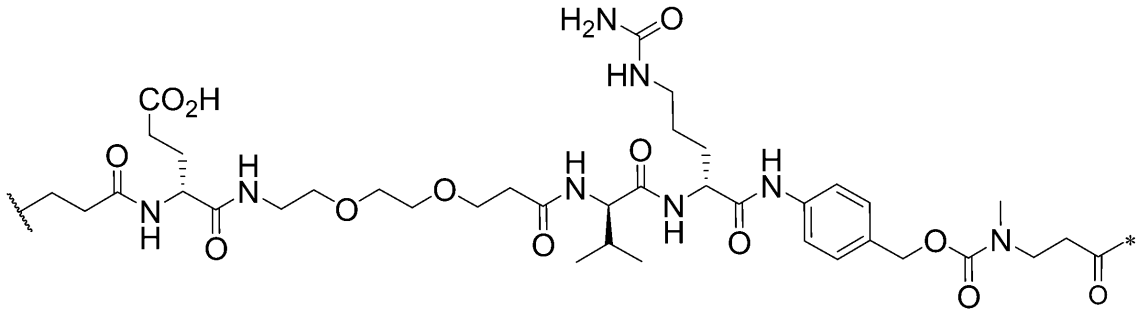
【０３５２】

一部の実施形態では、ｎ及びｐは、両方とも２である。

【０３５３】

いくつかの実施形態では、リンカーＬは、リンカー（Ｌ－２）であり得：

【化５５】

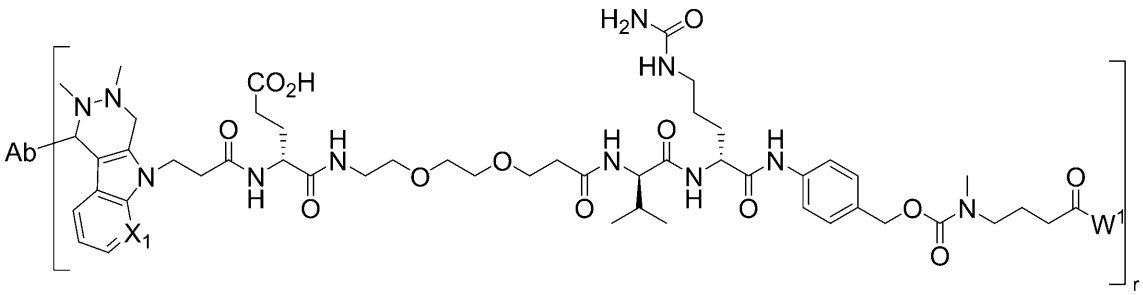


（Ｌ－２）、

式中、
【化５６】

が本明細書に記載の通りピリダジン－ピロロカップリング部分の結合点を表し、＊がW^1への結合点を表す。

【０３５４】
一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－２）で表され得：
【化５７】



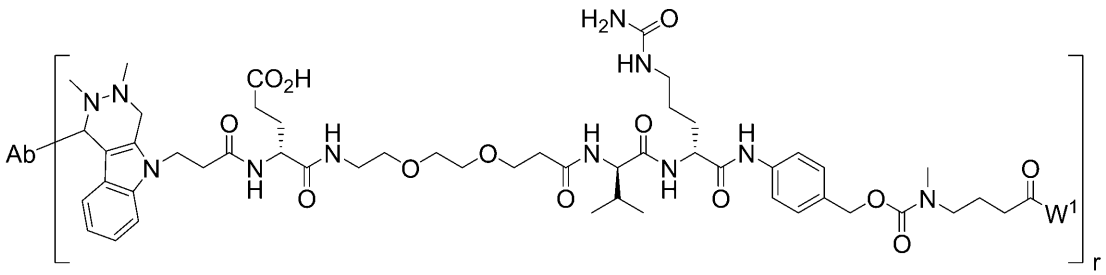
（ＶＩ－２）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、及び
W^1は薬物である。

【０３５５】
いくつかの実施形態において、X^1は、ＮまたはＣである。いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０３５６】
一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－２）によって表され得、式中、X^1は、Ｃである。したがって、一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩａ－２）によって表され得：

【化５８】



（ＶＩａ－２）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
Ｗ^{1}は薬物である。

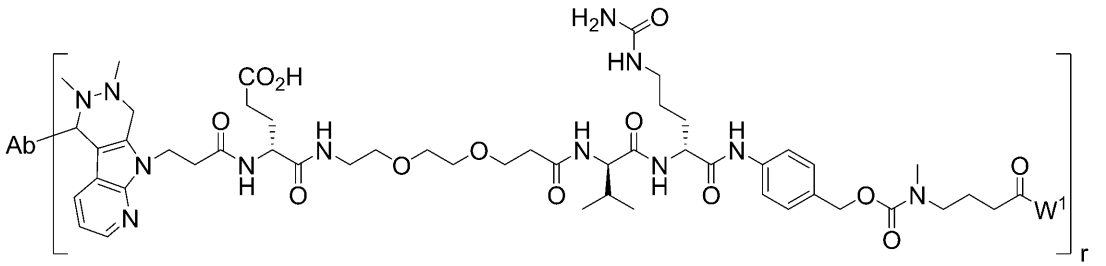
【０３５７】

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０３５８】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－２）によって表され得、式中、Ｘ^{1}は、Ｎである。したがって、一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩｂ－２）によって表され得：

【化５９】



（ＶＩｂ－２）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
Ｗ^{1}は薬物である。

【０３５９】

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０３６０】

二重開裂リンカー

【０３６１】

いくつかの実施形態では、開裂性リンカーは、第１の開裂性部分及び第２の開裂性部分等の２つの開裂性部分を含む。開裂性部分は、例えば、薬物の所望の作用標的部位で、抗体から薬物を分離または放出するために、両方の開裂性部分の開裂が必要であるように構成することができる。例えば、開裂性リンカーの開裂は、最初に２つの開裂性部分のうちの一方を開裂させ、次いで、２つの開裂性部分のうちの他方を開裂させることによって達成することができる。いくつかの実施形態では、開裂性リンカーは、第１の開裂性部分と、第１の開裂性部分の開裂を妨げる第２の開裂性部分とを含む。「開裂を妨げる」とは、

開裂していない第２の開裂性部分の存在が、第１の開裂性部分の開裂の可能性を減少させるか、または第１の開裂性部分の開裂を実質的に阻害し、故に、その量を実質的に低減するか、または開裂性リンカーの開裂を防止することを意味する。実施形態では、開裂していない第２の開裂可能な部分の存在は、第１の開裂可能な部分の酵素的及び／または化学的開裂を妨げ得る。第２の開裂可能な部分の存在による第１の開裂可能な部分の開裂の障害は、次に、その量を実質的に低減するか、または抗体からの薬物の放出を防止する。例えば、抗体からの薬物の早期放出は、５Ｔ４－ＡＤＣが薬物の所望の標的作用部位またはその近傍に到達するまで、実質的に低減または防止することができる。

【０３６２】

一部の実施形態では、第２の開裂性部分は、第１の開裂性部分の開裂を妨げ、開裂性リンカーの開裂は、最初に第２の開裂性部分を開裂し、次いで、第１の開裂性部分を開裂することによって達成され得る。第２の開裂性部分の開裂により、第１の開裂性部分の開裂における障害が低減または排除され、したがって第１の開裂性部分の開裂が可能になる。第１の開裂性部分の開裂は、本明細書に記載されるように、開裂性リンカーが２つ以上の部分に解離または分離することをもたらして、５Ｔ４－ＡＤＣから薬物を放出することができる。一部の実施形態では、第１の開裂可能な部分の開裂は、開裂していない第２の開裂可能な部分の存在下では実質的に生じない。この文脈における「実質的に」という用語は、開裂していない第２の開裂可能な部分の存在下で、第１の開裂可能な部分の開裂が約１０％以下、例えば、約９％以下、または約８％以下、または７％以下、または約６％以下、または約５％以下、または約４％以下、または約３％以下、または約２％以下、または約１％以下、または約０．５％以下、または約０．１％以下、第１の開裂可能な部分の開裂が、開裂していない第２の開裂可能な部分の存在下で生じることを意味する。

【０３６３】

別の言い方をすれば、第２の開裂性部分は、第１の開裂性部分を開裂から保護することができる。実施形態では、開裂していない第２の開裂可能な部分の存在は、第１の開裂可能な部分を開裂から保護し、したがって、５Ｔ４－ＡＤＣが所望の作用標的部位またはその近傍に到達するまでの、５Ｔ４抗体からの薬物の早期放出を実質的に低減または防止することができる。かくして、第２の開裂可能な部分の開裂は、第１の開裂可能な部分を露出させ（例えば、第１の開裂可能な部分を脱保護し）、したがって、第１の開裂可能な部分が開裂することを可能にし、これが開裂性リンカーの開裂をもたらし、ひいては、本明細書に記載されるように、薬物の所望の標的作用部位で、抗体から薬物を分離または放出する。いくつかの実施形態では、第２の開裂可能な部分の開裂は、第１の開裂可能な部分をその後の開裂に露出させるが、第２の開裂可能な部分の開裂は、それ自体の中で及びそれ自体では開裂性リンカーの開裂をもたらさない（例えば、開裂可能なリンカーを開裂するために第１の開裂可能な部分の開裂は依然として必要とされる）。

【０３６４】

開裂性リンカーにおける使用に適した開裂可能な部分の例としては、化学的に開裂可能な部分及び酵素的に開裂可能な部分が挙げられる。例えば、第１の開裂可能な部分は、化学的に開裂可能な部分であり得、第２の開裂可能な部分は、化学的に開裂可能な部分であり得、これは第１の開裂可能な部分と同じであっても、異なってもよい。他の実施形態では、第１の開裂可能な部分は、酵素的に開裂可能な部分であり得、第２の開裂可能な部分は、化学的に開裂可能な部分であり得る。さらなる他の実施形態では、第１の開裂可能な部分は、化学的に開裂可能な部分であり得、第２の開裂可能な部分は、酵素的に開裂可能な部分であり得る。なおも更なる実施形態では、第１の開裂可能な部分は、酵素的に開裂可能な部分であり得、第２の開裂可能な部分は、第１の開裂可能な部分と同じであるか、または異なる、酵素的に開裂可能な部分であり得る。

【０３６５】

化学的に開裂可能な部分には、ある特定の化学的条件の存在下で開裂し得る開裂可能な部分が含まれる。一部の実施形態では、化学的に開裂可能な部分は、ある特定の化学条件の存在下で解離し、それによって開裂可能な部分を２つ以上の分離可能な部分に分離する

ことができる１つ以上の結合を含む。例えば、化学的に開裂可能な部分は、化学的に開裂可能な部分の加水分解につながり得る、酸性条件またはアルカリ条件等の化学的条件の存在下で開裂することができる。一部の実施形態では、化学的に開裂可能な部分が開裂する化学条件は、５Ｔ４－ＡＤＣから放出される薬物の所望の作用の標的部位等の、所望の標的作用部位に存在し得る。一部の実施形態では、化学的に開裂可能な部分の所望の開裂性部位に見られる化学的条件は、全血、血漿、または血清などの他の領域では有意に存在しない。かくして、酵素的に開裂可能な部分の開裂は、所望の作用部位で実質的な開裂が起こるように制御することができるが、一方で、他の領域で、または５Ｔ４－ＡＤＣが所望の作用部位に到達する前は、開裂は有意には生じない。

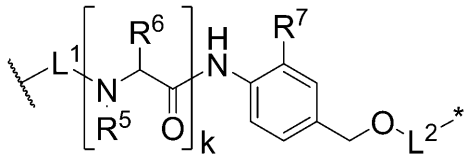
【０３６６】

いくつかの実施形態では、開裂可能な部分は、酵素的に開裂可能な部分であり得る。酵素的に開裂可能な部分は、本明細書に記載されるように、酵素の酵素作用を介して２つ以上の部分に分離され得る開裂可能な部分である。酵素的に開裂可能な部分は、ペプチド、グリコシドなどであるが、これらに限定されない、酵素の酵素作用を介して開裂し得る任意の開裂可能な部分であり得る。一部の実施形態では、酵素的に開裂可能な部分を開裂する酵素は、５Ｔ４－ＡＤＣから放出される薬物の所望の作用の標的部位等の、所望の作用の標的部位に存在する。一部の実施形態では、酵素的に開裂可能な部分を開裂する酵素は、全血、血漿、または血清等の他の領域では相当量で存在しない。かくして、酵素的に開裂可能な部分の開裂は、所望の作用部位で実質的な開裂が起こるように制御することができるが、一方で、他の領域で、または５Ｔ４－ＡＤＣが所望の作用部位、例えばがん細胞、に到達する前は、開裂は有意には生じない。

【０３６７】

いくつかの実施形態では、リンカーＬは、リンカー（Ｌ－３）であり得：

【化６０】



（Ｌ－３）、

式中、

【化６１】

は、本明細書に記載のピリダジン－ピロロカップリング部分（例えば、式ＩＶ、Ｖ、及びＶＩのいずれか）への結合点を表し、

＊が、W^1への結合点を表し、

各R^5が独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、

各R^6が独立して、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、

R^7が、開裂可能な部分であり、

ｋが、１～１０の整数であり、

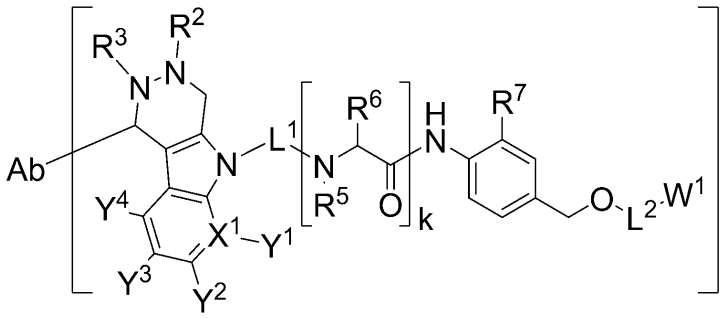
L^1が、$-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$

を含み、
L^2が、－（T^5－V^5）$_e$－（T^6－V^6）$_f$－（T^7－V^7）$_g$－（T^8－V^8）$_h$－
を含み、
T^1、T^2、T^3、T^4、T^5、T^6、T^7、及びT^8が、各々独立して、共有結合、C_1～C_{12}アルキル、置換C_1～C_{12}アルキル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、及び置換ヘテロシクリル、（ＥＤＡ）$_w$、（ＰＥＧ）$_n$、（ＡＡ）$_p$、－（$CR^{13}OH$）$_m$－、Ｐ４Ａ－R^{12}、アセタール、ヒドラジン、ジスルフィド、またはエステルであり、
V^1、V^2、V^3、V^4、V^5、V^6、V^7、及びV^8は、各々独立して、共有結合、－ＣＯ－、
－NR^{15}－、－NR^{15}（CH_2）$_q$－、－NR^{15}（C_6H_4）－、－$CONR^{15}$－、－$NR^{15}CO$－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ（Ｏ）－、－SO_2－、－SO_2NR^{15}－、－$NR^{15}SO_2$－、または－Ｐ（Ｏ）ＯＨ－であり、
ａ、ｂ、ｃ、ｄ、ｅ、ｆ、ｇ、及びｈが、各々独立して、１または０であり、
ｍは、独立して、１～１２の整数であり、
ｎは、独立して、１～３０の整数であり、
ｐは、独立して、１～２０の整数であり、
ｑは、独立して、１～６の整数であり、
ｗは、独立して、１～２０の整数であり、
各R^{12}は、独立して、水素、アルキル、置換アルキル、ポリエチレングリコール部分（例えば、ポリエチレングリコールまたは修飾されたポリエチレングリコール）、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、
各R^{13}が独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アリール、または置換アリールであり、及び
各R^{15}が独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルである。

【０３６８】

一部の実施形態では、式（Ｖ）の５Ｔ４－ＡＤＣは、リンカー（Ｌ－３）を含む。したがって、いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（Ｖ－３）で表され得：

【化６２】



（Ｖ－３）、

式中、

Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
X^1はＣまたはＮであり、
W^1は薬物であり、
R^2、R^3、Y^1、Y^2、Y^3、及びY^4は、式（Ｖ）などについて本明細書に定義される通りであり、及び
L^1、L^2、R^5、R^6、R^7、及びｋは、リンカー（Ｌ－３）などについて本明細書で定義される通りである。

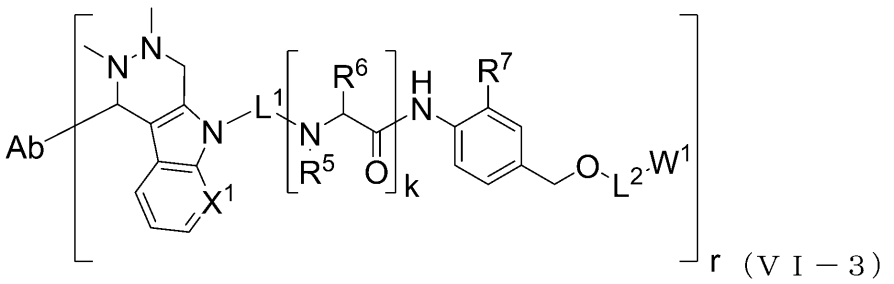
【０３６９】

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１～２の整数である。

【０３７０】

一部の実施形態では、式（ＶＩ）の５Ｔ４－ＡＤＣは、リンカー（Ｌ－３）を含む。したがって、いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－３）で表され得、

【化６３】



（ＶＩ－３）

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
X^1はＣまたはＮであり、
W^1が薬物であり、及び
L^1、L^2、R^5、R^6、R^7、及びｋは、リンカー（Ｌ－３）などについて本明細書で定義される通りである。

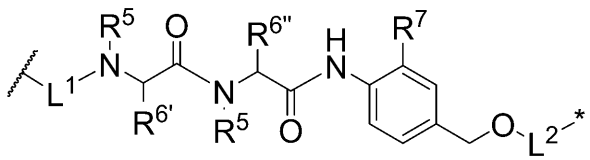
【０３７１】

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０３７２】

リンカー（Ｌ－３）の一部の実施形態では、ｋは、２である。したがって、リンカーＬは、リンカー（Ｌ－４）であり得：

【化６４】



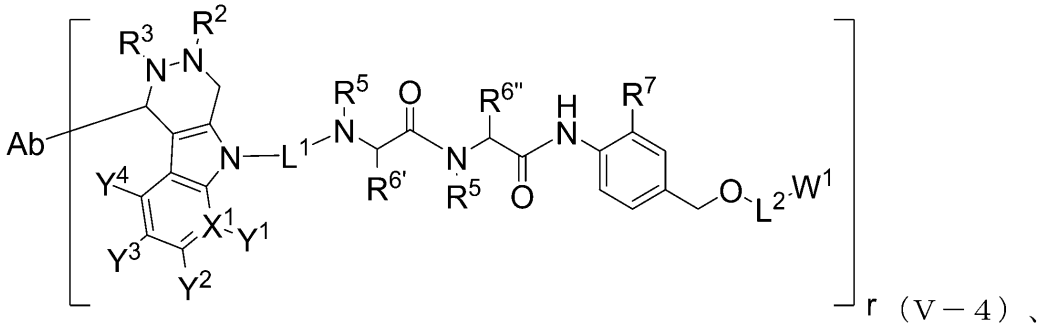
（Ｌ－４）、

式中、

【化６５】

〰

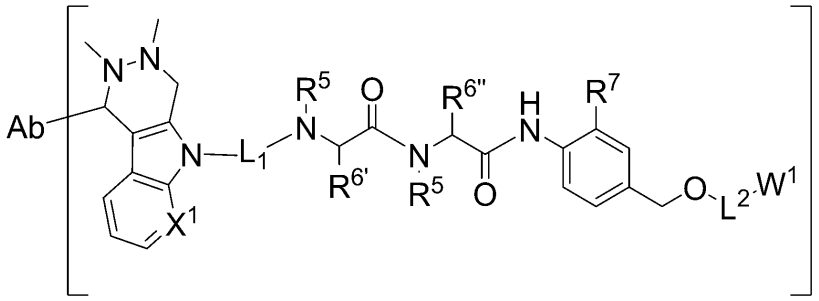
は、本明細書に記載のピリダジン－ピロロカップリング部分（例えば、式ＩＶ、Ｖ、及びＶＩのいずれか）への結合点を表し、
＊が、Ｗ１への結合点を表し、
各Ｒ^{5}が独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、
Ｒ^{6}’及びＲ^{6}”が各々独立して、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、
Ｒ^{7}が、開裂可能な部分であり、及び
Ｌ^{1}及びＬ^{2}は、リンカー（Ｌ－３）などについて本明細書で定義される通りである。
【０３７３】
一部の実施形態では、式（Ｖ）の５Ｔ４－ＡＤＣは、リンカー（Ｌ－４）を含む。したがって、いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（Ｖ－４）で表され得：
【化６６】



（Ｖ－４）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
Ｘ^{1}はＣまたはＮであり、
Ｗ^{1}は薬物であり、
Ｒ^{2}、Ｒ^{3}、Ｙ^{1}、Ｙ^{2}、Ｙ^{3}、及びＹ^{4}は、式（Ｖ）などで定義される通りであり、及びＬ^{1}、Ｌ^{2}、Ｒ^{5}、Ｒ^{6}’、Ｒ^{6}”、及びＲ^{7}は、リンカー（Ｌ－４）などについて本明細書で定義される通りである。
【０３７４】
いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。
【０３７５】
一部の実施形態では、式（ＶＩ）の５Ｔ４－ＡＤＣは、リンカー（Ｌ－４）を含む。一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－４）で表され得：

【化６７】



（ＶＩ－４）

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
X^1はＣまたはＮであり、
W^1は薬物であり、
L^1、L^2、R^5、$R^{6'}$、$R^{6''}$、及びR^7は、リンカー（Ｌ－４）などについて本明細書で定義される通りである。

【０３７６】

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０３７７】

一部の実施形態では、R^7は、グリコシドまたはグリコシル等の糖部分を含む酵素的に開裂可能な部分である。一部の実施形態では、グリコシドは、グリコシドを含まない開裂性リンカーと比較して、開裂性リンカーの親水性の増加を促進し得る。グリコシドは、開裂性リンカーにおける使用に好適であり、酵素の酵素作用を介して開裂し得る、任意のグリコシドであり得る。

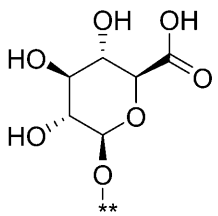
【０３７８】

R^7部分のグリコシドは、グリコシド結合を介して５Ｔ４－ＡＤＣの残部に結合され得る。グリコシド結合は、Ｏ－グリコシド結合（Ｏ－グリコシド）、Ｎ－グリコシド結合（グリコシルアミン）、Ｓ－グリコシド結合（チオグリコシド）、またはＣ－グリコシド結合（Ｃ－グリコシドまたは Ｃ－グリコシル）などであるがこれらに限定されない様々なタイプの結合を介してグリコシドを５Ｔ４－ＡＤＣに連結し得る。一部の実施形態では、グリコシド結合は、Ｏ－グリコシド結合（Ｏ－グリコシド）である。

【０３７９】

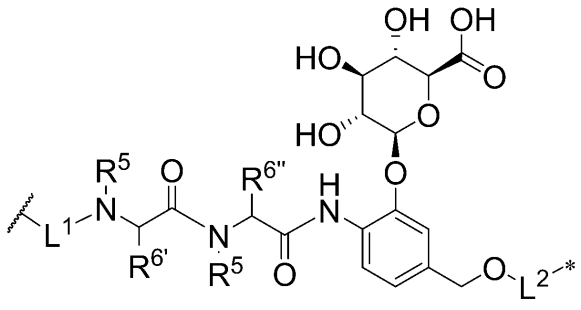
一部の実施形態では、R^7は、

【化６８】



であり、式中、＊＊は、式（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、または（ＶＩ－４）におけるように、本明細書に記載のフェニル基への結合点を表す。したがって、リンカーＬは、リンカー（Ｌ－５）であり得：

【化６９】



（Ｌ－５）、

式中、

【化７０】

は、本明細書に記載のピリダジン－ピロロカップリング部分（例えば、式ＩＶ、Ｖ、及びＶＩのいずれか）への結合点を表し、

＊が、Ｗ^{1}への結合点を表し、

Ｒ^{5}が各々独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、

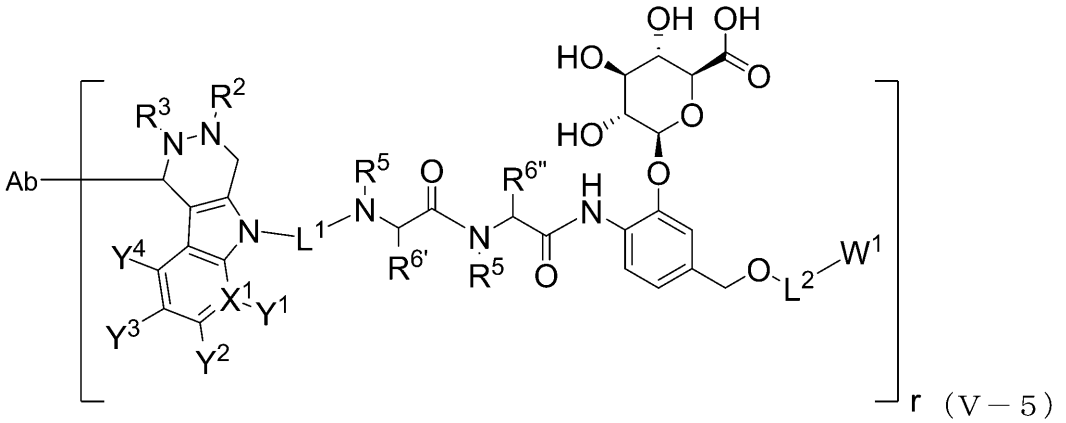
Ｒ$^{6'}$及びＲ$^{6''}$が独立して、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、

Ｌ^{1}及びＬ^{2}は、リンカー（Ｌ－３）などについて本明細書で定義される通りである。

【０３８０】

一部の実施形態では、リンカー（Ｌ－５）は、式（Ｖ）に結合する。一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（Ｖ－５）で表され得：

【化７１】



ｒ（Ｖ－５）

式中、

Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、

ｒは、１～１０の整数であり、

Ｘ^{1}はＣまたはＮであり、

Ｗ^{1}は薬物であり、
Ｒ^{2}、Ｒ^{3}、Ｙ^{1}、Ｙ^{2}、Ｙ^{3}、及びＹ^{4}は、式（Ｖ）などで定義される通りであり、
Ｌ^{1}、Ｌ^{2}、Ｒ^{5}、Ｒ^{6}’、及びＲ^{6}”は、リンカー（Ｌ－５）などについて本明細書で定義される通りである。

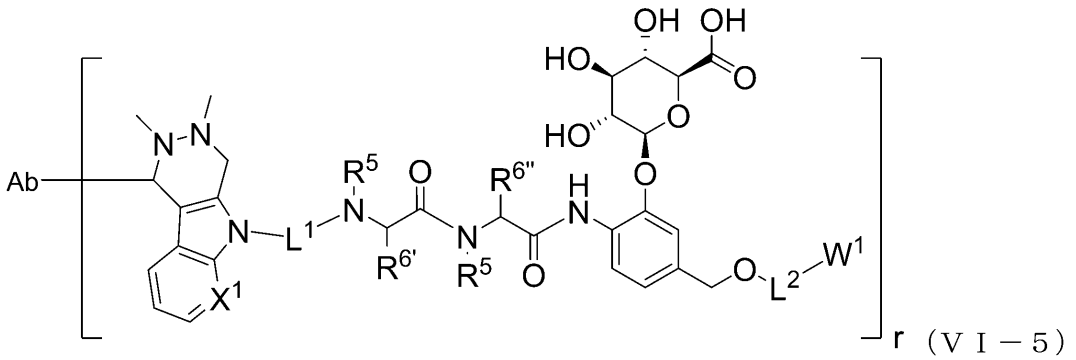
【０３８１】

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０３８２】

一部の実施形態では、式（ＶＩ）の５Ｔ４－ＡＤＣは、リンカー（Ｌ－５）を含む。したがって、いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－５）によって表され得：

【化７２】



（ＶＩ－５）

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
Ｘ^{1}はＣまたはＮであり、
Ｗ^{1}は薬物であり、
Ｌ^{1}、Ｌ^{2}、Ｒ^{5}、Ｒ^{6}’、及びＲ^{6}”は、リンカー（Ｌ－５）などについて本明細書で定義される通りである。

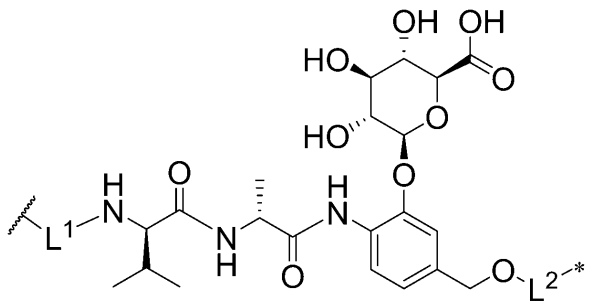
【０３８３】

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０３８４】

リンカー（Ｌ－５）の一部の実施形態では、Ｒ^{5}は、水素であり、Ｒ^{6}’は、イソプロピルであり、Ｒ^{6}”は、メチルである。したがって、いくつかの実施形態では、リンカーＬは、リンカー（Ｌ－６）であり得：

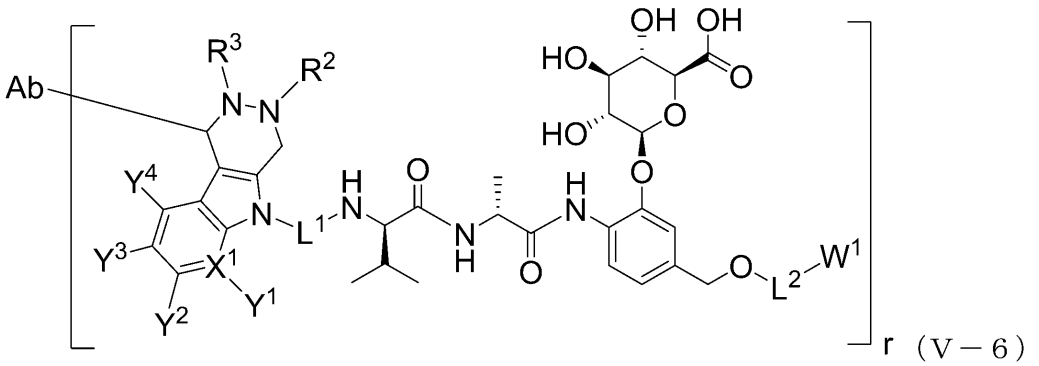
【化７３】



（Ｌ－６）、

式中、
【化７４】

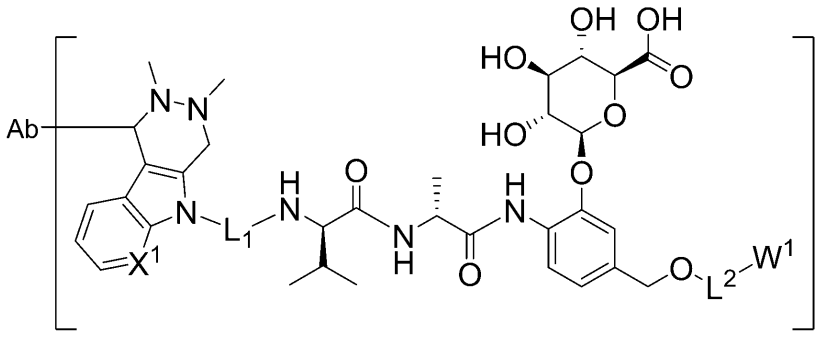
は、本明細書に記載のピリダジン－ピロロカップリング部分（例えば、式ＩＶ、Ｖ、及びＶＩのいずれか）への結合点を表し、
＊が、W^1への結合点を表し、及び
L^1及びL^2は、リンカー（Ｌ－５）などについて本明細書で定義される通りである。
【０３８５】
一部の実施形態では、式（Ｖ）の５Ｔ４－ＡＤＣは、リンカー（Ｌ－６）を含む。したがって、いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（Ｖ－６）で表され得：
【化７５】



（Ｖ－６）

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
X^1はＣまたはＮであり、
R^2、R^3、Y^1、Y^2、Y^3、及びY^4は、式（Ｖ）などで定義される通りであり、及び
W^1が薬物であり、及び
L^1及びL^2は、リンカー（Ｌ－６）などについて本明細書で定義される通りである。
【０３８６】
いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。
【０３８７】
一部の実施形態では、式（ＶＩ）の５Ｔ４－ＡＤＣは、リンカー（Ｌ－６）を含む。したがって、いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－６）で表され得：

【化７６】



ｒ（ＶＩ－６）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
X^1はＣまたはＮであり、
W^1が薬物であり、及び
L^1及びL^2は、リンカー（Ｌ－６）などについて本明細書で定義される通りである。

【０３８８】

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０３８９】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（Ｖ－３）、（Ｖ－４）、（Ｖ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－３）、（ＶＩ－４）、（ＶＩ－５）または（ＶＩ－６）によって表され得、
L^1が、$-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-$を含み、
L^2が、$-(T^5-V^5)_e-(T^6-V^6)_f-(T^7-V^7)_g-(T^8-V^8)_h-$を含み、
T^1、T^2、及びT^3は、各々独立して、C_1～C_{12}アルキル、$(PEG)_n$、または$(AA)_p$であり、
T^5、T^6、T^7、及びT^8が、各々独立して、共有結合、C_1～C_{12}アルキル、置換C_1～C_{12}アルキル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、及び置換ヘテロシクリル、$(EDA)_w$、$(PEG)_n$、$(AA)_p$、$-(CR^{13}OH)_m-$、Ｐ４Ａ－R^{12}、アセタール、ヒドラジン、ジスルフィド、及びエステルであり、
V^1、V^2、V^3、V^4、V^5、V^6、V^7、及びV^8は、各々独立して、－Ｃ（＝Ｏ）－または$-NR^{11}-$であり、
ａ、ｂ、及びｃが各々１であり、
ｄが０であり、したがって、T^4及びV^4が存在せず、
ｅ、ｆ、ｇ、及びｈが、各々独立して、１または０であり、
ｎが、１～１０の整数であり、
ｐが、１～１０の整数であり、
R^{11}が、水素、アルキル、置換アルキル、ポリエチレングリコール部分、アリール、または置換アリールである。

【０３９０】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（Ｖ－３）、（Ｖ－４）、（Ｖ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－３）、（ＶＩ－４）、（ＶＩ－５）、または（ＶＩ－６）であり、式中、T^1、T^2、及びT^3は、C_1～C_6アルキル、$(AA)_p$、または$(PEG)_n$で

あり、ｐ及びｎは独立して、１から１０の整数である。一部の実施形態では、ｐは、１である。一部の実施形態では、ｎは、２である。一部の実施形態では、（ＡＡ）$_{p}$は、システインスルホン酸アミノ酸などの天然に存在しないアミノ酸を含み得る。一部の実施形態では、Ｖ^{1}、Ｖ^{2}、及びＶ^{3}は独立して、－Ｃ（＝Ｏ）－または－ＮＲ^{15}－であり、式中、Ｒ^{15}は、水素である。

【０３９１】

本明細書に記載される任意の実施形態において、Ｌ^{1}は、以下のとおりであり得：

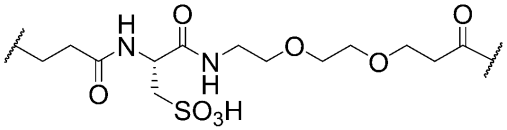
－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル）－Ｖ^{1}－（ＡＡ）$_{p}$－Ｖ$_{2}$－（ＰＥＧ）$_{n}$－Ｖ^{3}－

式中、Ｖ^{1}、Ｖ^{2}、Ｖ^{3}、ＡＡ、ｐ、及びｎは、リンカー（Ｌ－３）などについて本明細書に記載される通りである。一部の実施形態では、Ｖ^{1}、Ｖ^{2}、及びＶ^{3}は、－Ｃ（＝Ｏ）または－ＮＲ^{15}－であり、式中、Ｒ^{15}は、水素である。一部の実施形態では、ｐは、１であり、ｎは、２である。一部の実施形態では、（ＡＡ）$_{p}$は、システインスルホン酸アミノ酸などの天然に存在しないアミノ酸を含み得る。

【０３９２】

一部の実施形態では、Ｌ^{1}が

【化７７】



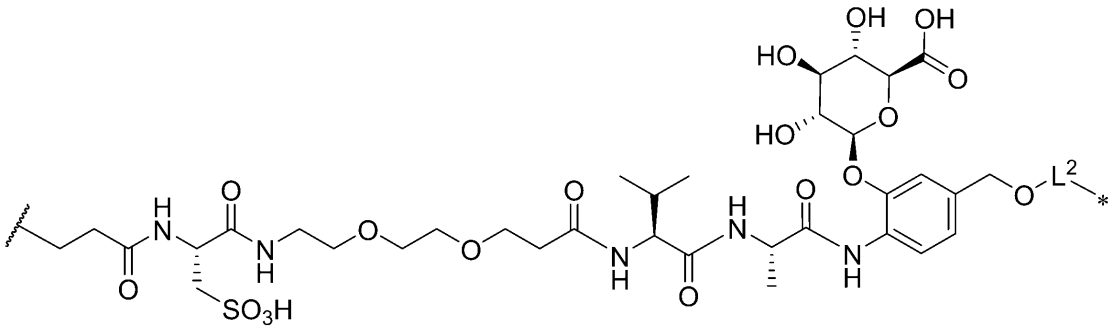
であり、各

【化７８】

〰

は、リンカー中の隣接化学部分への任意の方向での結合点を表す。したがって、いくつかの実施形態では、リンカーＬは、リンカー（Ｌ－７）であり得：

【化７９】



（Ｌ－７）、

式中、

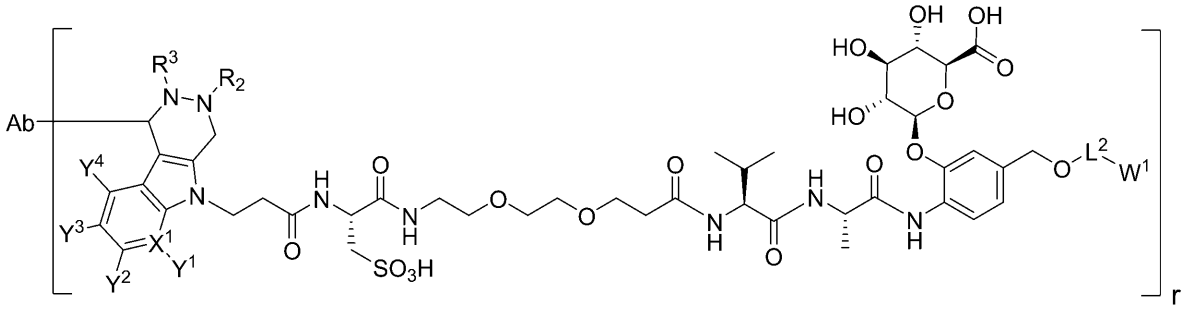
【化８０】

〰

は、本明細書に記載のピリダジン－ピロロカップリング部分（例えば、式ＩＶ、Ｖ、及びＶＩのいずれか）への結合点を表し、

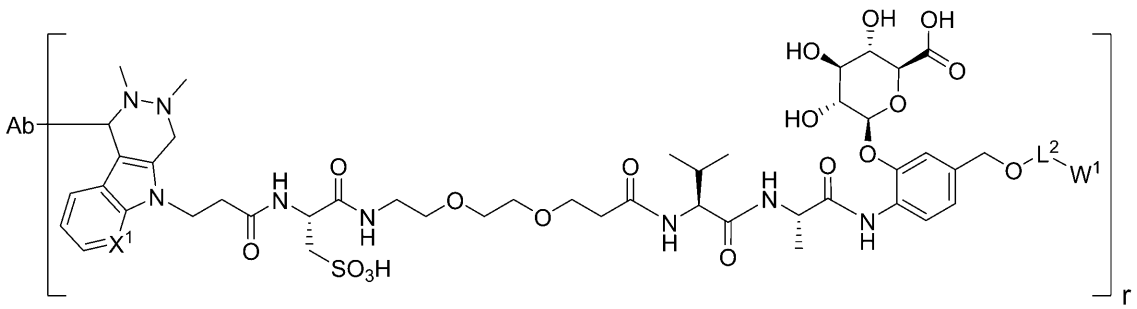
＊が、Ｗ^{1}への結合点を表し、及び

Ｌ２は、リンカー（Ｌ－３）などについて本明細書で定義される通りである。
【０３９３】
一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（Ｖ－７）で表され得：
【化８１】



（Ｖ－７）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
Ｘ１はＣまたはＮであり、
Ｒ２、Ｒ３、Ｙ１、Ｙ２、Ｙ３、及びＹ４は、式（Ｖ）などで定義される通りであり、
Ｗ１が薬物であり、及び
Ｌ２は、リンカー（Ｌ－７）などについて本明細書で定義される通りである。
【０３９４】
いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。
【０３９５】
一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－７）で表され得：
【化８２】

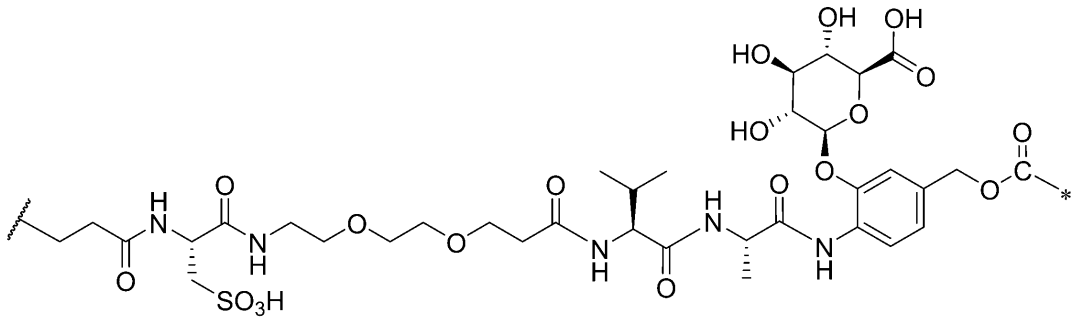


（ＶＩ－７）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
Ｘ１はＣまたはＮであり、
Ｗ１が薬物であり、及び
Ｌ２は、リンカー（Ｌ－７）などについて本明細書で定義される通りである。
【０３９６】
いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。
【０３９７】
Ｌ２の一部の実施形態では、ｅは、１であり、Ｔ５は、共有結合であり、Ｖ５は、カル

ボニルであり、ｆ、ｇ、及びｈの各々は、０である。一部の実施形態では、Ｌ^{2}は、カルボニル（Ｃ＝Ｏ）である。したがって、いくつかの実施形態では、リンカーＬは、リンカー（Ｌ－８）であり得る：

【化８３】



（Ｌ－８）、

式中、

【化８４】

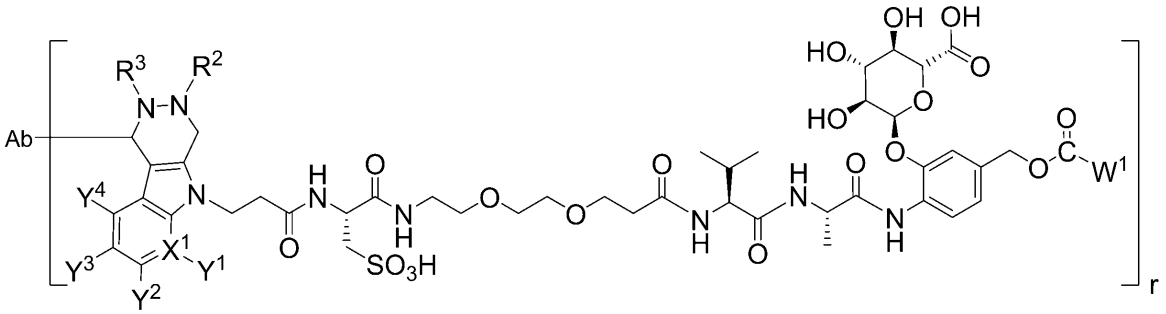
は、本明細書に記載のピリダジン－ピロロカップリング部分（例えば、式ＩＶ、Ｖ、及びＶＩのいずれか）への結合点を表し、

＊が、Ｗ^{1}への結合点を表す。

【０３９８】

一部の実施形態では、式（Ｖ）の５Ｔ４－ＡＤＣにおけるリンカー（Ｌ）は、リンカー（Ｌ－８）であり得る。したがって、いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（Ｖ－８）によって表され得：

【化８５】



（Ｖ－８）

式中、

Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、

ｒは、１～１０の整数であり、

Ｘ^{1}はＣまたはＮであり、

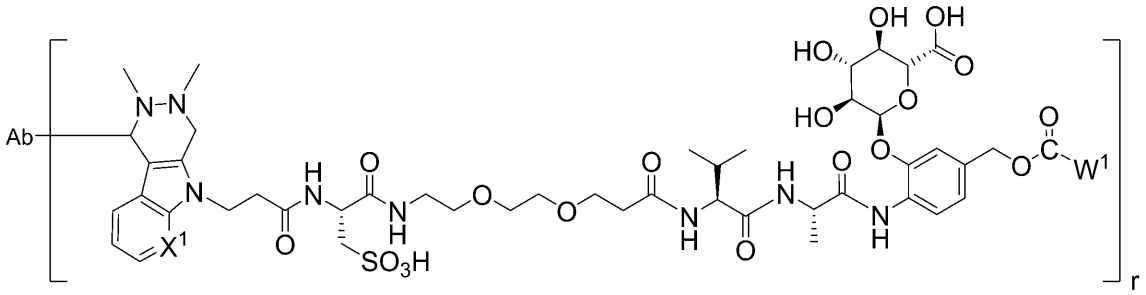
Ｒ^{2}、Ｒ^{3}、Ｙ^{1}、Ｙ^{2}、Ｙ^{3}、及びＹ^{4}は、式（Ｖ）などについて本明細書に定義される通りであり、及び

Ｗ^{1}は薬物である。

【０３９９】

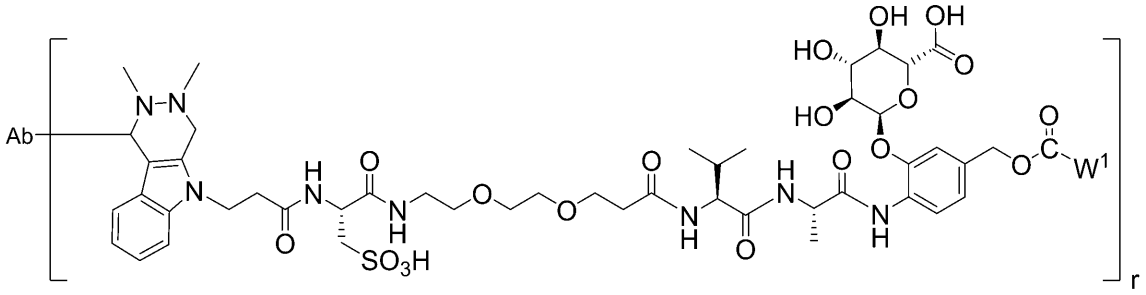
いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは

、１または２である。
【０４００】
一部の実施形態では、式（ＶＩ）の５Ｔ４－ＡＤＣにおけるリンカー（Ｌ）は、リンカー（Ｌ－８）であり得る。したがって、いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－８）によって表され得：
【化８６】



（ＶＩ－８）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
X^1はＣまたはＮであり、及び
W^1は薬物である。
【０４０１】
いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。
【０４０２】
一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－８）によって表され得、式中、X^1は、Ｃである。したがって、一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩａ－８）によって表され得：
【化８７】

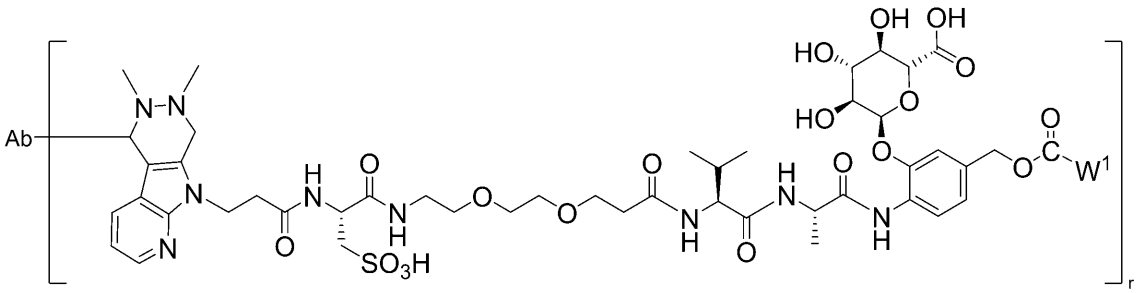


（ＶＩａ－８）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
W^1は薬物である。
【０４０３】
いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。
【０４０４】
一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－８）によって表され得、式中、Ｘ

１は、Ｎである。したがって、一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩｂ－８）によって表され得：

【化８８】



（ＶＩｂ－８）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
Ｗ１は薬物である。

【０４０５】

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０４０６】

薬物

【０４０７】

本明細書で提供される式の各々においてＷ１として表される、本明細書に記載される５Ｔ４－ＡＤＣにおける使用に有用な薬物は、特に限定されない。適切な薬物の例としては、小分子薬、例えば、がん化学療法剤が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、薬物は、微小管に影響を与える薬剤であり得る。いくつかの実施形態では、薬物は、マイタンシノイドまたはアウリスタチン等の、抗増殖活性を有する微小管影響剤である。

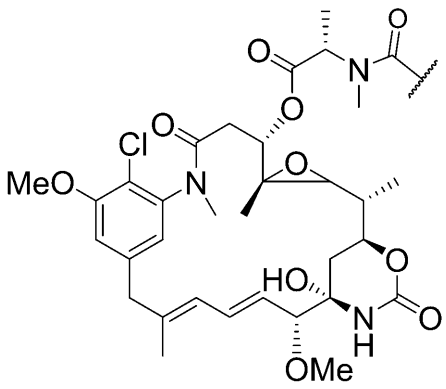
【０４０８】

マイタンシン

【０４０９】

いくつかの実施形態において、薬物は、マイタンシノイドである。例えば、薬物は、以下の構造（Ｗ－１）を有するマイタンシン：

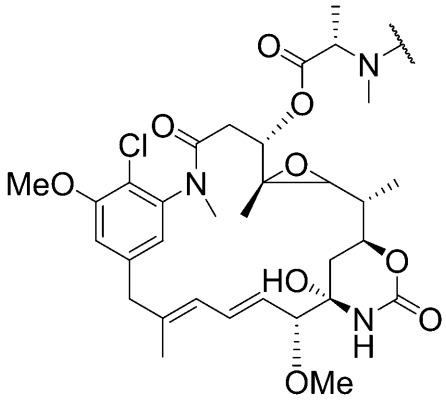
【化８９】



（Ｗ－１）、

またはその誘導体、例えば、脱アシル化マイタンシン（Ｗ－１’）であり得：

【化９０】



（Ｗ－１’）

式中、

【化９１】

〰

は、５Ｔ４－ＡＤＣにおけるリンカーへのマイタンシノイドの結合点を示す。

【０４１０】

例えば、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、（ＶＩｂ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、（ＶＩｂ－２）、（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、及び（ＶＩｂ－８）に表される任意の５Ｔ４－ＡＤＣにおいて、W^1は、Ｗ－１またはＷ－１’のマイタンシノイドなどのマイタンシノイドであり得、式中、

【化９２】

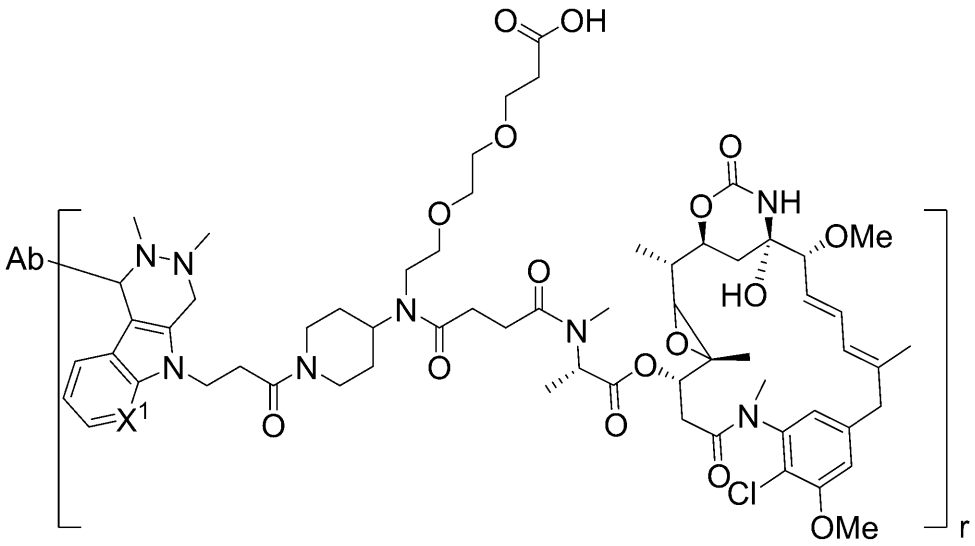
〰

は、マイタンシノイドとＬまたはL^2との間の結合点を示す。

【０４１１】

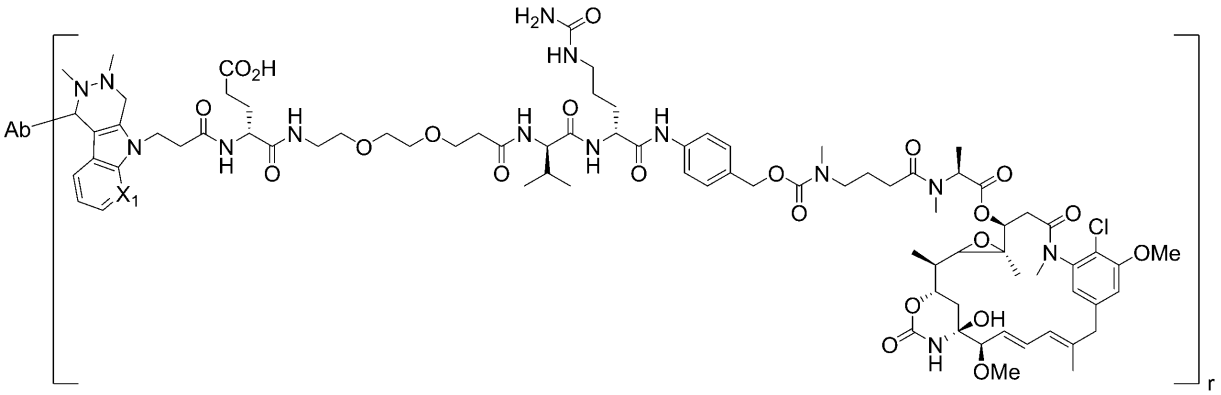
一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－１１）、式（ＶＩ－２１）、または式（ＶＩ－８１）で表され得：

【化９３】



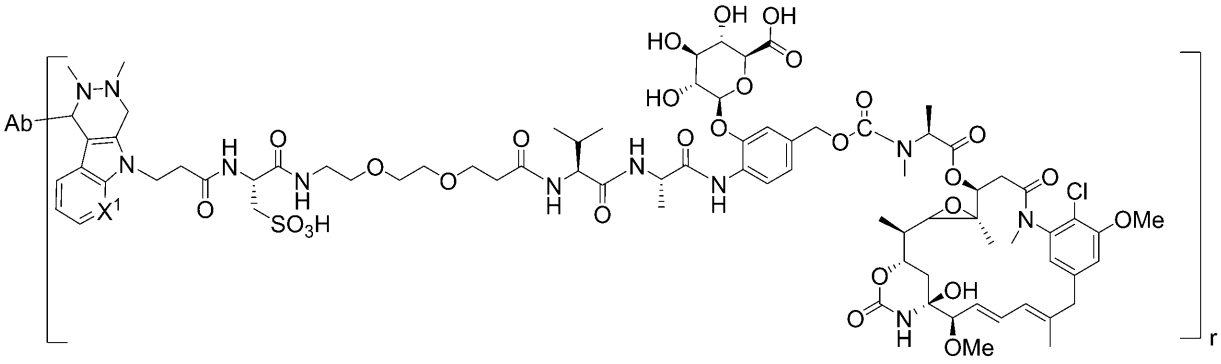
（ＶＩ－１１）、

【化９４】



（ＶＩ－２１）、

【化９５】



（ＶＩ－８１）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、

Ｘ^{1}はＣまたはＮである。

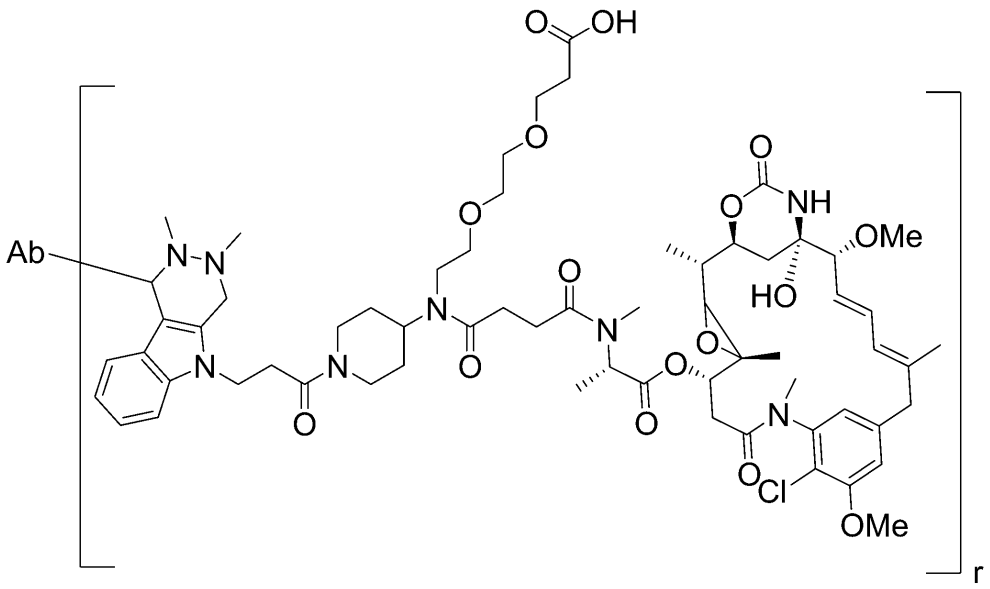
【０４１２】

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０４１３】

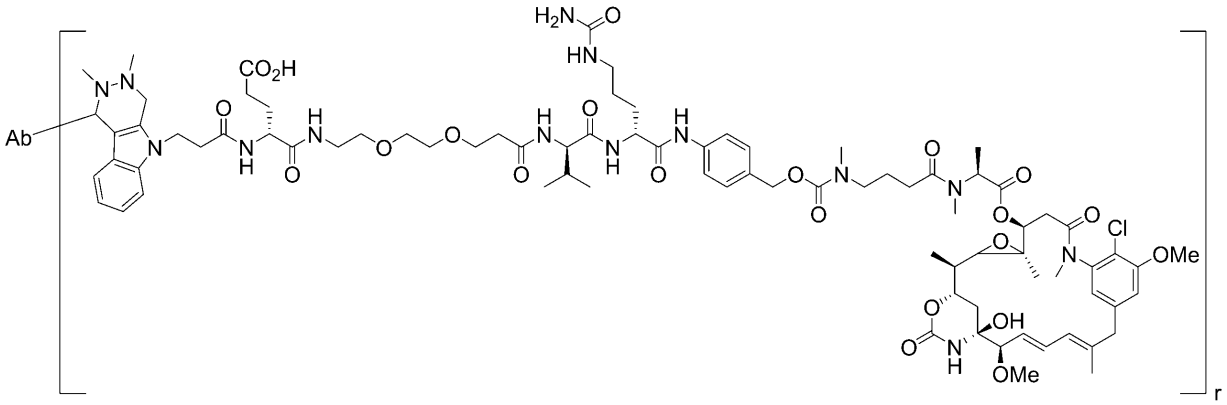
一部の実施形態では、Ｘ^{1}は、Ｃであり、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩａ－１１）または式（ＶＩａ－２１）によって表され得：

【化９６】



（ＶＩａ－１１）、

【化９７】



（ＶＩａ－２１）、

式中、

Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、及び

ｒは、１～１０の整数である。

【０４１４】

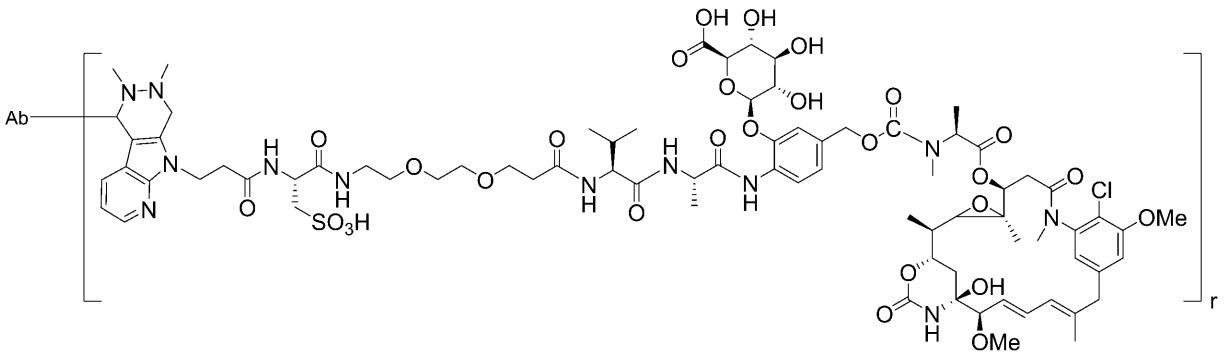
いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０４１５】

一部の実施形態では、Ｘ^{1}はＮであり、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩｂ－８１）で表さ

れ得：

【化９８】



（ＶＩｂ－８１）、

式中、

Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、及び

ｒは、１～１０の整数である。

【０４１６】

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０４１７】

いくつかの実施形態では、上記の構造のマイタンシノイドは、脱アシル化マイタンシンまたはデアシルマイタンシンと呼ばれ得る。

【０４１８】

アウリスタチン

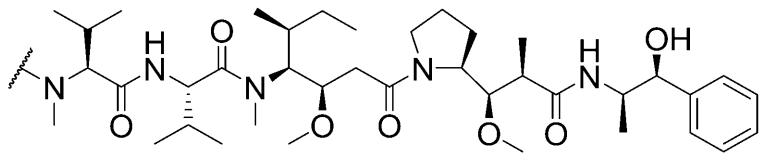
【０４１９】

いくつかの実施形態では、薬物は、有糸分裂阻害薬、例えば、アウリスタチンまたは活性アウリスタチン類似体もしくはその誘導体（例えば、モノメチルアウリスタチンＤ（ＭＭＡＤ）、モノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）、モノメチルアウリスタチンＦ（ＭＭＡＦ）、及び同様のもの）である。例えば、本明細書に記載される５Ｔ４－ＡＤＣを表す式のいずれかにおいて、W^1は、ＭＭＡＥ、ＭＭＡＦ、またはＭＭＡＤであり得る。

【０４２０】

一部の実施形態では、W^1は、ＭＭＡＥであり、これは、以下の構造（Ｗ－２）を有し：

【化９９】



（Ｗ－２）、

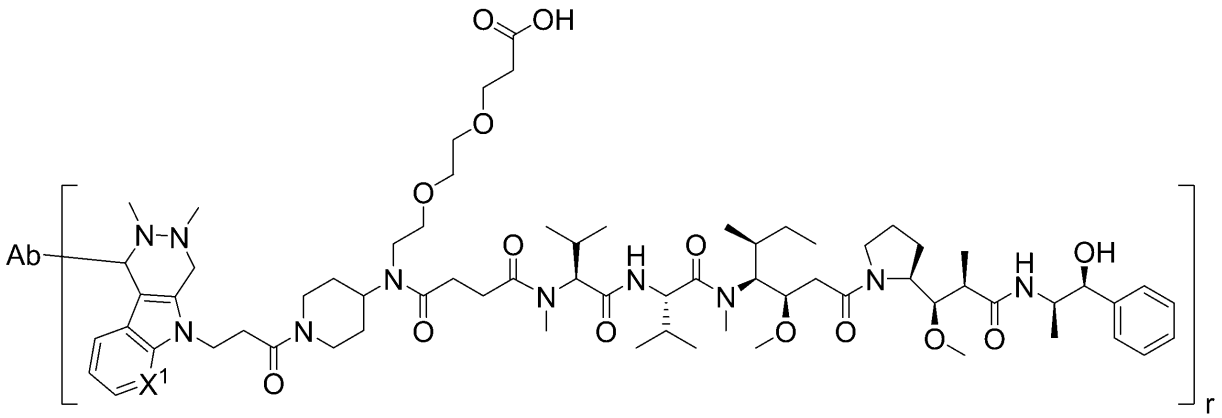
式中、

【化１００】

〰

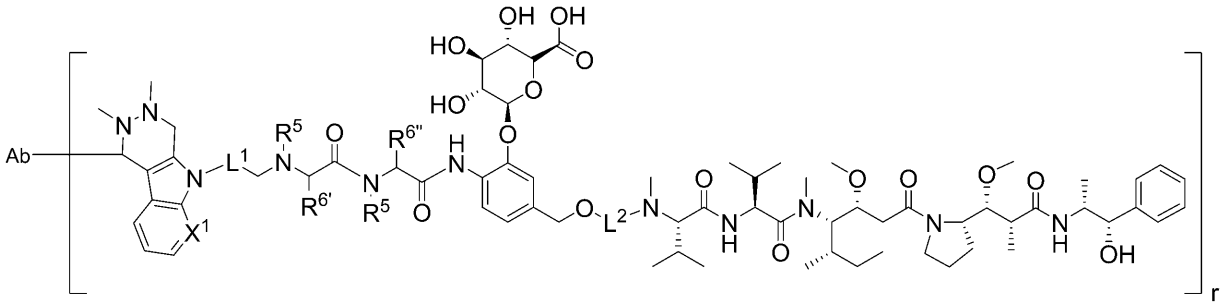
は、５Ｔ４－ＡＤＣにおけるＭＭＡＥとリンカーＬ（本明細書で開示されるL^2部分等）との間の結合点を示す。

【０４２１】
例えば、ＭＭＡＥは、リンカー（Ｌ－１）を含む５Ｔ４－ＡＤＣに含まれ得る。したがって、いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－１２）で表され得：
【化１０１】



（ＶＩ－１２）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、及び
Ｘ^{1}はＣまたはＮである。
【０４２２】
いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。
【０４２３】
一部の実施形態では、ＭＭＡＥは、リンカー（Ｌ－５）を含む５Ｔ４－ＡＤＣに含まれ得る。したがって、いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－５２）で表され得：
【化１０２】

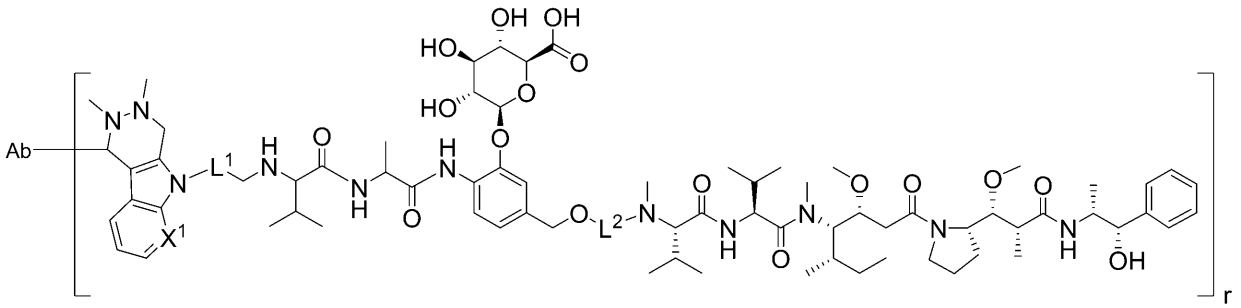


（ＶＩ－５２）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
Ｘ^{1}はＣまたはＮであり、及び
Ｌ^{1}及びＬ２は、リンカー（Ｌ－３）などについて本明細書で定義される通りである。
【０４２４】
いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。
【０４２５】

一部の実施形態では、ＭＭＡＥは、リンカー（Ｌ－６）を含む５Ｔ４－ＡＤＣに含まれ得る。したがって、いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－６２）によって表され得：

【化１０３】



（ＶＩ－６２）、

式中、

Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、

ｒは、１～１０の整数であり、

X^1はＣまたはＮであり、及び

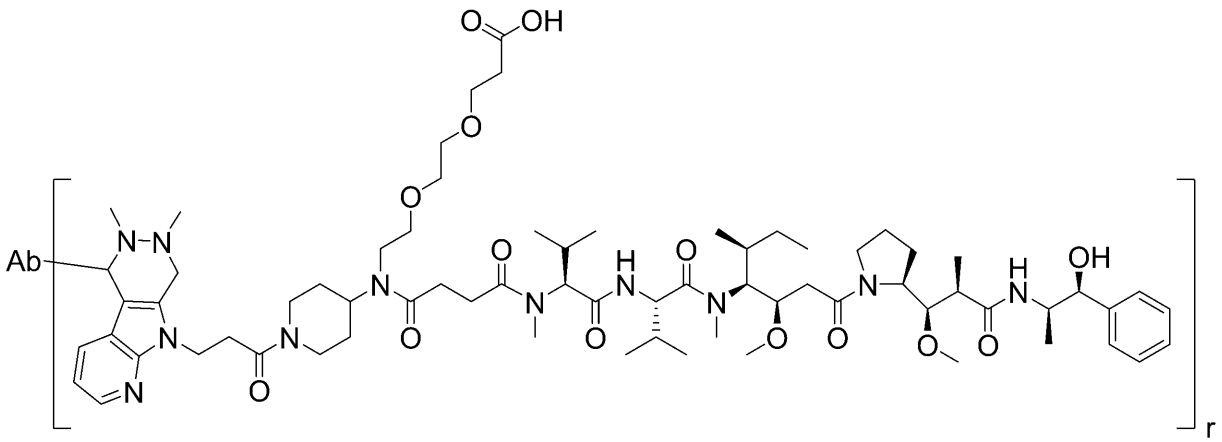
L^1及びL^2は、リンカー（Ｌ－３）などについて本明細書で定義される通りである。

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

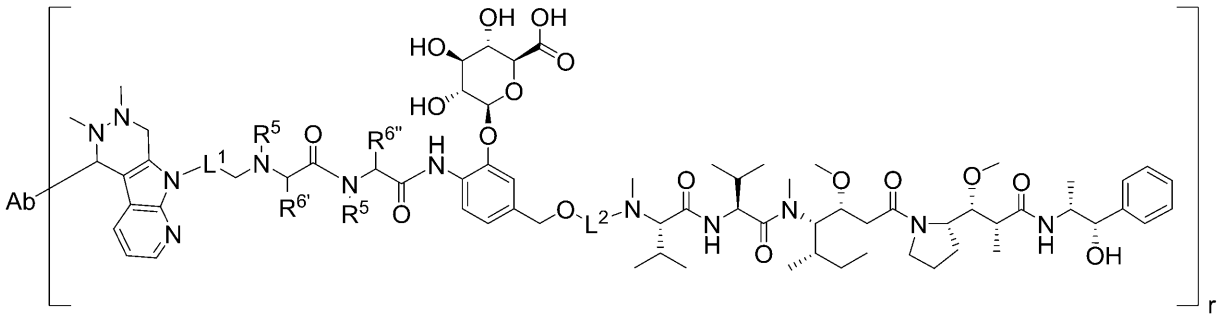
【０４２６】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩ－１２）、（ＶＩ－５２）、及び（ＶＩ－６２）によって表され得、式中、X^1は、Ｎである。一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩｂ－１２）、式（ＶＩｂ－５２）、または式（ＶＩｂ－６２）で表され得：

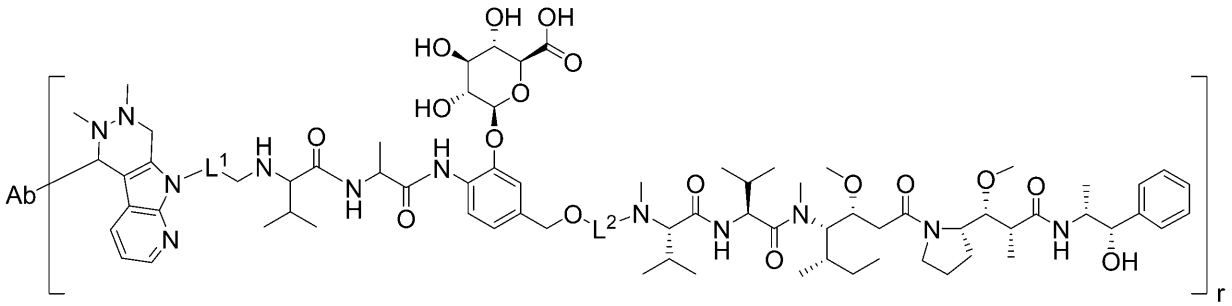
【化１０４】



（ＶＩｂ－１２）、



（ＶＩｂ－５２）、もしくは



（ＶＩｂ－６２）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
R^5、$R^{6'}$、$R^{6''}$、L^1、及びL^2は、リンカー（Ｌ－５）などについて本明細書で定義される通りであり、及び
ｒは、１～１０の整数である。

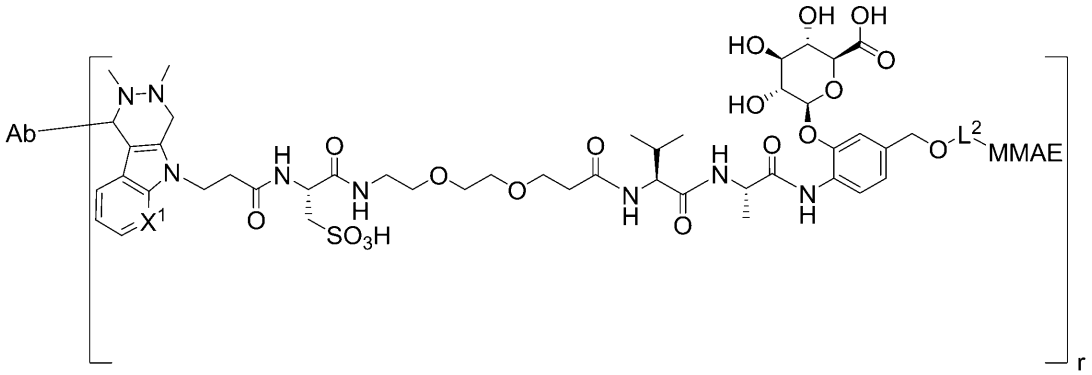
【０４２７】

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０４２８】

一部の実施形態では、ＭＭＡＥは、リンカー（Ｌ－７）を含む５Ｔ４－ＡＤＣに含まれ得る。したがって、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩｂ－７２）で表され得：

【化１０５】



（ＶＩｂ－７２）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、
ｒは、１～１０の整数であり、
Ｌ^{2}は、リンカー（Ｌ－６）などについて本明細書で定義される通りである。

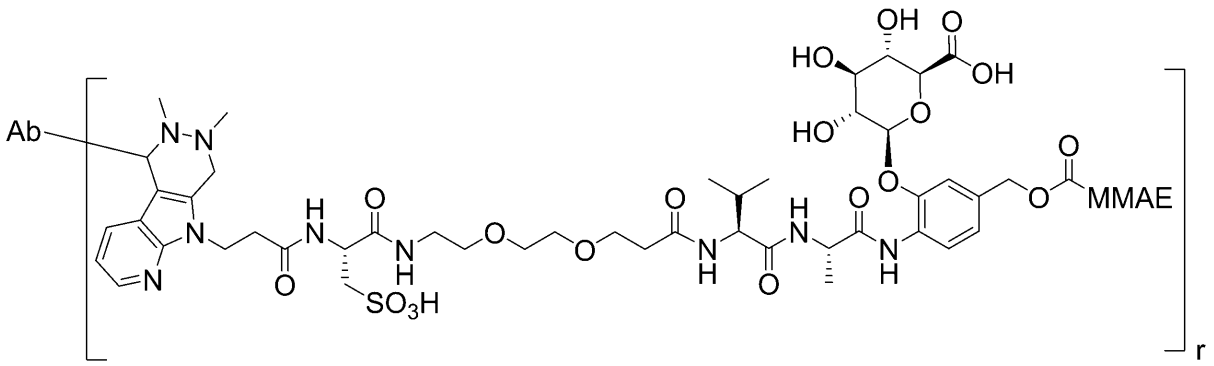
【０４２９】

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０４３０】

一部の実施形態では、ＭＭＡＥは、リンカー（Ｌ－８）を含む５Ｔ４－ＡＤＣに含まれ得る。したがって、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＶＩｂ－８２）で表され得：

【化１０６】



（ＶＩｂ－８２）、

式中、
Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、及び
ｒは、１～１０の整数である。

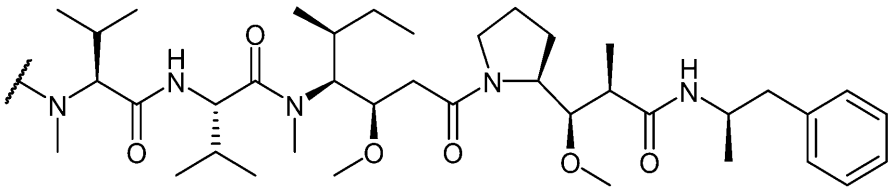
【０４３１】

いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０４３２】

一部の実施形態では、Ｗ^{1}は、ＭＭＡＥであり、これは、以下の構造（Ｗ－３）を有し：

【化１０７】



（Ｗ－３）、

式中、

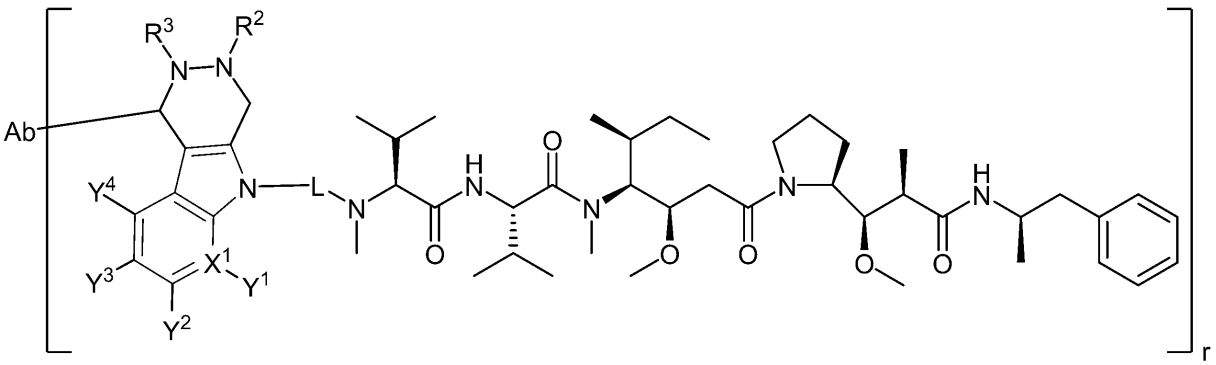
【化１０８】

は、ＭＭＡＦと５Ｔ４－ＡＤＣにおけるリンカーとの間の結合点を示す。

【０４３３】

例えば、ＭＭＡＦは、例えば、以下のように、５Ｔ４－ＡＤＣに含まれ得る：

【化１０９】



式中、

Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体であり、

ｒは、１～１０の整数であり、

Y^1、Y^2、Y^3、Y^4、X^1、R^2、R^3、及びＬは、式（Ｖ）などで本書で定義するとおりである。

【０４３４】

一部の実施形態では、Ｌは、リンカー（Ｌ－１）、（Ｌ－２）、（Ｌ－３）、（Ｌ－４）、（Ｌ－５）、（Ｌ－６）、（Ｌ－７）、及び（Ｌ－８）から選択される。一部の実施形態では、X^1は、ＣまたはＮである。一部の実施形態では、Y^1、Y^2、Y^3、及びY^4の各々は、水素である。いくつかの実施形態では、R^2及びR^3は独立して、メチルなどのC_1～C_6アルキルである。いくつかの実施形態では、ｒは、１～１０の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｒは、１または２である。

【０４３５】

概要セクション

【０４３６】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、（ＶＩｂ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、（ＶＩｂ－２）、（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（

ＶＩａ－８）、（ＶＩｂ－８）、（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－２１）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩａ－１１）、（ＶＩａ－２１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩｂ－１２）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）、または（ＶＩｂ－８２）で表され得、Ａｂが、本明細書で開示される５Ｔ４に結合する抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、表１～３のいずれか１つなど、本明細書に記載されるＣＤＲと同一または実質的に同一の１つ以上（１、２、または３つなど）のＣＤＲを含むＶＨを含む。追加でまたは代替的に、いくつかの実施形態では、抗体は、表１～３のいずれか１つなど、本明細書に記載されるＣＤＲと同一または実質的に同一の１つ以上（１、２、または３つなど）のＣＤＲを含むＶＬを含む。

【０４３７】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、（ＶＩｂ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、（ＶＩｂ－２）、（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、（ＶＩｂ－８）、（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－２１）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩａ－１１）、（ＶＩａ－２１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩｂ－１２）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）、または（ＶＩｂ－８２）で表され得、Ａｂが、本明細書で開示される５Ｔ４に結合する抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、表１～３のいずれか１つに記載されるもの等、本明細書に記載されるＶＨと同一または実質的に同一のＶＨを含む。追加でまたは代替的に、いくつかの実施形態では、抗体は、表１～３のいずれか１つなど、本明細書に記載されるＶＬと同一または実質的に同一のＶＬを含む。

【０４３８】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、（ＶＩｂ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、（ＶＩｂ－２）、（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、（ＶＩｂ－８）、（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－２１）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩａ－１１）、（ＶＩａ－２１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩｂ－１２）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）、または（ＶＩｂ－８２）で表され得、Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体である。一部の実施形態では、抗体は、（ｉ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＶＨ及び配列番号２６のアミノ酸配列を含むＶＬ、または（ｉｉ）配列番号４４のアミノ酸配列を含むＶＨ及び配列番号４５のアミノ酸配列を含むＶＬ、または（ｉｉｉ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＶＨ及び配列番号６３のアミノ酸配列を含むＶＬを含む。

【０４３９】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、（ＶＩｂ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、（ＶＩｂ－２）、（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、（ＶＩｂ－８）、（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－２１）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩａ－１１）、（ＶＩａ－２１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩｂ－１２）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）、または（ＶＩｂ－８２）で表され得、Ａｂが、本明細書で開示される５Ｔ４に結合する抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、（ａ）（１）配列番号１、７、１２、１３、及び１８のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号２、８、１４、１９、及び２４のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号３、９、１５、及び２０のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５、１１、及び２２

のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号６、１７、及び２３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０４４０】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、（ＶＩｂ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、（ＶＩｂ－２）、（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、（ＶＩｂ－８）、（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－２１）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩａ－１１）、（ＶＩａ－２１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩｂ－１２）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）、または（ＶＩｂ－８２）で表され得、Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、（ｉ）配列番号１のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号２のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、配列番号３のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、及び配列番号４のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、配列番号６のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｉｉ）配列番号７のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号８のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、配列番号９のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、及び配列番号１０のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、配列番号６のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｉｉｉ）配列番号１２のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号２のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、配列番号３のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、及び配列番号４のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、配列番号６のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｉｖ）配列番号１３のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号１４のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、配列番号１５のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、及び配列番号１６のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、配列番号１７のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｖ）配列番号１８のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号１９のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、配列番号２０のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、及び配列番号２１のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号２２のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、配列番号２３のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｖｉ）配列番号１のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号２４のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、配列番号３のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、及び配列番号４のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、配列番号６のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域を含む。

【０４４１】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、（ＶＩｂ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、（ＶＩｂ－２）、（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、（ＶＩｂ－８）、（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－２１）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩａ－１１）、（ＶＩａ－２１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩｂ－１２）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）、または（ＶＩｂ－８２）で表され得、Ａｂは、５Ｔ４に結合する抗体であり、（ａ）（１）配列番号２７、３１、３４、３５、及び３９のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号２８、３２、３６、４０、及び４３のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、ならびに（３）配列番号２９、３３、３７、及び４１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（

ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬＣＤＲ１、（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬＣＤＲ２、及び（３）配列番号３０、３８、及び４２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含む、ＶＬ領域を含む。

【０４４２】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、（ＶＩｂ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、（ＶＩｂ－２）、（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、（ＶＩｂ－８）、（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－２１）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩａ－１１）、（ＶＩａ－２１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩｂ－１２）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）、または（ＶＩｂ－８２）で表され得、Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、（ｉ）配列番号２７のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号２８のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号２９のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、及び配列番号４のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号３０のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｉｉ）配列番号３１のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号３２のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号３３のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、及び配列番号１０のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号３０のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｉｉｉ）配列番号３４のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号２８のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号２９のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、及び配列番号４のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号３０のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｉｖ）配列番号３５のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号３６のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号３７のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、及び配列番号１６のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号３８のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｖ）配列番号３９のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号４０のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号４１のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、及び配列番号２１のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号２２のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号４２のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、または（ｖｉ）配列番号２７のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号４３のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号２９のアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨ領域、及び配列番号４のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号３０のアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域を含む。

【０４４３】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、（ＶＩｂ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、（ＶＩｂ－２）、（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、（ＶＩｂ－８）、（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－２１）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩａ－１１）、（ＶＩａ－２１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩｂ－１２）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）、または（ＶＩｂ－８２）で表され得、Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、（ａ）（１）配列番号４６、５０、５３、１３、及

び５７のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、（２）配列番号４７、５１、５４、５８、及び６１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号４８、５２、５５、及び５９のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び（ｂ）（１）配列番号４、１０、１６、及び２１のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、（２）配列番号５、１１、及び２２のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び（３）配列番号４９、５６、及び６０のいずれか１つのアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬ領域、を含む。

【０４４４】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、（ＶＩｂ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、（ＶＩｂ－２）、（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、（ＶＩｂ－８）、（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－２１）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩａ－１１）、（ＶＩａ－２１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩｂ－１２）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）、または（ＶＩｂ－８２）で表され得、Ａｂは５Ｔ４に結合する抗体であり、（ｉ）配列番号４６を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号４７を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号４８を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号４を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号４９を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、（ｉｉ）配列番号５０を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号５１を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、配列番号５２を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号１０を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号４９を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または（ｉｉｉ）配列５３を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号４７を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号４８を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号４を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号４９を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または（ｉｖ）配列番号１３を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、及び配列番号５４を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号５５を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号１６を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号１１を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号５６を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または（ｖ）配列番号５７を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号５８を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号５９を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号２１を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号２２を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号６０を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、または（ｖｉ）配列番号４６を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、配列番号６１を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び配列番号４８を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３、を含むＶＨ領域、及び配列番号４を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、配列番号５を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２、及び配列番号４９を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３、を含むＶＬ領域、を含む。

【０４４５】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、（ＶＩｂ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、（ＶＩｂ－２）、（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、（ＶＩｂ－８）、（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－２１）、（ＶＩ－８１）、（

ＶＩａ－１１）、（ＶＩａ－２１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩｂ－１２）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）、または（ＶＩｂ－８２）で表され得、Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、さらに、配列番号２５、２６、４４、４５、６２、及び６３のいずれか１つに示されるフレームワーク１（ＦＲ１）、フレームワーク２（ＦＲ２）、フレームワーク３（ＦＲ３）及び／またはフレームワーク４（ＦＲ４）配列を含む。

【０４４６】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、（ＶＩｂ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、（ＶＩｂ－２）、（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、（ＶＩｂ－８）、（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－２１）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩａ－１１）、（ＶＩａ－２１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩｂ－１２）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）、または（ＶＩｂ－８２）で表され得、Ａｂが、本明細書で開示される５Ｔ４に結合する抗体であり、ヒトフレームワーク配列を含む。

【０４４７】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、式（ＩＶ）、（Ｖ）、（ＶＩ）、（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、（ＶＩｂ－１）、（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、（ＶＩｂ－２）、（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、（ＶＩｂ－８）、（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－２１）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩａ－１１）、（ＶＩａ－２１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩｂ－１２）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）、または（ＶＩｂ－８２）で表され得、Ａｂが、５Ｔ４に結合する抗体である。一部の実施形態では、抗体は、（ｉ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号２６のアミノ酸配列を含むＶＬ、または（ｉｉ）配列番号４４のアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号４５のアミノ酸配列を含むＶＬ、または（ｉｉｉ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号６３のアミノ酸配列を含むＶＬ、を含む。

【０４４８】

抗体－リンカー‐薬物コンジュゲーション

いくつかの実施形態では、抗体は、リンカー－薬物へのコンジュゲーションの前に修飾され得る。抗体の修飾は、リンカー‐薬物へのコンジュゲーションに好適な１または複数の反応性基を含む修飾抗体を生成することができる。

【０４４９】

いくつかの実施形態では、抗体は、１つ以上のアミノ酸残基において修飾され、リンカー－薬物へのコンジュゲーションに好適な１つ以上の反応性基が提供され得る。例えば、ポリペプチドに導入されたカルボニル基は、アミノオキシ及びヒドラジド含有化合物等のα－求核剤と選択的に反応され得る。動力学、部位選択性、及びコンジュゲート安定性が強化されたタンパク質上のカルボニル官能基に選択的な化学作用は、改善されたバイオコンジュゲートをもたらし得る。

【０４５０】

いくつかの実施形態では、抗体は、反応性アルデヒド基（例えば、反応性アルデヒド）を含むように修飾され得る。反応性アルデヒドは、「アルデヒドタグ」または「ａｌｄ－タグ」に含まれ得、「アルデヒドタグ」または「ａｌｄ－タグ」は、２－ホルミルグリシン残基（本明細書では「ｆＧｌｙ」と呼ばれる）を含有するような、ホルミルグリシン生成酵素（ＦＧＥ）の作用によって変換されたスルファターゼモチーフに由来するアミノ酸配列を指すことを意味する。ＦＧＥによって生成されたｆＧｌｙ残基は、文献では「ホルミルグリシン」とも呼ばれる。別の言い方をすれば、「アルデヒドタグ」という用語は、

本明細書では、「変換された」スルファターゼモチーフ（すなわち、システインまたはセリン残基がＦＧＥの作用、例えば、Ｌ（ｆＧｌｙ）ＴＰＳＲ（配列番号１０２）、によってｆＧｌｙに変換されたスルファターゼモチーフ）を含むアミノ酸配列を指すために使用される。変換されたスルファターゼモチーフは、「変換されていない」スルファターゼモチーフ（すなわち、システインまたはセリン残基がＦＧＥによってｆＧｌｙに変換されていないが、変換することができる、例えば、配列：Ｌ（Ｃ／Ｓ）ＴＰＳＲ（配列番号１０３）を有する未変換のスルファターゼモチーフ）を含むアミノ酸配列に由来し得る。スルファターゼモチーフに対するホルミルグリシン生成酵素（ＦＧＥ）の作用の文脈において使用される「変換」とは、スルファターゼモチーフにおけるシステインまたはセリン残基からホルミルグリシン（ｆＧｌｙ）残基への生化学的な修飾（例えば、ＣｙｓからｆＧｌｙへ、またはＳｅｒからｆＧｌｙへ）を指す。本明細書で使用される場合、アルデヒドタグ付き抗体は、システインまたはセリン残基が修飾され、ホルミルグリシン残基を形成する抗体を指す。部位特異的タンパク質修飾におけるアルデヒドタグの追加の態様及びその使用は、ＵＳ７，９８５，７８３及び米国出願公開第２０１１／０１１７６２１号に記載されており、これらの開示は各々、参照によって本明細書に組み込まれる。

【０４５１】

ｆＧｌｙを含むためのポリペプチドの変換は、細胞ベースの方法（インビボ）または無細胞方法（インビトロ）によって達成され得る。同様に、コンジュゲーションに好適なポリペプチドを生成するためのポリペプチドの修飾（例えば、コンジュゲーションに好適な反応性基を含有するポリペプチドを生成するための修飾）は、細胞ベースの方法（インビボ）または無細胞方法（インビトロ）によって達成することができる。

【０４５２】

抗体のアミノ酸配列は、インビボで（例えば、細胞内のアルデヒドタグ含有タンパク質の翻訳時）、またはインビトロで（例えば、無細胞系でアルデヒドタグ含有タンパク質をＦＧＥと接触させることによって）、ＦＧＥの作用によってＦＧｌｙ残基に変換（酸化）可能であるセリンまたはシステイン残基を含むスルファターゼモチーフを含むように修飾され得る。５Ｔ４－ＡＤＣの生成に使用される５Ｔ４抗体は、少なくともＩｇ定常領域、例えば、Ｉｇ重鎖定常領域（例えば、少なくともＣＨ１ドメイン、少なくともＣＨ１及びＣＨ２ドメイン、ＣＨ１、ＣＨ２、及びＣＨ３ドメイン、もしくはＣＨ１、ＣＨ２、ＣＨ３、及びＣＨ４ドメイン）、またはＩｇ軽鎖定常領域を含む。

【０４５３】

スルファターゼモチーフは、抗体内の任意の都合のよい部位に導入することができる。本明細書で述べたように、一部の実施形態では、挿入、欠失、置換（置き換えられる）、及び／または付加（例えば、Ｎ末端またはＣ末端）されるアミノ酸残基の数を最小にするため、標的ポリペプチドの天然アミノ酸配列の修飾の程度を最小にする。標的抗体のアミノ酸配列修飾の程度を最小にすることにより、かかる修飾が抗体の機能及び／または構造に与え得る影響を最小にすることができる。

【０４５４】

いくつかの実施形態では、アルデヒドタグ付き抗体は、アルデヒドタグ付きＩｇ重鎖定常領域（例えば、少なくともＣＨ１ドメイン、少なくともＣＨ１及びＣＨ２ドメイン、ＣＨ１、ＣＨ２、及びＣＨ３ドメイン、またはＣＨ１、ＣＨ２、ＣＨ３、及びＣＨ４ドメイン）を含む。アルデヒドタグ付きＩｇ重鎖定常領域は、ＩｇＡ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、またはＩｇＧ４アイソタイプ重鎖またはその任意のアロタイプバリアント、例えば、ヒト重鎖定常領域の重鎖定常領域配列もしくはマウス重鎖定常領域配列、ハイブリッド重鎖定常領域、合成重鎖定常領域、またはコンセンサス重鎖定常領域配列などの重鎖定常領域配列を含み、ＦＧＥによって、ｆＧｌｙ修飾Ｉｇポリペプチドを生成するように少なくとも１つのスルファターゼモチーフを含むように修飾される。Ｉｇ重鎖のアロタイプバリアントが当技術分野で公知である。例えば、Ｊｅｆｆｅｒｉｓ ａｎｄ Ｌｅｆｒａｎｃ（２００９）ＭＡｂｓ１：４を参照されたい。

【０４５５】

いくつかの実施形態では、アルデヒドタグ付き抗体は、アルデヒドタグ付きＩｇ軽鎖定常領域を含む。アルデヒドタグ付きＩｇ軽鎖定常領域は、カッパ軽鎖、ラムダ軽鎖、例えば、カッパもしくはラムダ軽鎖定常領域、ハイブリッド軽鎖定常領域、合成軽鎖定常領域、またはｆＧｌｙ修飾抗体を生成するためにＦＧＥによって修飾され得る少なくとも１つのスルファターゼモチーフを含むように修飾されたコンセンサス軽鎖定常領域配列等を含み得る。

【０４５６】

あるいは、単離された未修飾ポリペプチドは、好適な酵素を欠く宿主細胞における組換え生成の後、または合成生成によって単離され得る。次いで、単離されたポリペプチドを、ｆＧｌｙを含むようにポリペプチドの所望の修飾を提供する条件下で好適な酵素と接触させることができる。ポリペプチドは、当該技術分野で知られている方法（例えば、熱、ｐＨの調整、カオトロピック剤（例えば、尿素など）、有機溶媒（例えば、炭化水素：オクタン、ベンゼン、クロロホルム）などを使用してアンフォールディングすることができ、変性タンパク質を好適な酵素と接触させることができる。次いで、修飾されたポリペプチドは、好適な条件下でリフォールディングされ得る。

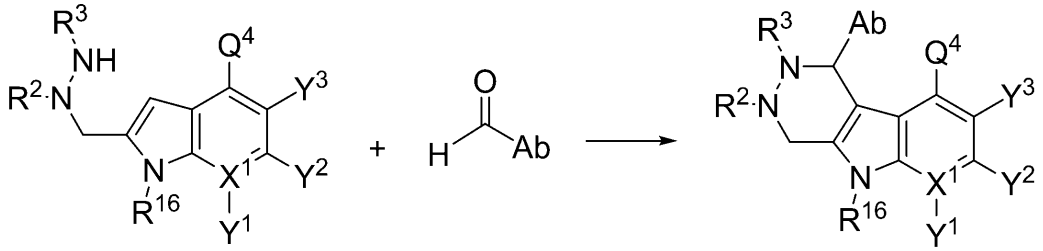
【０４５７】

いくつかの実施形態では、ｆＧｌｙ残基を含有する修飾抗体は、ｆＧｌｙを、本明細書に記載されるヒドラジニル－ピロロカップリング部分などのリンカー－薬物上のカップリング部分と反応させることによって、リンカー－薬物にコンジュゲートすることができる。例えば、ｆＧｌｙ含有抗体は、産生源（例えば、組換え宿主細胞産生、合成産生）から単離され得、反応性パートナーを含有する薬物または他の部分（例えば、検出可能な標識）と、薬物または他の部分の５Ｔ４抗体へのコンジュゲーションを提供するのに好適な条件で、接触され得る。例えば、反応性パートナー含有薬物または他の部分は、コンジュゲーション部分（例えば、本明細書に記載されるヒドラジニル－ピロロカップリング部分）を含み得る。ヒドラジニル－ピロロ含有薬物を抗体と反応させて、本明細書に記載されるような５Ｔ４－ＡＤＣを生成することができる。

【０４５８】

ピリダジン－ピロロカップリング部分に抗体をカップリングするための一般的なスキームを以下に示す。

【化１１０】



アザＨＩＰＳ　　ｆＧｌｙ残基を含む抗体　　式（ＩＩＩ）

【０４５９】

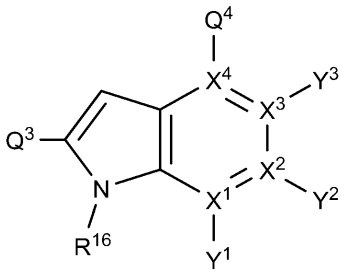
本明細書ではアザ－ヒドラジノ－イソ－ピクテ－スペングラー（アザＨＩＰＳ）カップリング部分と互換的に称され得るヒドラジニル－ピロロカップリング部分は、ホルミル－グリシンへのコンジュゲーション時に、式（ＩＩＩ）に示すようなピリダジン－ピロロカップリング部分を形成する。５Ｔ４抗体は、アザＨＩＰＳカップリング部分と反応し、したがって２つを一緒にコンジュゲートする２－ホルミルグリシン残基（ｆＧｌｙ）を含み得る。５Ｔ４－ＡＤＣを生成するために、薬物を、アザＨＩＰＳ部分に、アザＨＩＰＳ部分の任意の位置（例えば、Ｒ^{16}、Ｙ^{1}、Ｙ^{2}、Ｙ^{3}、またはＱ^{4}）で直接または間接的

にカップリングすることができる。R^2及びR^3は、独立して、望ましい置換基、例えば、制限するものではないが、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり得る。R^{16}、Y^1、Y^2、Y^3、及びQ^4は、式（Ｉ）または式（ＩＩ）などについて本明細書に記載の通りであり得る。

【０４６０】

下記の式（Ｉ）は、５Ｔ４に結合する抗体と、本明細書に記載の任意の５Ｔ４－ＡＤＣにおける薬物とを連結するために使用され得るヒドラジニル－ピロロカップリング部分を表す。

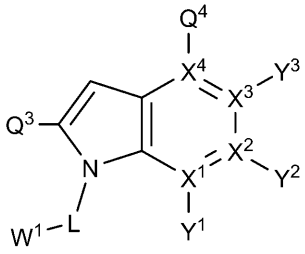
【化１１１】



（Ｉ）

式中、
R^{16}、Y^1、Y^2、Y^3、及びQ^4のうちの１つが、－Ｌ－W^1であり、
式中、Q^3及びQ^4のうちの１つが、－（CH_2）$_m$$NR^3NHR^2$であり、
ｍは０または１であり、
R^2及びR^3は、各々独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、またはR^2及びR^3は、環状に連結されて、５員もしくは６員ヘテロシクリルを形成し、
Q^3が－（CH_2）$_m$$NR^3NHR^2$ではない場合、$Q^3$は$Y^4$であり、
Q^4が、－Ｌ－W^1または－（CH_2）$_m$$NR^3NHR^2$ではない場合、$Q^4$は$Y^4$であり、
X^1、X^2、X^3、及びX^4が、各々独立して、Ｃ、Ｎ、Ｏ、またはＳであり、ここで、
X^1、X^2、X^3、及びX^4のうちの１つが、任意選択的に存在せず、
Y^1、Y^2、Y^3、－Ｌ－W^1（でないとしても）、及びY^4は、各々独立して、水素、ハロゲン、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、またはY^1及びY^2、Y^2及びY^3、またはQ^4がY^4である場合、Y^4及びY^3は、任意で環状に連結されてもよく、
R^{16}がＬ－W^1でない場合、R^{16}は、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリー

ル、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、
Ｌが、本明細書に記載されるようなリンカーであり、及び
W^1は薬物である。
【０４６１】
式（Ｉ）は、ＷＯ２０１５／０８１２８２で以前に説明されており、これは参照によりその全体が本明細書に援用される。
【０４６２】
いくつかの実施形態において、ヒドラジニル－ピロロカップリング部分は、式（ＩＩ）で表され得：
【化１１２】



（ＩＩ）、

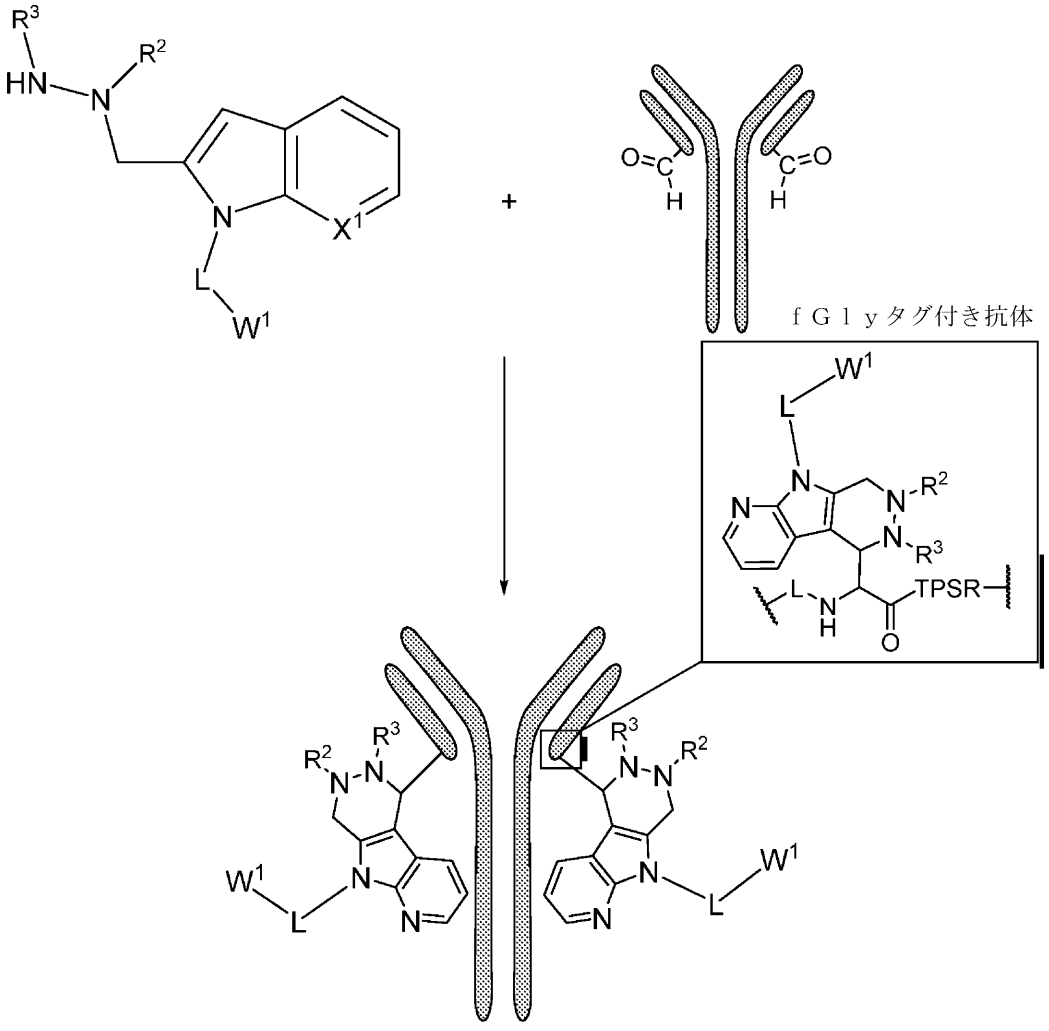
式中、
Q^3及びQ^4のうちの一方が［－（CH_2）$_m$$NR^3NR^2$］であり、
Q^3及びQ^4の他方がY^4であり、
ｍは、０または１であり、及び
R^2及びR^3は、各々独立して、水素、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、またはR^2及びR^3は、環状に連結されて、５員もしくは６員ヘテロシクリルを形成し、
X^1、X^2、X^3、及びX^4が、各々独立して、Ｃ、Ｎ、Ｏ、またはＳであり、ここで、
X^1、X^2、X^3、及びX^4のうちの１つが、任意選択的に存在せず、
Y^1、Y^2、Y^3、及びY^4は、各々独立して、水素、ハロゲン、アルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、アルコキシ、置換アルコキシ、アミノ、置換アミノ、カルボキシル、カルボキシルエステル、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノアシル、アルキルアミド、置換アルキルアミド、スルホニル、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、シクロアルキル、置換シクロアルキル、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルであり、またはY^1及びY^2、Y^2及びY^3、またはQ^4がY^4である場合、Y^3及びY^4は、任意で環状に連結されてもよく、
Ｌが、本明細書に記載されるようなリンカーであり、及び
W^1は薬物である。
【０４６３】
式（ＩＩ）は、ＷＯ２０１５／０８１２８２及びＷＯ２０２０／１５４４３７に以前に記載されており、これらの各々は参照によりその全体が本明細書に援用される。
いくつかの実施形態では、ｍは、０または１であり、R^2及びR^3は各々、アルキルである。例えば、R^2及びR^3は、各々独立して、C_1～C_{10}アルキル（例えば、C_1～C_6アルキル）であり得る。いくつかの実施形態では、R^2及びR^3は、各々独立して、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソ－プロピル、ｎ－ブチル、ｓｅｃ－ブチル、イソブチル

、またはｔ－ブチルである。いくつかの実施形態では、R^2及びR^3のうちの少なくとも１つは、メチルである。いくつかの実施形態では、R^2及びR^3の両方がメチルである。いくつかの実施形態では、X^1、X^2、X^3、及びX^4の各々は、独立して、ＣまたはＮである。いくつかの実施形態では、X^1は、Ｃである。一部の実施形態では、X^1は、Ｎである。一部の実施形態では、X^2は、ＣまたはＮである。一部の実施形態では、X^2はＣである。一部の実施形態では、X^3はＣまたはＮである。一部の実施形態では、X^3はＣである。一部の実施形態では、X^4はＣまたはＮである。一部の実施形態では、X^4は、Ｃである。X^1、X^2、X^3、及びX^4の様々な組み合わせが可能である。例えば、いくつかの実施形態では、X^1、X^2、X^3、及びX^4の各々がＣである。他の実施形態では、X^1、X^2、X^3、及びX^4のうちの３つはＣであり、X^1、X^2、X^3、及びX^4のうち１つはＮである。一部の実施形態では、Y^1、Y^2、Y^3、及びY^4の各々は、水素である。

【０４６４】

５Ｔ４－ＡＤＣを作製するための例示的なスキームをスキームＡに示す。

【化１１３】



部位特異的にコンジュゲート
されたＡＤＣ（ＤＡＲ２）

－スキームＡ－

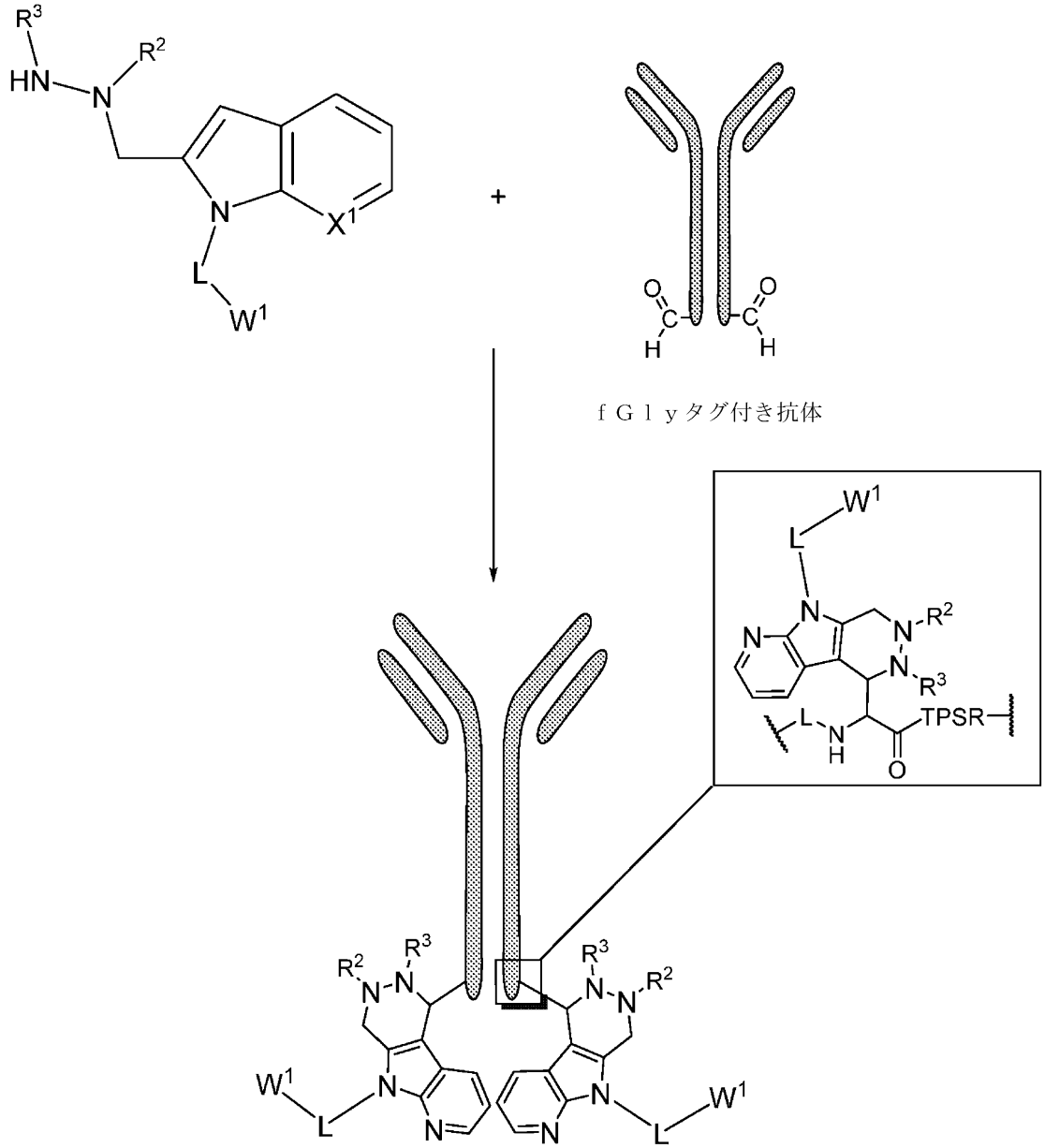
【０４６５】

スキームＡでは、リンカー－薬物は、５Ｔ４に結合する抗体にコンジュゲートされている。５Ｔ４抗体は、軽鎖の定常領域内に認識モチーフ、例えば、Ｌ（Ｃ／Ｓ）ＴＰＳＲ（配列番号１０３）認識モチーフ（例えば、配列番号９０、９４、９８等）を有する。Ｌ（Ｃ／Ｓ）ＴＰＳＲ（配列番号１０３）認識モチーフのシステイン残基を、ホルミルグリシン（ｆＧｌｙ）に変換し、その後、ピクテ・スペングラー反応を通じてアザＨＩＰＳ部分にコンジュゲートすることができる。

【０４６６】

５Ｔ４－ＡＤＣを作製するための例示的なスキームをスキームＢに示す。

【化１１４】



部位特異的にコンジュゲート
されたＡＤＣ（ＤＡＲ２）

－スキームＢ－

【０４６７】

スキームＢでは、リンカー－薬物は、５Ｔ４に結合する抗体にコンジュゲートされている。５Ｔ４抗体は、重鎖の定常領域内に認識モチーフ、例えば、Ｌ（Ｃ／Ｓ）ＴＰＳＲ（配列番号１０３）認識モチーフ（例えば、配列番号９０、９４、９８）を有する。Ｌ（Ｃ／Ｓ）ＴＰＳＲ（配列番号１０３）認識モチーフのシステイン残基を、ホルミルグリシン（ｆＧｌｙ）に変換し、その後、ピクテ・スペングラー反応を通じてアザＨＩＰＳ部分にコンジュゲートすることができる。

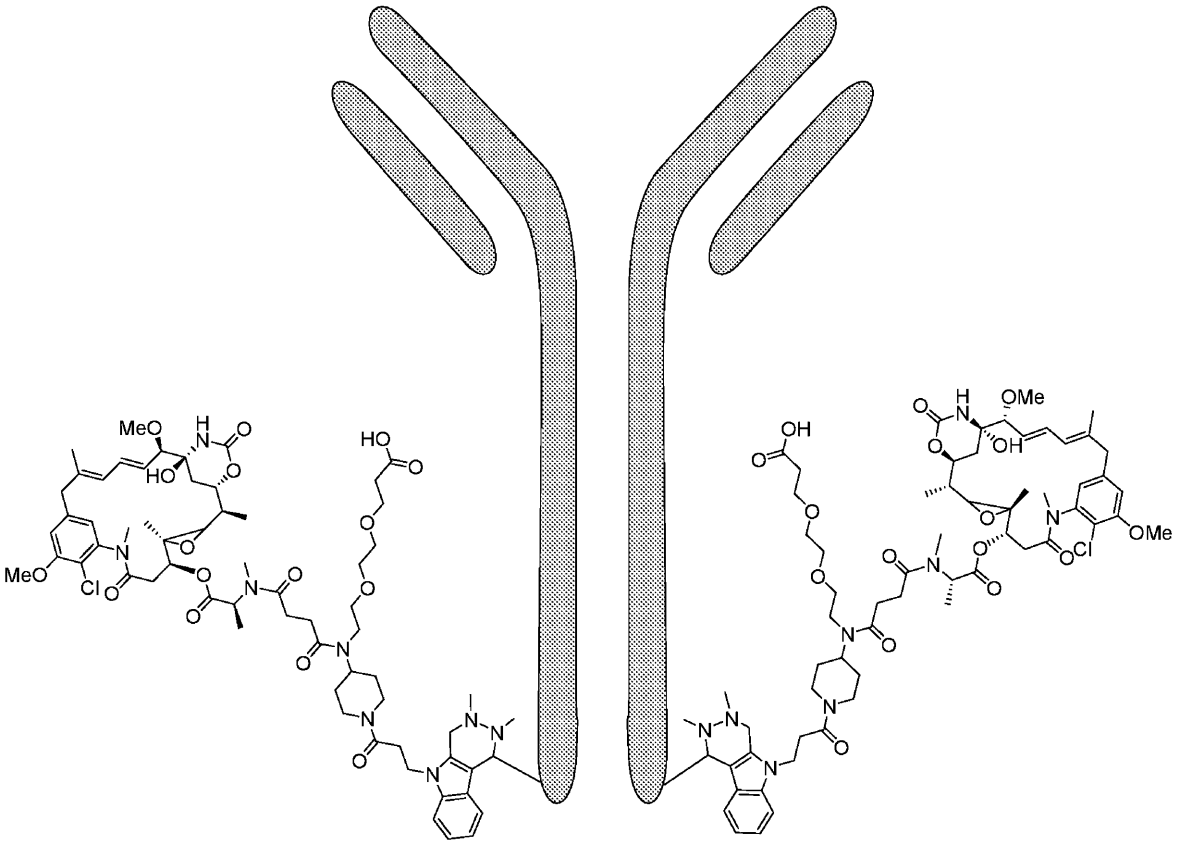
【０４６８】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、ピリダジン－ピロロカップリング部分を介して５Ｔ４抗体の各重鎖定常領域のＣ末端にコンジュゲートされたリンカー－薬物を含み、抗体のリンカー－薬物に対する１～４、１～２、１．７５～２、または１．９～２である化学量論比によって特徴付けられ得る。別の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、１つの重鎖定常領域のＣ末端のみに連結されたピリダジン－ピロロカップリング部分を含み、０．５～１、０．７５～１、または０．９～１の抗体と薬物の間の化学量論比を有する。

【０４６９】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、ピリダジン－ピロロカップリング部分を介して５Ｔ４抗体にコンジュゲートされたリンカー－薬物を含み、リンカー－薬物は以下のスキームＣに示されるように、リンカー（Ｌ－１）を介してピリダジン－ピロロカップリング部分にコンジュゲートされたマイタンシンを含む。

【化１１５】



－スキームＣ－

【０４７０】

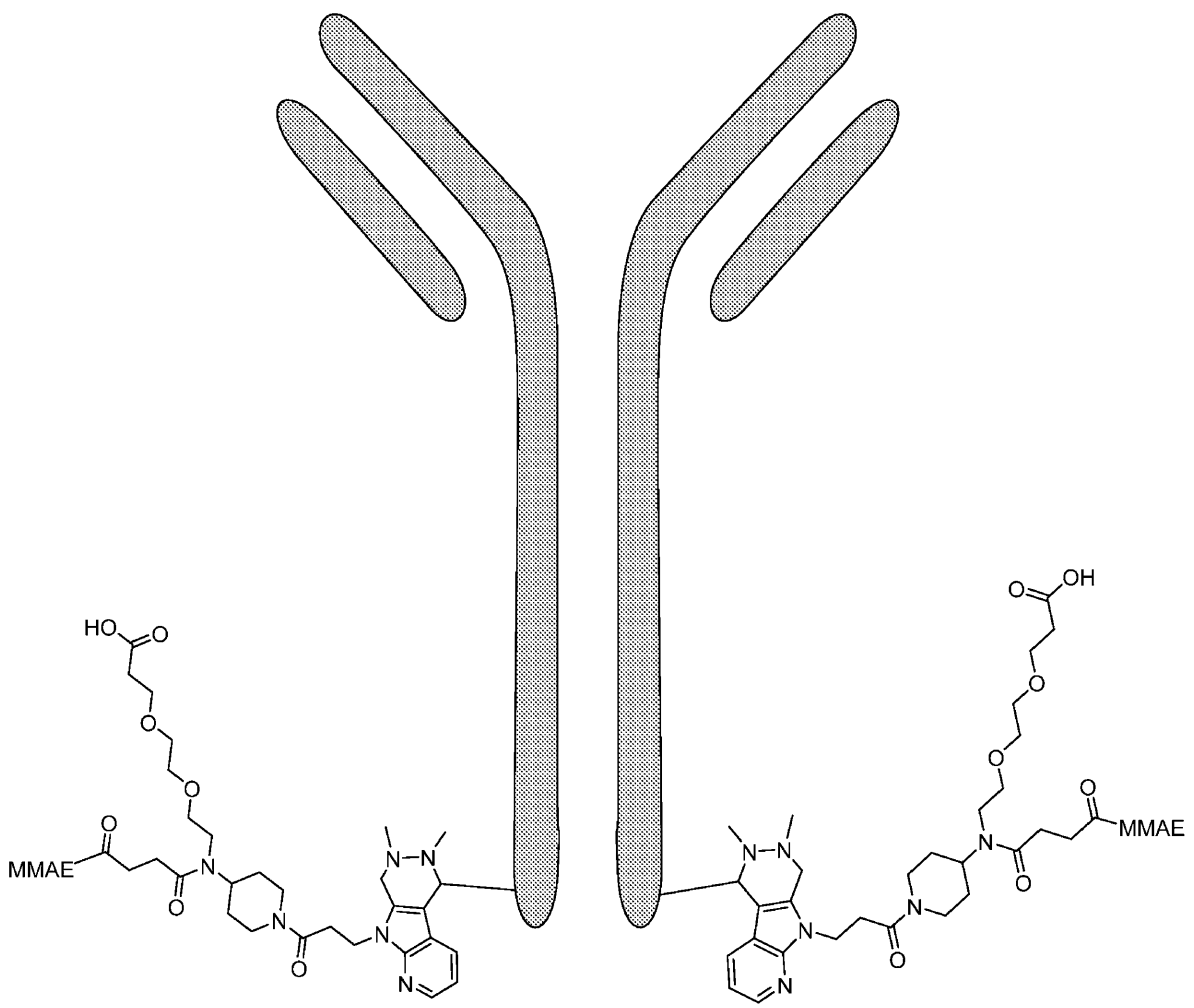
一部の実施形態では、５Ｔ４抗体は、重鎖の定常領域内に認識モチーフ、例えば、Ｌ（Ｃ／Ｓ）ＴＰＳＲ（配列番号１０３）認識モチーフ（例えば、配列番号９０、９４、９８）を有する。Ｌ（Ｃ／Ｓ）ＴＰＳＲ（配列番号１０３）認識モチーフのシステイン残基を、ホルミルグリシン（ｆＧｌｙ）に変換し、その後、ピクテ・スペングラー反応を通じて

ＭＭＡＥリンカー（Ｌ－１）にコンジュゲートされたアザＨＩＰＳ部分にコンジュゲートすることができる。

【０４７１】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、ピリダジン－ピロロカップリング部分を介して５Ｔ４抗体にコンジュゲートされたリンカー－薬物を含み、リンカー－薬物は以下のスキームＤに示されるように、リンカー（Ｌ－２）を介してピリダジン－ピロロカップリング部分にコンジュゲートされたＭＭＡＥを含む。

【化１１６】



－スキームＤ－

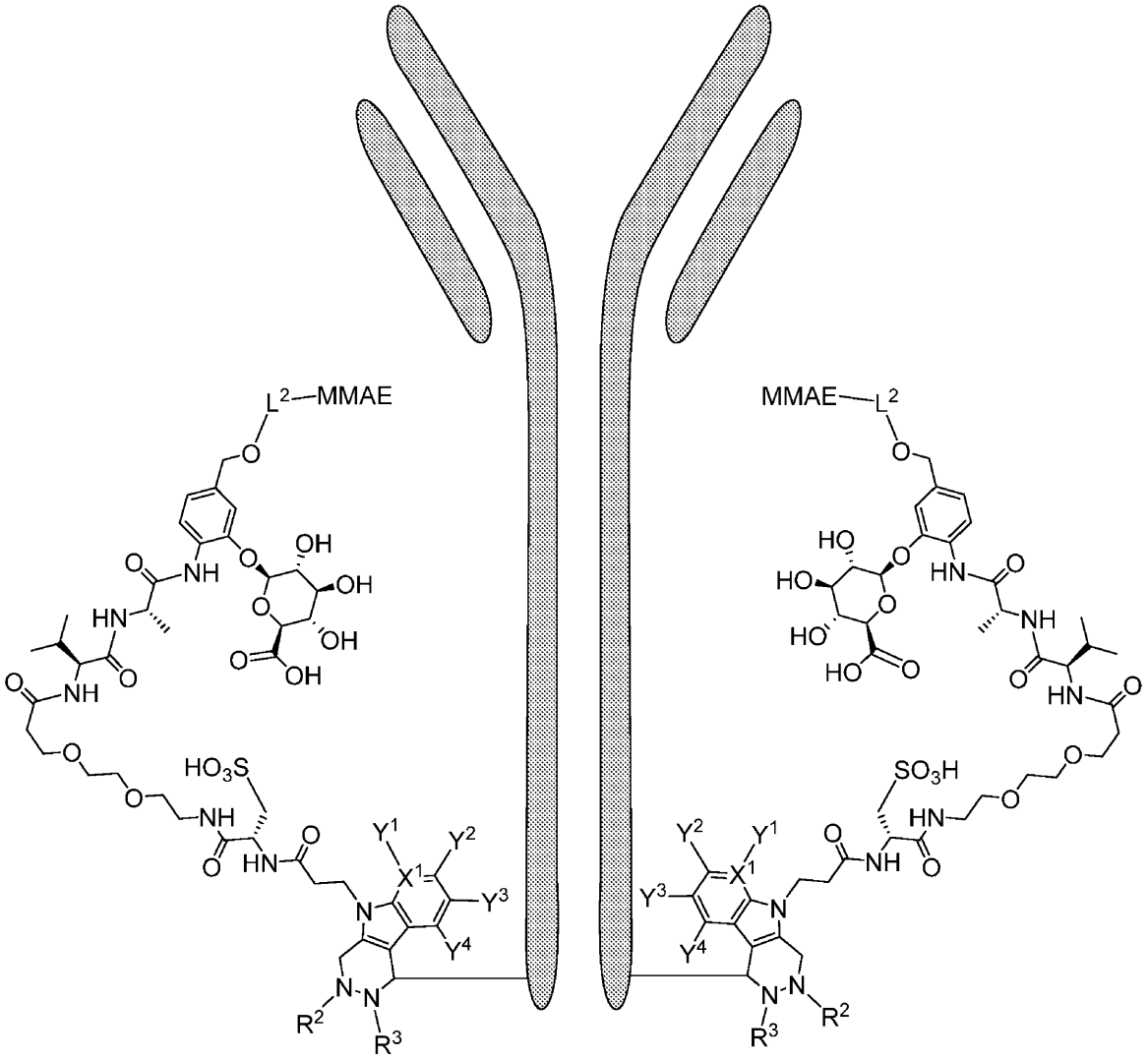
【０４７２】

一部の実施形態では、５Ｔ４抗体は、重鎖の定常領域内に認識モチーフ、例えば、Ｌ（Ｃ／Ｓ）ＴＰＳＲ（配列番号１０３）認識モチーフを有する。Ｌ（Ｃ／Ｓ）ＴＰＳＲ（配列番号１０３）認識モチーフのシステイン残基を、ホルミルグリシン（ｆＧｌｙ）に変換し、その後、リンカー（Ｌ－２）を介してピクテ・スペングラー反応を通じてＭＭＡＥにコンジュゲートされたアザＨＩＰＳ部分にコンジュゲートすることができる。

【０４７３】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、ピリダジン－ピロロカップリング部分を介して５Ｔ４抗体にコンジュゲートされたリンカー－薬物を含み、リンカー－薬物は以下のスキームＥに示されるように、リンカー（Ｌ－７）を介してピリダジン－ピロロカップリング部分にコンジュゲートされたＭＭＡＥを含む。

【化１１７】



－スキームＥ－

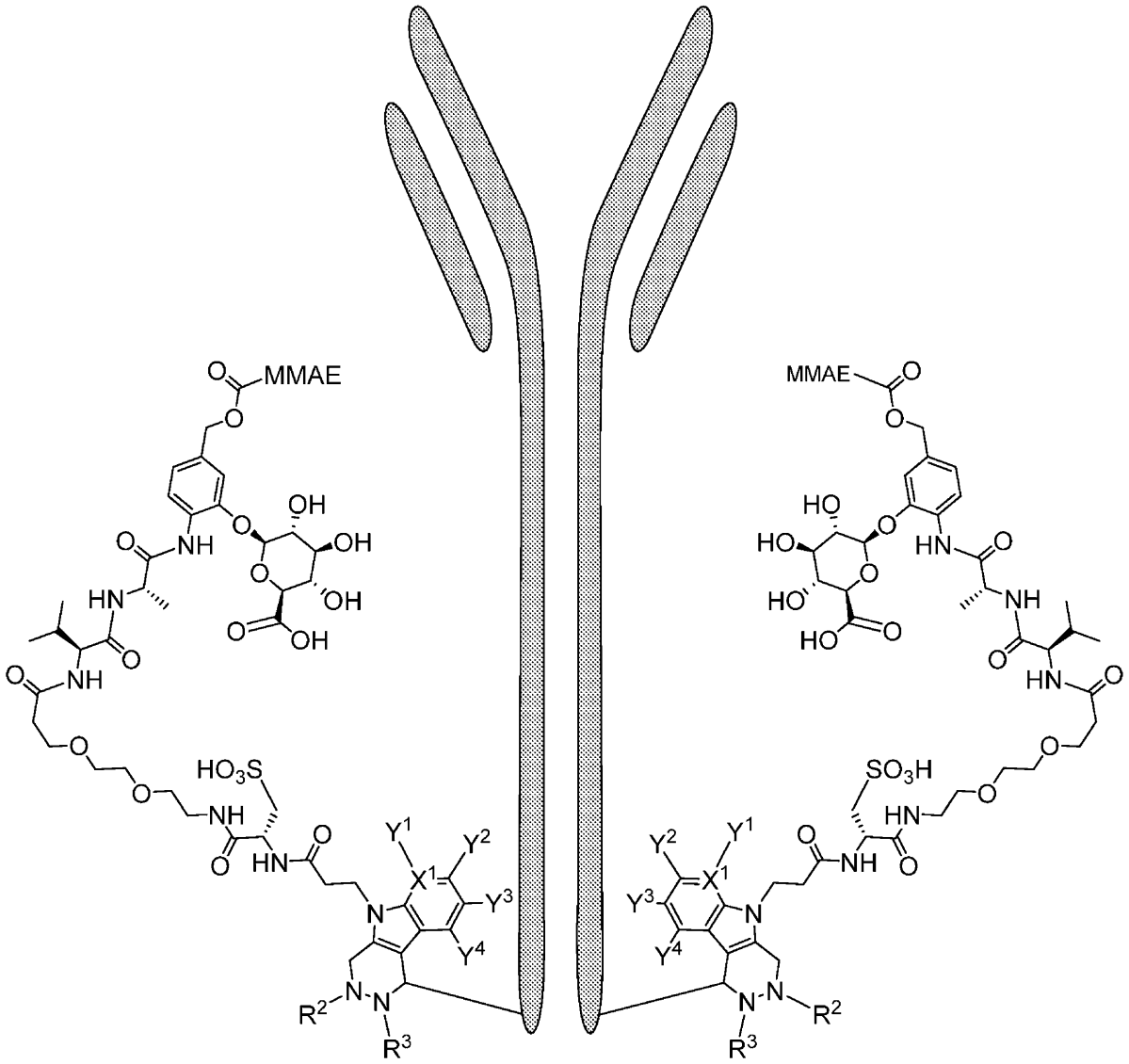
【０４７４】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４抗体は、重鎖の定常領域内に認識モチーフ、例えば、Ｌ（Ｃ／Ｓ）ＴＰＳＲ（配列番号１０３）認識モチーフ（例えば、配列番号９０、９４、９８）を有する。Ｌ（Ｃ／Ｓ）ＴＰＳＲ（配列番号１０３）認識モチーフのシステイン残基を、ホルミルグリシン（ｆＧｌｙ）に変換し、その後、リンカー（Ｌ－７）を介してピクテ・スペングラー反応を通じてＭＭＡＥにコンジュゲートされたアザＨＩＰＳ部分にコンジュゲートすることができる。

【０４７５】

一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、ピリダジン－ピロロカップリング部分を介して５Ｔ４抗体にコンジュゲートされたリンカー－薬物を含み、リンカー－薬物は以下のスキームＦに示されるように、リンカー（Ｌ－８）を介してピリダジン－ピロロカップリング部分にコンジュゲートされたＭＭＡＥを含む。

【化１１８】



－スキームＦ－

【０４７６】

いくつかの実施形態では、５Ｔ４に結合する抗体は、重鎖の定常領域内に認識モチーフ、例えば、Ｌ（Ｃ／Ｓ）ＴＰＳＲ（配列番号１０３）認識モチーフ（例えば、配列番号９０、９４、９８）を有する。Ｌ（Ｃ／Ｓ）ＴＰＳＲ（配列番号１０３）認識モチーフのシステイン残基を、ホルミルグリシン（ｆＧｌｙ）に変換し、その後、リンカー（Ｌ－８）を介してピクテ・スペングラー反応を通じてＭＭＡＥにコンジュゲートされたアザＨＩＰＳ部分にコンジュゲートすることができる。

【０４７７】

製剤及び組成物

５Ｔ４－ＡＤＣは、例えば、疾患、障害、または病態を治療するために対象に投与するための医薬組成物に含まれてもよい。医薬組成物は、平均して約１～約２の薬物対抗体比（「ＤＡＲ」）を示し得る５Ｔ４－ＡＤＣを含み得る。換言すれば、各抗体は、１つまたは２つのリンカー－薬物コンジュゲートにコンジュゲートされる。ＤＡＲを決定する方法は当業者には周知であり、逆相クロマトグラフィー、つまりＨＰＬＣ－ＭＳを使用する方法が含まれる。

【０４７８】
例えば、任意の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣを含む医薬組成物は、約１～約１．９、または約１～約１．８、約１～約１．７、約１．５～約１．９、約１．５～約１．８、約１．５～約１．７、約１．７～約１．９、約１．７～約１．８、または約１．８～約１．９のＤＡＲを呈し得る。一部の実施形態では、医薬組成物は、表１～３のいずれか１つ等の本明細書に記載されるｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、及びｍＡｂＡ１７を含めた、本明細書に記載される５Ｔ４に結合する抗体を含む５Ｔ４－ＡＤＣ、ならびに薬学的に許容される賦形剤を含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、式（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＶＩ）の５Ｔ４－ＡＤＣを含み、Ｌは、リンカー（Ｌ－１）、（Ｌ－２）、（Ｌ－３）、（Ｌ－４）、（Ｌ－５）、（Ｌ－６）、（Ｌ－７）、及び（Ｌ－８）から選択される。一部の実施形態では、医薬組成物は、ＭＭＡＥ、ＭＭＡＦ、マイタンシン、またはそれらの任意の誘導体を含む５Ｔ４－ＡＤＣを含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、式（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、または（ＶＩｂ－１）の５Ｔ４－ＡＤＣ及び薬学的に許容される賦形剤を含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、式（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、または（ＶＩｂ－２）の５Ｔ４－ＡＤＣ及び薬学的に許容される賦形剤を含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、式（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、もしくは（ＶＩｂ－８）の５Ｔ４－ＡＤＣ、及び薬学的に許容される賦形剤を含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、式（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩａ－１１）または（ＶＩｂ－１２）の５Ｔ４－ＡＤＣ及び薬学的に許容される賦形剤を含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、式（ＶＩ－２１）または（ＶＩａ－２１）の５Ｔ４－ＡＤＣ及び薬学的に許容される賦形剤を含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、式（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）、または（ＶＩｂ－８２）の５Ｔ４－ＡＤＣ及び薬学的に許容される賦形剤を含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、ｍＡｂＡ４－ＶＩａ－２１の５Ｔ４－ＡＤＣ（すなわち、抗体ｍＡｂＡ４にコンジュゲートされた式ＶＩａ－２１のリンカー－薬物）、ｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－２１（すなわち、抗体ｍＡｂＡ１５にコンジュゲートされた式ＶＩａ－２１のリンカー－薬物）、ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２（すなわち、抗体ｍＡｂＡ１５にコンジュゲートされた式ＶＩｂ－８２のリンカー－薬物）、またはｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２（すなわち、抗体ｍＡｂＡ１７にコンジュゲートされた式ＶＩｂ－８２のリンカー－薬物抗体）及び薬学的に許容される賦形剤を含む。

【０４７９】
５Ｔ４－ＡＤＣは、様々な異なる方法のうちのいずれかで製剤化され得る。本開示の５Ｔ４－ＡＤＣは、任意の好適な形態で、例えば、薬学的に許容される塩の形態で提供され得、任意の好適な投与経路、例えば、経口、局所、または非経口投与のために製剤化され得る。５Ｔ４－ＡＤＣが液体注射剤として提供される場合（それらが静脈内にまたは組織に直接投与され得る実施形態等において）、５Ｔ４－ＡＤＣは、すぐに使用できる剤形として、または再構成用の貯蔵安定性粉末または薬学的に許容される賦形剤及び賦形剤から構成される液体として提供可能である。

【０４８０】
５Ｔ４－ＡＤＣを製剤化するための方法は、当該技術分野で利用可能なものから適合することができる。例えば、５Ｔ４－ＡＤＣは、有効量の５Ｔ４－ＡＤＣ及び薬学的に許容される賦形剤（例えば、生理食塩水）を含む医薬組成物として提供され得る。医薬組成物は、任意選択で、他の添加剤（例えば、緩衝剤、安定剤、防腐剤など）を含み得る。いくつかの実施形態では、製剤は、ヒトへの投与に好適であるものなど、哺乳動物への投与に好適である。

【０４８１】
有効量の本明細書に記載の５Ｔ４－ＡＤＣ、及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物も本明細書に提供される。一部の実施形態では、５Ｔ４－ＡＤＣは、表１～３のう

ちのいずれか１つに記載されるｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、及びｍＡｂＡ１７を含めた、本明細書に記載される５Ｔ４に結合する抗体を含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、有効量の式（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＶＩ）の５Ｔ４－ＡＤＣを含み、Ｌは、リンカー（Ｌ－１）、（Ｌ－２）、（Ｌ－３）、（Ｌ－４）、（Ｌ－５）、（Ｌ－６）、（Ｌ－７）、及び（Ｌ－８）から選択される。一部の実施形態では、医薬組成物は、ＭＭＡＥ、ＭＭＡＦ、マイタンシン、またはそれらの任意の誘導体を含む有効量の５Ｔ４－ＡＤＣを含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、有効量の式（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、または（ＶＩｂ－１）の５Ｔ４－ＡＤＣ及び薬学的に許容される賦形剤を含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、有効量の式（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、または（ＶＩｂ－２）の５Ｔ４－ＡＤＣ及び薬学的に許容される賦形剤を含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、有効量の式（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、もしくは（ＶＩｂ－８）の５Ｔ４－ＡＤＣ及び薬学的に許容される賦形剤を含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、有効量の式（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩａ－１１）または（ＶＩｂ－１２）の５Ｔ４－ＡＤＣ及び薬学的に許容される賦形剤を含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、有効量の式（ＶＩ－２１）または（ＶＩａ－２１）の５Ｔ４－ＡＤＣ及び薬学的に許容される賦形剤を含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、有効量の式（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）、または（ＶＩｂ－８２）の５Ｔ４－ＡＤＣ及び薬学的に許容される賦形剤を含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、有効量のｍＡｂＡ４－ＶＩａ－２１、ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－２１、ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２、またはｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣ、及び薬学的に許容される賦形剤を含む。

【０４８２】

薬学的に許容される賦形剤は、１つ以上の適合性のある固体または液体充填剤、希釈剤、他の賦形剤、またはヒトまたは獣医学的な対象への投与に適したカプセル化物質（例えば、生理学的に許容される及び／または薬理学的に許容される）であり得る。薬学的に許容される賦形剤は、複数の薬学的に許容される賦形剤が医薬組成物中に存在する場合、有効成分のうちの１つ以上、例えばハイブリッド分子と、及び相互に混合され得、所望の薬学的有効性を実質的に損なわないように相互に混合され得る。薬学的に許容される材料は、通常、悪心、めまい、発疹、または胃痛などの重大な望ましくない生理学的影響を生じさせることなく対象に投与することができる。例えば、薬学的に許容される賦形剤を含む組成物が、治療目的でヒト対象に投与されたときに免疫原性でないことが望ましい。

【０４８３】

本発明の医薬組成物は、さらに、例えば、酢酸塩、クエン酸塩、ホウ酸塩、及びリン酸塩を含む適切な緩衝剤を含有することができる。医薬組成物はまた、任意選択で、塩化ベンザルコニウム、クロロブタノール、パラベン、及びチメロサールなどの適切な保存剤を含有し得る。本発明の医薬組成物は、単位剤形で提供することができ、任意の適切な方法によって調製することができ、その多くは薬学分野でよく知られている。かかる方法は、本発明の抗体または抗体結合断片を、１つ以上の副成分を構成する賦形剤と会合させるステップを含む。概して、製剤は、活性剤を、液体賦形剤、微細に分割された固体賦形剤、または両方と均一かつ密接に会合させること、次いで、必要に応じて、生成物を成形することとによって調製される。

【０４８４】

非経口投与に好適な組成物は、好都合には、組成物の無菌水性調製物を含み、これは好ましくはレシピエントの血液と等張である。この水性調製物は、適切な分散剤または湿潤剤及び懸濁剤を使用して、既知の方法の製剤化することができる。無菌注射可能な調製物はまた、非毒性の非経口的に許容される希釈剤または溶媒中、例えば、１，３－ブタンジオール中の溶液として、無菌注射可能な溶液または懸濁液であり得る。利用され得る許容されるビヒクル及び溶媒の中には、水、リンゲル液、及び等張塩化ナトリウム溶液がある

。更に、無菌の固定油が、溶媒または懸濁培地として従来より用いられる。この目的のために、合成モノ‐またはジ‐グリセリドのような、任意のブランド固定油が用いられ得る。加えて、オレイン酸などの脂肪酸が、注射剤の調製において使用され得る。経口、皮下、静脈内、筋肉内などの投与に適した賦形剤製剤は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，ＰＡ．に見出すことができる。

【０４８５】

本発明の医薬組成物の調製及びそれらの様々な投与経路は、当該技術分野で周知の方法に従って実施することができる。本発明の文脈において有用な送達システムには、徐放性、遅延放出、及び持続放出送達システムが含まれ、これにより、組成物の送達は、治療される部位の増感化より前に、かつそれを引き起こすのに十分な時間が経過して行われる。組成物は、他の治療薬または療法と組み合わせて使用することができる。そのようなシステムは、組成物の反復投与を回避し、それによって対象及び医師の利便性を高めることができ、本発明のいくつかの組成物に特に好適であり得る。

【０４８６】

多くのタイプの放出送達システムが利用可能であり、当業者に公知である。適切な放出送達システムには、ポリ（ラクチド－グリコリド）、コポリシュウ酸塩、ポリカプロラクトン、ポリエステルアミド、ポリオルトエステル、ポリヒドロキシ酪酸、及びポリ無水物などのポリマー塩基系が含まれる。薬物を含有する前述のポリマーのマイクロカプセルが、例えば、米国特許第５，０７５，１０９号に記載されている。送達系にはまた、コレステロール、コレステロールエステルなどのステロール、ならびにモノジグリセリド及びトリグリセリドなどの脂肪酸または中性脂肪、ヒドロゲル放出システム、サイロティックシステム、ペプチドベースの系、ワックスコーティング、従来の結合剤及び賦形剤を使用した圧縮錠剤、部分的に融合したインプラントなど、脂質である非ポリマー系も含まれる。具体的な例としては、限定されるものではないが、（ａ）活性組成物がマトリックス内の形態で含有される浸食システム、例えば、米国特許４，４５２，７７５、４，６６７，０１４、４，７４８，０３４、及び５，２３９，６６０に記載されるもの、ならびに（ｂ）有効成分が、米国特許第３，８３２，２５３号及び同第３，８５４，４８０号に記載されているようなポリマーから制御された速度で透過する医薬組成物、が挙げられる。さらに、ポンプベースのハードウェア送達システムを使用することができ、これらのいくつかはインプラントに適合している。

【０４８７】

一般に、５Ｔ４－ＡＤＣまたは医薬組成物は、例えば、治療方法に適切なバイアル、パウチ、アンプル、及び／または任意の容器に適切に包装される。成分は、使用前にさらに希釈することができる濃縮物（凍結乾燥組成物を含む）として提供することもできれば、使用濃度で提供することもできる。インビボでの５Ｔ４－ＡＤＣの使用のために、所望の量及び濃度の成分を有する滅菌容器に単回用量を提供することができる。

【０４８８】

治療方法

５Ｔ４媒介性疾患、障害、または病態の１つまたは複数の症状を含む、５Ｔ４媒介性疾患、障害、または病態を、５Ｔ４、例えば、ヒト５Ｔ４に結合する抗体を含む５Ｔ４－ＡＤＣ及びそれに直接的または間接的にコンジュゲートされた薬物で治療する、防ぐ、または緩和する方法も本明細書に提供される。同様に本明細書では、ヒト５Ｔ４等の５Ｔ４に結合する抗体、及びそれに直接または間接的にコンジュゲートされた薬物を含む５Ｔ４－ＡＤＣで腫瘍細胞を殺傷する方法も提供される。

【０４８９】

５Ｔ４に結合する抗体は、表１～３のいずれか１つに記載するｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、及びｍＡｂＡ１７などの本明細書に記載するものを含み得る。一部の実施形態では、腫瘍細胞を殺傷する方法は、腫瘍細胞を、式（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＶＩ）の５Ｔ４－ＡＤＣと接触させることを含み、式中、Ｌは、リンカー（Ｌ－１）、（Ｌ－２）、（Ｌ

－３）、（Ｌ－４）、（Ｌ－５）、（Ｌ－６）、（Ｌ－７）、または（Ｌ－８）である。一部の実施形態では、腫瘍細胞を殺傷する方法は、腫瘍細胞を、ＭＭＡＥ、ＭＭＡＦ、マイタンシン、またはそれらの任意の誘導体を含む５Ｔ４－ＡＤＣと接触させることを含む。一部の実施形態では、腫瘍細胞を殺傷する方法は、腫瘍細胞を、式（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、または（ＶＩｂ－１）の５Ｔ４－ＡＤＣと接触させることを含む。一部の実施形態では、腫瘍細胞を殺傷する方法は、腫瘍細胞を、式（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、または（ＶＩｂ－２）の５Ｔ４－ＡＤＣと接触させることを含む。一部の実施形態では、腫瘍細胞を殺傷する方法は、腫瘍細胞を、式（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）または（ＶＩｂ－８）の５Ｔ４－ＡＤＣと接触させることを含む。一部の実施形態では、腫瘍細胞を殺傷する方法は、腫瘍細胞を、式（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩａ－１１）、または（ＶＩｂ－１２）の５Ｔ４－ＡＤＣ、及び薬学的に許容される賦形剤と接触させることを含む。一部の実施形態では、腫瘍細胞を殺傷する方法は、腫瘍細胞を、式（ＶＩ－２１）または（ＶＩａ－２１）の５Ｔ４－ＡＤＣと接触させることを含む。一部の実施形態では、腫瘍細胞を殺傷する方法は、腫瘍細胞を、式（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）、または（ＶＩｂ－８２）の５Ｔ４－ＡＤＣと接触させることを含む。一部の実施形態では、腫瘍細胞を殺傷する方法は、腫瘍細胞を、ｍＡｂＡ４－ＶＩａ－２１、ｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－２１、ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２、またはｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣと接触させることを含む。いくつかの実施形態では、接触は、インビボまたはインビトロである。

【０４９０】

任意の実施形態では、腫瘍細胞を５Ｔ４－ＡＤＣと接触させる方法は、腫瘍細胞を、５Ｔ４－ＡＤＣ及び１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤を含む組成物と接触させることを含み得る。一部の実施形態では、組成物中の５Ｔ４－ＡＤＣは、約１～約１０、約１～約４、約１～約２、約１．５～約２、または約１．７５～約１．９のＤＡＲによって特徴付けられ得る。

【０４９１】

がんの治療を必要とする対象におけるその治療方法も本明細書に提供され、本明細書に記載されているように、対象に対して、有効量の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含み、本明細書に記載されているように、５Ｔ４－ＡＤＣは、５Ｔ４に結合する抗体及びリンカーを介してそれにコンジュゲートされた薬物を含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４に結合する抗体は、表１～３のいずれか１つなど、本明細書に記載されるｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、またはｍＡｂＡ１７である。

【０４９２】

一部の実施形態では、がんの治療方法は、対象に、有効量の式（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＶＩ）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含み、式中、Ｌは、（Ｌ－１）、（Ｌ－２）、（Ｌ－３）、（Ｌ－４）、（Ｌ－５）、（Ｌ－６）、（Ｌ－７）、または（Ｌ－８）である。一部の実施形態では、がんの治療を必要とする対象において行う方法は、対象に対して、ＭＭＡＥ、ＭＭＡＦ、マイタンシン、またはそれらの任意の誘導体を含む、本明細書に記載される５Ｔ４－ＡＤＣの有効量を投与することを含む。一部の実施形態では、がんの治療を必要とする対象において行う方法は、対象に、有効量の式（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、または（ＶＩｂ－１）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、がんの治療を必要とする対象において行う方法は、対象に、有効量の式（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、または（ＶＩｂ－２）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、がんの治療を必要とする対象においてそれを行う方法は、対象に、有効量の式（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、または（ＶＩｂ－８）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含

む。一部の実施形態では、それを必要とする対象にがんの治療をする方法は、対象に、有効量の式（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩａ－１１）、または（ＶＩｂ－１２）の５Ｔ４－ＡＤＣと、薬学的に許容される賦形剤とを投与することを含む。一部の実施形態では、それを必要とする対象にがんの治療をする方法は、対象に、有効量の式（ＶＩ－２１）または（ＶＩａ－２１）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、がんの治療を必要とする対象において行う方法は、対象に、有効量の式（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）または（ＶＩｂ－８２）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、がんの治療を必要とする対象においてそれを行う方法は、対象に、ｍＡｂＡ４－ＶＩａ－２１、ｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－２１、ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２、またはｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。

【０４９３】

任意の実施形態では、がんの治療を必要とする対象においてそれを行う方法は、対象に、５Ｔ４－ＡＤＣ及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を投与することを含み得る。一部の実施形態では、医薬組成物中の５Ｔ４－ＡＤＣは、約１～約１０、約１～約４、約１～約２、約１．５～約２、または約１．７５～約１．９のＤＡＲによって特徴付けられ得る。

【０４９４】

一部の実施形態では、がんの治療を必要とする対象におけるその治療方法は、がん細胞、例えば対象における腫瘍細胞、の除去を増強するのに有効である。

【０４９５】

がん細胞または腫瘍細胞の除去を「増強させる」ことは、除去を１００％増強することを必要としない。除去の割合の何らかの向上が企図される。同様に、腫瘍増殖を「調節する」とは、腫瘍サイズを縮小すること、腫瘍増殖を減速させること、または既存の腫瘍のサイズの増加を阻害することを指す。腫瘍を完全に排除する必要はない。腫瘍サイズの任意の減少または腫瘍増殖の減速は、対象における有益な生物学的効果を構成する。この点で、腫瘍細胞の除去は、本方法を用いない場合（例えば、本方法の薬剤に曝露されていない生物学的にマッチする対照である対象または標本）において観察される除去の程度に比べて、例えば、少なくとも約５％、少なくとも約１０％、または少なくとも約２０％増強することができる。この効果は、例えば、腫瘍サイズの縮小、腫瘍マーカーのレベルの低下もしくは維持、または腫瘍細胞集団の低減もしくは維持によって検出される。いくつかの実施形態では、腫瘍細胞の除去は、５Ｔ４結合剤（例えば、抗体）の非存在下での腫瘍細胞の除去と比較して、例えば、少なくとも約３０％、少なくとも約４０％、少なくとも約５０％、少なくとも約６０％、少なくとも約７０％、少なくとも約８０％、少なくとも約９０％、またはそれ以上（約１００％）増強される。

【０４９６】

本開示はまた、それを必要とする対象において、腫瘍増殖を調節（例えば、阻害、低減、予防）する方法を提供し、方法は、本明細書に記載されるように、対象に対して、５Ｔ４に結合する抗体及びそれにリンカーを介して連結された薬物を含む５Ｔ４－ＡＤＣを、対象における腫瘍増殖を調節するのに有効な量で投与することを含む。一部の実施形態では、それを必要とする対象において、腫瘍増殖を調節する方法は、本明細書に記載されるような、５Ｔ４に結合する抗体を含む有効量の５Ｔ４－ＡＤＣ及びリンカーを介してそれにコンジュゲートされた薬物を投与することを含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４に結合する抗体は、表１～３のいずれか１つに記載されるｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、またはｍＡｂＡ１７である。一部の実施形態では、それを必要とする対象において、腫瘍増殖を調節する方法は、対象に、有効量の式（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＶＩ）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含み、式中、Ｌは、（Ｌ－１）、（Ｌ－２）、（Ｌ－３）、（Ｌ－４）、（Ｌ－５）、（Ｌ－６）、（Ｌ－７）、または（Ｌ－８）である。一部の実施形態では、それを必要とする対象において、腫瘍増殖を調節する方法は、対象に対して、ＭＭＡＥ、ＭＭＡＦ、マイタンシン、またはそれらの任意の誘導体を含む、有効量の５Ｔ４－

ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、それを必要とする対象において、腫瘍増殖を調節する方法は、対象に、有効量の式（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、または（ＶＩｂ－１）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、それを必要とする対象において、腫瘍増殖を調節する方法は、対象に、有効量の式（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、または（ＶＩｂ－２）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、それを必要とする対象において、腫瘍増殖を調節する方法は、対象に、有効量の式（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、または（ＶＩｂ－８）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、それを必要とする対象において、腫瘍増殖を調節する方法は、対象に、有効量の式（Ｖ－１１）、（ＶＩ－１２）、（ＶＩａ－１１）または（ＶＩｂ－１２）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、それを必要とする対象において、腫瘍増殖を調節する方法は、対象に、有効量の式（ＶＩ－２１）または（ＶＩａ－２１）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、それを必要とする対象において、腫瘍増殖を調節する方法は、対象に、有効量の式（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）または（ＶＩｂ－８２）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、それを必要とする対象において、腫瘍増殖を調節する方法は、対象に、有効量のｍＡｂＡ４－ＶＩａ－２１、ｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－２１、ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２、またはｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。

【０４９７】

任意の実施形態では、それを必要とする対象において、腫瘍増殖を調節する方法は、対象に、５Ｔ４－ＡＤＣ及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を投与することを含み得る。一部の実施形態では、医薬組成物中の５Ｔ４－ＡＤＣは、約１～約１０、約１～約４、約１～約２、約１．５～約２、または約１．７５～約１．９のＤＡＲによって特徴付けられ得る。

【０４９８】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法で治療及び／または殺傷され得る、本明細書に記載のがん及び腫瘍細胞は、例えば、がんまたは腫瘍細胞の表面で５Ｔ４を発現する。いくつかの実施形態では、腫瘍細胞またはがん細胞は、５Ｔ４を過剰発現し得る。本明細書で使用される場合、「過剰発現」という用語は、（正常細胞などにおいて）通常よりも多くの遺伝産物を転写及び翻訳することを意味し、そのプロセスは、多くの場合、がん細胞の特性である。

【０４９９】

本明細書に記載される５Ｔ４－ＡＤＣで治療され得るがんの例としては、これらに限定されるものではないが、乳癌、結腸癌、腎癌、肺癌、扁平上皮性骨髄性白血病、血管腫、黒色腫、星細胞腫、及び神経膠芽腫、ならびに、これらに限定されるものではない、他の細胞増殖性疾患状態が含まれる：心臓の増殖性疾患、例えば肉腫（血管肉腫、繊維肉腫、横紋筋肉腫、脂肪肉腫）、粘液腫、横紋筋腫、線維腫、脂肪腫、及び奇形腫；肺のがん、例えば、気管支原性癌（例えば、扁平上皮癌、未分化小細胞癌、未分化大細胞癌、腺癌）、肺胞（例えば、気管支）癌、気管支腺腫、肉腫、リンパ腫、軟骨性ハンナー腫、中皮腫；消化器系のがん、例えば食道癌（扁平上皮癌、腺癌、平滑筋肉腫、リンパ腫）；胃のがん（例えば、癌腫、リンパ腫、平滑筋肉腫）、膵臓のがん（例えば、乳管腺癌、インシュリノルナ、グルカゴ腫、ガストリ腫、カルチノイド腫瘍、ビポーマ）、小腸のがん、（例えば、腺癌、リンパ腫、カルチノイド腫瘍、カポジ肉腫、平滑筋腫、血管腫、脂肪腫、神経線維腫、線維腫）；大腸のがん（例えば、腺癌、尿細管状腺腫、絨毛性腺腫、過誤腫、平滑筋腫）；腎臓などの尿生殖器管のがん（例えば、腺癌、ウィルムス腫瘍（例えば、腎芽細胞腫）リンパ腫、白血病、腎細胞癌）；膀胱及び尿道のがん（例えば、扁平上皮癌、移行細胞癌、腺癌）；前立腺のがん（例えば、前立腺の腺癌、肉腫、小細胞癌）；精巣のがん（例えば、精上皮腫、奇形腫、胚芽腫、奇形癌、絨毛腫、肉腫、間質細胞癌、線維腫

、線維腺腫、腺腫様腫瘍、脂肪腫）；肝臓のがん、肝癌（例えば、肝細胞癌）、胆管癌、肝芽腫、血管肉腫、肝細胞腺腫、血管腫；骨の増殖性疾患、例えば、骨形成肉腫（例えば、骨肉腫）、線維肉腫、悪性線維性組織細胞腫、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、悪性リンパ腫（例えば、細網細胞肉腫）、悪性巨細胞腫瘍脊髄腫、骨髄性外骨格筋（例えば、骨軟骨性外骨）、良性軟骨腫、軟骨芽細胞腫、軟骨粘線維腫、骨髄腫、及び巨細胞腫瘍；神経系、例えば、頭蓋骨のがん（例えば、骨腫、血管腫、肉芽腫、黄色腫、骨髄炎）、髄膜のがん（例えば、髄膜腫、髄膜肉腫、神経膠腫症）、脳のがん（例えば、星細胞腫、髄芽腫、神経膠腫、上衣腫、生殖細胞腫（例えば、松果体腫）、多形膠芽腫、乏突起細胞神経膠腫、神経鞘腫、網膜芽細胞腫、先天性腫瘍）、脊髄神経線維腫、髄膜腫、神経膠腫、肉腫）；婦人科、例えば子宮のがん（例えば、子宮内膜癌）、子宮頸部（例えば、子宮頸癌、前腫瘍子宮頸部異形成）、卵巣のがん（例えば、卵巣癌）、漿液性嚢胞腺癌、粘液性嚢胞腺癌、未分類癌腫、顆粒腫細胞腫瘍、セルトリ・ライディグ細胞腫瘍、生殖細胞腫、悪性奇形腫）、外陰部のがん（例えば、扁平上皮癌、上皮内癌、腺癌、線維肉腫、黒色腫）、膣のがん（例えば、明細胞癌、扁平上皮癌、延在性肉腫（胚性横紋筋肉腫））、卵管のがん（例えば、癌腫）；血液のがん（例えば、骨髄性白血病（急性及び慢性）、急性リンパ芽球性白血病、慢性リンパ球性白血病、骨髄増殖性疾患、多発性骨髄腫、骨髄異形成症候群）、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫（例えば、悪性リンパ腫）；皮膚のがん、例えば悪性黒色腫、基底細胞癌、扁平上皮癌、カポジ肉腫、ほ符号異形成母斑、脂肪腫、血管腫、皮膚線維腫、ケロイド、乾癬；神経芽細胞腫などの副腎のがん、及び甲状腺髄様癌を含む甲状腺のがんが含まれる。一部の実施形態では、腫瘍またはがんは、再発性腫瘍またはがんである。一部の実施形態では、腫瘍またはがんは、転移性腫瘍またはがんである。いくつかの実施形態では、腫瘍またはがんは、原発性腫瘍またはがんである。さらに、またはあるいは、腫瘍またはがんは、化学療法または他の非５Ｔ４標的抗がん療法に対して抵抗性である。

【０５００】

さらに、５Ｔ４に結合する抗体を含む５Ｔ４－ＡＤＣは、例えば、骨の劣化、脊椎の虚脱、及び麻痺等のがんに関連する副作用を緩和または低減するために使用することができる。一実施形態では、対象は、骨転移を患っているか、または骨転移に罹患するリスクがあり、５Ｔ４に結合する抗体を含む５Ｔ４－ＡＤＣが、周囲の骨の劣化を低減する量で投与される。したがって、一部の実施形態では、５Ｔ４に結合する抗体を含む５Ｔ４－ＡＤＣは、骨転移による骨の劣化を予防し、腫瘍細胞増殖が低減するか、または低減しない。いくつかの実施形態では、５Ｔ４結合剤（例えば、抗体またはＡＤＣ）、５Ｔ４に結合する抗体を含む５Ｔ４－ＡＤＣは、骨転移による骨の変質を防止するとともに、腫瘍細胞増殖を低減させる。一般に、腫瘍細胞増殖に対する効果（例えば、増殖の阻害または増殖への影響なし）は、特定の転移の微小環境に依存する。例えば、実質的な量の１型コラーゲンを有する微小環境に位置する転移の増殖は阻害することができる。対照的に、実質的な量の１型コラーゲンを欠く微小環境に位置する転移の増殖は阻害することができないが、転移近傍の骨の劣化は軽減または防止される。

【０５０１】

したがって、本開示はまた、がんに関連する副作用を緩和または低減する方法も提供し、方法は、有効量の５Ｔ４－ＡＤＣを、それを必要とする対象に投与することを含む。一部の実施形態では、がんに関連する副作用を緩和または低減する方法は、本明細書に記載されるような５Ｔ４に結合する抗体及びそれにリンカーを介してコンジュゲートされた薬物を含む有効量の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。いくつかの実施形態では、５Ｔ４に結合する抗体は、表１～３のいずれか１つなど、本明細書に記載されるｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、またはｍＡｂＡ１７である。一部の実施形態では、がんに関連する副作用を緩和または低減する方法は、有効量の式（ＩＶ）、（Ｖ）、または（ＶＩ）の５Ｔ４－ＡＤＣを対象に投与することを含み、式中、Ｌは、（Ｌ－１）、（Ｌ－２）、（Ｌ－３）、（Ｌ－４）、（Ｌ－５）、（Ｌ－６）、（Ｌ－７）、または（Ｌ－８）である。一部の実施形態では、がんに関連する副作用を緩和または低減する方法は、ＭＭＡＥ、ＭＭＡＦ

、マイタンシン、またはそれらの任意の誘導体を含む有効量の５Ｔ４－ＡＤＣを対象に投与することを含む。一部の実施形態では、がんに関連する副作用を緩和または低減する方法は、対象に、有効量の式（ＶＩ－１）、（ＶＩａ－１）、または（ＶＩｂ－１）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、がんに関連する副作用を緩和または低減する方法は、対象に、有効量の式（ＶＩ－２）、（ＶＩａ－２）、または（ＶＩｂ－２）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、がんに関連する副作用を緩和または低減する方法は、対象に、有効量の式（Ｖ－３）、（ＶＩ－３）、（Ｖ－４）、（ＶＩ－４）、（Ｖ－５）、（ＶＩ－５）、（Ｖ－６）、（ＶＩ－６）、（Ｖ－７）、（ＶＩ－７）、（Ｖ－８）、（ＶＩ－８）、（ＶＩａ－８）、または（ＶＩｂ－８）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、がんに関連する副作用を緩和または低減する方法は、対象に、有効量の式（ＶＩ－１１）、（ＶＩ－１２）、（Ｖ－ａ－１１）または（ＶＩｂ－１２）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、がんに関連する副作用を緩和または低減する方法は、対象に、有効量の式（ＶＩ－２１）及び（ＶＩａ－２１）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、がんに関連する副作用を緩和または低減する方法は、対象に、有効量の式（ＶＩ－５２）、（ＶＩ－６２）、（ＶＩ－８１）、（ＶＩｂ－８１）、（ＶＩｂ－５２）、（ＶＩｂ－６２）、（ＶＩｂ－７２）、または（ＶＩｂ－８２）の５Ｔ４－ＡＤＣを投与することを含む。一部の実施形態では、がんに関連する副作用を緩和または低減する方法は、有効量のｍＡｂＡ４－ＶＩａ－２１、ｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－２１、ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２、またはｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２の５Ｔ４－ＡＤＣを対象に投与することを含む。

【０５０２】

任意の実施形態では、がんに関連する副作用の緩和または低減方法は、対象において、対象に、本明細書に開示される５Ｔ４－ＡＤＣ及び１つ以上の薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を投与することを含み得る。一部の実施形態では、医薬組成物中の５Ｔ４－ＡＤＣは、約１～約１０、約１～約４、約１～約２、約１．５～約２、または約１．７５～約１．９のＤＡＲによって特徴付けられ得る。

【０５０３】

本発明のさまざまな実施形態の活性に実質的に影響を及ぼさない修飾はまた、本明細書で提供される本発明の定義内で提供されることが理解される。したがって、以下の実施例は、本発明を例示することを意図しているが、本発明を限定するものではない。

【実施例】

【０５０４】

実施例１．抗体生成

ヒト５Ｔ４に対するバインダーを得るために、抗体発見をファージディスプレイによって行った。

【０５０５】

ヒト５Ｔ４に対するバインダーを得るために、抗体発見を、ヒトＦａｂライブラリのファージディスプレイによって行い、標準的なプロトコルを使用して行った。ヒト５Ｔ４の細胞外ドメインは、Ａｃｒｏ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ（ビオチン化ヒト５Ｔ４　Ｈｉｓ－ＡＶＩＴＡＧ（商標）Ａｃｒｏカタログ番号ＴＰＧ－Ｈ８３Ｅｂ）から購入するか、または作製した。産生された抗原は、ヒト５Ｔ４、カニクイザル５Ｔ４、及びマウス５Ｔ４からなり、すべてＣ末端６－ｈｉｓ－Ａｖｉタグを含むベクターにクローニングされ、可能であれば標準的な手順を使用して、共発現したビオチンリガーゼ酵素を使用してインビトロでビオチン化された。

【０５０６】

ファージクローンを、ビオチン化ヒト５Ｔ４に結合する能力についてスクリーニングした。簡潔に述べると、ファージ（ファージミドとも呼ばれる）での複製及び発現が可能な発現ベクターを使用して、Ｆａｂ形式のファージライブラリを構築した。重鎖と軽鎖との両方を同じ発現ベクター内でコードし、そこで重鎖をファージコートタンパク質ｐＩＩＩ

のトランケート型バリアントに融合した。軽鎖及び重鎖－ｐＩＩＩ融合物を別個のポリペプチドとして発現させ、細菌ペリプラズムでアセンブルし、そこでレドックスポテンシャルによりジスルフィド結合形成が可能となり、候補抗体の抗原結合ドメイン（Ｆａｂ）が形成される。

【０５０７】

このライブラリは、特定のヒト重鎖可変ドメイン及び特定のヒト軽鎖可変ドメインに由来する配列を使用して作製された。スクリーニングしたライブラリ内の軽鎖可変ドメインを、ＶＬ　ＣＤＲ３（Ｌ３）に導入した多様性を用いて生成し、軽鎖ＶＬ　ＣＤＲ１（Ｌ１）及びＣＤＲ２（Ｌ２）は、ヒト生殖系列配列を維持した。スクリーニングしたライブラリについて、ＶＨ領域の３つ全てのＣＤＲを多様化し、ヒト抗体レパートリーに見出されたＣＤＲ長による位置的アミノ酸周波数を一致させた。

【０５０８】

ライブラリで使用されたファージディスプレイ重鎖（配列番号７２）及び軽鎖（配列番号７３）足場を以下に列挙し、ここで、「ｘ」は、ライブラリを作成するために変化させたＣＤＲアミノ酸を表し、太字の斜体は定常的であったＣＤＲ配列を表す。

【０５０９】

配列番号７２の配列は、

ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＸＸＸＸＸＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＸＸＸＸＸＸＸＸＸＸＸＸＸＸＸＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＸＸＸＸＸＸＸＸＸＸＸＸＸＸＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣであった。

【０５１０】

配列番号７３の配列は、

【化１１９】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC***RASQSVSSAVA***WYQQKPGKAPKLLIY***SASSLYS***
GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**XXXXXXXXX**FGQGTKVEIKRTVAAP
SVFIFPPSDSQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

であった。

【０５１１】

多様性は、縮重ＤＮＡオリゴヌクレオチドプライマーを使用して、ＶＬ　ＣＤＲ３（Ｌ３）及びＶＨ　ＣＤＲ１（Ｈ１）、ＣＤＲ２（Ｈ２）及びＣＤＲ３（Ｈ３）に多様性を導入し、自然抗体レパートリーに見られる多様性を模倣するように、参照によりその全体が本明細書に援用されるＫｕｎｋｅｌ，ＴＡ（ＰＮＡＳ　Ｊａｎｕａｒｙ１，１９８５．８２（２）４８８－４９２）により詳細に記載されるように、変異誘発によって創出した。簡潔に述べると、ウラシルが組み込まれた一本鎖環状ＤＮＡを、単離されたファージから標準的な手順を使用して調製し、クンケル変異誘発を行って、４つのＣＤＲに多様性を導入した。次いで、化学的に合成したＤＮＡをＴＧ１細胞にエレクトロポレーションし、続いて回収した。回収した細胞を継代培養し、Ｍ１３Ｋ０７ヘルパーファージに感染させて、ファージライブラリを生成した。

【０５１２】

ファージパニングは、標準的な手順を使用して実施した。簡潔に述べると、第１回目のファージパニングは、ストレプトアビジン磁気ビーズ上に固定化した標的を用いて行い、これを、ＰＢＳＴ－２％ＢＳＡ中の容量１ｍＬで調製したライブラリからの約１×１０^{1}

2個のファージに供した。１時間のインキュベーション後、磁気スタンドを使用してビーズ結合ファージを上清から分離した。ビーズを３回洗浄して、非特異的に結合したファージを除去し、次いで、OD_{600}、約０．６でＥＲ２７３８細胞（５ｍＬ）に加えた。室温で２０分間インキュベートした後、感染細胞を２５ｍＬの２ｘＹＴ＋アンピシリン及びＭ１３Ｋ０７ヘルパーファージ（約１ｘ１０^{10}ｐｆｕ／ｍＬの最終濃度）で継代培養し、激しく振盪しながら３７℃で一晩増殖させた。翌日、ＰＥＧ沈殿により標準的な手順を使用してファージを調製した。ＳＡＶでコーティングしたビーズに特異的なファージの事前の排除を、パニングの前に行った。第２回目のパニングは、ＫｉｎｇＦｉｓｈｅｒ磁気ビーズハンドラーを使用し、５０ｎＭまたは１００ｎＭのビーズ固定化５Ｔ４抗原を用いて、標準的な手順を用いて行った（第３回目には１００ｎＭの５Ｔ４、第４回目には５０ｎＭの５Ｔ４）。合計で、３～４回のファージパニングを行って、５Ｔ４抗原に特異的なファージ提示Ｆａｂを濃縮した。ポリクローナルＥＬＩＳＡを使用して５Ｔ４特異的濃縮を確認し、個々のクローンを単離し、モノクローナルファージＥＬＩＳＡを実施することによってさらに検証した。ＤＮＡ配列を使用して、候補抗体を含む単離されたＦａｂクローンのＣＤＲの配列を決定した。

【０５１３】

候補抗体の重鎖及び軽鎖可変ドメインをコードする遺伝子を、哺乳類細胞における完全長ＩｇＧとして発現させるため、哺乳類発現ベクターに別々にクローニングした。

【０５１４】

完全長ＩｇＧの場合、重鎖定常領域（例えば、ＣＨ１＝通常のテキスト、ヒンジ＝イタリック体のテキスト、ＣＨ２＝太字、及びＣＨ３＝下線）には、以下のアミノ酸配列を含めた。

【化１２０】

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC*DKTHTCPPC*
***P*APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV**
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

（配列番号７４）。

【０５１５】

完全長ＩｇＧの場合、軽鎖定常領域（例えば、ＣＬ）は、以下のアミノ酸配列を含めた：

ＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰＳＤＳＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮＳＱＥＳＶＴＥＱＤＳＫＤＳＴＹＳＬＳＳＴＬＴＬＳＫＡＤＹＥＫＨＫＶＹＡＣＥＶＴＨＱＧＬＳＳＰＶＴＫＳＦＮＲＧＥＣ（配列番号７５）。

【０５１６】

ＩｇＧ抗体を、プロテインＡ樹脂を使用して培養上清から精製した。

【０５１７】

実施例２．スクリーニングアッセイ

二価結合アッセイを用いて、実施例１のファージディスプレイによって得られたＶＨ／ＶＬを有する抗体が、臨床的に関連する３種、ヒト、カニクイザル（ｃｙｎｏ）、及びマウスのすべてに由来する固定化５Ｔ４に結合するかどうかに関するデータを提供する。二価結合及び交差反応性アッセイのために、５Ｔ４ヒト、カニクイザル、及びマウス抗原を、タンパク質データベースからの配列を使用して合成し、ｈｉｓ－ａｖｉタグを使用してビ

オチン化タンパク質として発現させ、共発現したＢｉｒＡ酵素とのインビボでのビオチン化を行った。

【０５１８】

標準的なＯｃｔｅｔベースのアッセイを使用して、各抗体が各抗原に結合するかどうかを定性的に決定した。これらのアッセイのために、２００ｎＭのビオチン化抗原を１Ｘキネティックバッファー（ＦｏｒｔｅＢｉｏ）中でストレプトアビジンバイオセンサに固定化した。次いで、ロードしたセンサを、目的の抗体を５００ｎＭで含有するウェルに浸漬し、会合結合シグナルを観察した。陰性対照を上回る会合ステップ中のシグナルの増加を、抗原への結合とみなした。

【０５１９】

Ｏｃｔｅｔを使用した定性的結合親和性では、試験した２７個の抗体すべてがヒト５Ｔ４への結合を示し、抗体のうち１３個はカニクイザル５Ｔ４への結合も示し、抗体のうち１３個はマウス５Ｔ４への結合も示した。例示的な抗体のデータを以下の表４に示す。

【表４】

表４．Ｏｃｔｅｔによる定性的二価結合親和性

抗体	ヒト 5T4 Octet (二価)	カニクイザル 5T4 Octet (二価)	マウス 5T4 Octet (二価)
mAbA5	+	+	-
mAbA15	+	+	+
mAbA17	+	+	+

【０５２０】

一価結合アッセイを用いて、実施例１においてファージディスプレイによって得られた各５Ｔ４バインダーのヒト５Ｔ４に対する相対親和性を決定した。ヒト５Ｔ４は、Ａｃｒｏ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ（Ａｃｒｏカタログ番号ＴＰＧＨ５２Ｅ）から購入し、別個にも生産した。Ｏｃｔｅｔ（Ｐａｌｌ ＦｏｒｔｅＢｉｏ）装置を使用して、ヒト５Ｔ４に対するバインダーの一価の相互作用を監視した。これらのアッセイでは、３６ｎＭの抗体を１Ｘキネティックバッファー（ＦｏｒｔｅＢｉｏ）中で抗ヒトＦｃ（ＡＨＣ）センサに固定化した。次に、１μＭ～１．３７ｎＭの範囲のヒト５Ｔ４の３倍の連続希釈物を含むウェルにセンサを浸漬させた。会合を平衡に達させた。次いで、センサを１倍のキネティックバッファーのみを含むウェルにセンサを移動し、平衡化するために解離させた。会合及び解離速度を測定し、これらから、オンボード分析ソフトウェア（ＦｏｒｔｅＢｉｏ）を使用して一価K_Dを計算した。

【０５２１】

試験した２７個の抗体すべてのうち、それらの大部分は、一価結合親和性－内部（ロット２０－０１９－６２）のアッセイにおいて弱い結合を示した。ｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、及びｍＡｂＡ１７は、３つのロットすべてにおいて強いまたは中程度の結合を示すものである。データを下の表５に示す。

【表５】

表５．Ｏｃｔｅｔによる定性的一価結合親和性

抗体	一価の結合親和性-Acro TPGH52E5 (ロット B465-87AF1-K2)	一価の結合親和性-内部 (ロット 20-019-62)	一価の結合親和性-Acro TPGH52E5 (ロット B465-87AF1-JP)
	Octet	Octet	Octet
	K_D(nM)	K_D(nM)	K_D(nM)
mAbA4	0.01	83	30.2
mAbA15	3.62	10.4	11.2
mAbA17	2.81	9.34	21.1

【０５２２】

実施例３：追加のスクリーニング及び選択

５Ｔ４に結合するために選択された抗体、例えば、実施例２に記載のものを、５Ｔ４を発現する細胞への結合について評価した。アッセイの日に７０～９０％のコンフルエンスで細胞を回収した。ｖ底９６ウェルプレート（Ｃｏｓｔａｒ３８９７）において、１ウェル当たり１００，０００個の細胞を、＋４℃で３０分間、１ウェル当たり５０μＬの８点または１２点の抗体希釈シリーズとインキュベートした。インキュベーション後、細胞を２００×ｇで５分間の遠心分離によってＰＢＳで１回洗浄した。次に、細胞を＋４℃で３０分間、１ウェル当たり５０μＬの１：１００希釈のＡｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ４８８ヤギ抗ヒトＩｇＧ Ｆａｂ（Ｊａｃｋｓｏｎ Ｉｍｍｕｎｏ Ｒｅｓｅａｒｃｈ１０９－５４７－００３）と共にインキュベートした。細胞を２００×ｇで５分間遠心分離することによってＰＢＳで２回洗浄し、ｉＱｕｅ Ｓｃｒｅｅｎｅｒ Ｐｌｕｓ（Ｓａｒｔｏｒｉｕｓ）で取得した。ＢＬ１（Ａｌｅｘａ－Ｆｌｕｏｒ－４８８）チャネルの平均蛍光強度を抗体濃度に対してプロットして、用量反応曲線及びＥＣ５０値を作成した。

【０５２３】

試験した２７個の抗体のうち、２６個の抗体がＨＥＫ－５Ｔ４細胞への結合親和性を示し、１６個の抗体がＭＣＦ－７細胞への結合親和性を示し、２６個の抗体がＨＥＫ－ｃｙｎｏ－５Ｔ４細胞への結合親和性を示した。

【０５２４】

３つすべてのＨＥＫ－５Ｔ４、ＭＣＦ－７、及びＨＥＫ－ｃｙｎｏ－５Ｔ４細胞株（ｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、及びｍＡｂＡ１７を含む）に結合するように選択される抗体を、ＨＥＫ－５Ｔ４及びＭＣＦ－７細胞を用いた内在化アッセイでさらに評価した。

【０５２５】

接着細胞を７０～９０％のコンフルエンスで採取し、９６ウェルの黒色、透明／平底半面積プレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ ３８８２）にて、５０μＬの培地に２０，０００細胞／ウェルで、３７℃にて一晩プレートした。浮遊細胞株については、９６ウェルプレートをポリ－Ｌ－オルニチン溶液（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ－Ｓｉｇｍａ）で３７℃にて１時間コーティングし、アッセイの約１～２時間前に、細胞を５０μＬの培地に４０，０００細胞／ウェルの密度で播種した。抗体を細胞培養培地で希釈し、３倍モル濃度のＩｎｃｕｃｙｔｅヒトＦａｂＦｌｕｏｒ－ｐＨ赤抗体標識試薬と混合し、室温で１５分間インキュベートした。抗体／ＦａｂＦｌｕｏｒミックスのすべての希釈液の２倍最終濃度を調製した。次いで、５０μＬの２Ｘ抗体／Ｆａｂ－Ｆｌｕｏｒミックスを、事前に播種した細胞を含む各ウェルに二連で直接添加し、プレートを迅速にＩｎｃｕｃｙｔｅに移した。その後、プレートを３０分ごとに最大２４時間スキャンした。抗体／ＦａｂＦｌｕｏｒミックスを細

胞に添加してから２～３分以内に最初のスキャン（０時間）を開始するように注意した。プレートを、経時的に生成された赤色シグナルを読み取ることによって分析し、そのウェル内の細胞のコンフルエンス％に対して正規化した。いくつかの抗体を標的細胞株上で異なる濃度で試験し、良好な信号：ノイズ比に基づいて最良の濃度を選択した。

【０５２６】

内部移行アッセイでは、６つの抗体（ｍＡｂＡ４及びｍＡｂＡ１５を含む）がＨＥＫ－５Ｔ４細胞において強力な内部移行を示し、１つの抗体がＨＥＫ－５Ｔ４細胞において中程度の内部移行を示し、７つの抗体がＨＥＫ－５Ｔ４細胞において内部移行または非特異的内部移行を示さなかった。さらなるアッセイでは、２つの抗体はＭＣＦ－７細胞において強力な内在化を示し、４つの抗体はＨＥＫ－５Ｔ４細胞において中程度の内在化を示し、８つの抗体はＭＣＦ－７細胞において内在化または非特異的な内在化を示さなかった。

【０５２７】

実施例４：開発可能性アッセイ

５Ｔ４に結合するために選択された抗体、例えば、実施例２及び３に記載されるものを様々な方法で試験し、開発可能性を評価した。例えば、サイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）、疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）、及びスタンドアップ単層吸着クロマトグラフィー（ＳＭＡＣ）を含む様々なクロマトグラフィー方法を使用して、モノマーの百分率、溶解性、及び抗体の凝集または沈殿などの因子を評価した。

【０５２８】

Ａｇｉｌｅｎｔ １１００ ＨＰＬＣにて、７．８ｍｍＩＤ×３０ｃｍ ＴＳＫｇｅｌ Ｇ３０００ＳＷＸＬカラム（Ｔｏｓｏｈ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ ＬＬＣ、ＰＮ０８５４１）を使用して、６ｍｍ×４ｃｍガードカラム（ＰＮ０８５４３）を用いてサイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）分析を行った。抗体をダルベッコＰＢＳ（ｐＨ７．４、Ca^{2+}／Mg^{2+}を含まない）中１ｍｇ／ｍＬ濃度に正規化し、可溶性凝集体を保持しながら、遠心分離を介して微粒子化することにより清澄化した。移動相緩衝液は、２倍濃度（１０倍の原液濃度から希釈した）ダルベッコＰＢＳ（ｐＨ７．４、Ca^{2+}／Mg^{2+}を含まない）であった。各試料について、１０μＬをロードし、周囲温度で２０分間にわたって１．０ｍＬ／分で均一的に溶出した。吸光度を２８０ｎｍでモニタリングした。クロマトグラフィーのピークを積分して、均一性のパーセンテージと保持時間とを決定した。カラムの固定相と選択した移動相は、分子サイジングに加えて疎水性及び静電相互作用もサポートする（二次相互作用はＳＭＡＣと比較してはるかに穏やかである）。Ａｇｉｌｅｎｔ ＣｈｅｍＳｔａｔｉｏｎ Ｂ．０４．０３ ＳＰ１を用いて、データ分析を行った。

【０５２９】

結果は、ｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、及びｍＡｂＡ１７（他の試験した抗体の中でも）が、ＳＥＣ分析に基づいて高い開発可能性を有することを示した。

【０５３０】

疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）分析を、Ａｇｉｌｅｎｔ １１００ ＨＰＬＣにて４．６ｍｍＩＤ×３．５ｃｍ ＴＳＫｇｅｌブチル－ＮＰＲカラム（Ｔｏｓｏｈ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ ＬＬＣ、ＰＮ１４９４７）を使用して行った。抗体をダルベッコＰＢＳ（ｐＨ７．４、Ca^{2+}／Mg^{2+}を含まない）中１ｍｇ／ｍＬ濃度に正規化した。カラムを１００％移動相緩衝液Ａ（２Ｍ硫酸アンモニウム／２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ７．０）を用いて、周囲温度にて１ｍＬ／分の流速で平衡化した。各試料について、１０μＬをロードし、１００％移動相緩衝液Ａから１００％移動相緩衝液Ｂ（２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ７．０）の勾配を使用して、１．０ｍＬ／分で１５分間にわたって溶出し、１００％Ｂで３分間保持してカラムを洗浄し、平衡化のために２分間１００％Ａに戻した。吸光度を２８０ｎｍでモニタリングした。サンプル保持時間を計算し、標準対照のセットと比較して、保持時間が増加した（疎水性が増加した）抗体及び複数の種の存在を同定した。Ａｇｉｌｅｎｔ ＣｈｅｍＳｔａｔｉｏｎ Ｂ．０４．０３ ＳＰ１を用いて、データ分析を行った。

【０５３１】

疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）分析からの結果は、特定の抗体が強力な開発可能性を有し、他の抗体が中程度の開発可能性を有することを示した。ｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、及びｍＡｂＡ１７は、ＨＩＣ分析に基づいて強力な開発可能性を有するものに含まれる。抗体の疎水性は、抗体の凝集、溶解性、及び粘度に影響を与え得る。結果は、これらの抗体の凝集及び沈殿の傾向が低いことを示している。

【０５３２】

スタンドアップ単層吸着クロマトグラフィー（ＳＭＡＣ）分析を、Ａｇｉｌｅｎｔ １１００ ＨＰＬＣで４．６ｍｍ×５０ｍｍガードカラム（ＰＮ２１３３００Ｐ－４６０５）と共に４．６ｍｍＩＤ×３００ｍｍＺｅｎｉｘ ＳＥＣ３００カラム（Ｓｅｐａｘ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、ＰＮ２１３３００Ｐ－４６３０）を使用して行った。抗体をダルベッコＰＢＳ（ｐＨ７．４、Ca^{2+}／Mg^{2+}を含まない）中１ｍｇ／ｍＬ濃度に正規化し、可溶性凝集体を保持しながら、遠心分離を介して微粒子化することにより清澄化した。移動相緩衝液は、２倍濃度（１０倍の原液濃度から希釈した）ダルベッコＰＢＳ（ｐＨ７．４、Ca^{2+}／Mg^{2+}を含まない）であった。各試料について、１０μＬをロードし、周囲温度で３２分間にわたって０．４ｍＬ／分で均一的に溶出した。吸光度を２８０ｎｍでモニタリングした。カラム固定相と移動相の選択により、分子サイジングに加えて二次相互作用が促進されるため、サンプル保持時間を計算し、標準対照のセットと比較して、保持時間が増加した（凝集体を形成する傾向が増加した及び／または疎水性／静電相互作用が増加した）抗体を同定した。Ａｇｉｌｅｎｔ ＣｈｅｍＳｔａｔｉｏｎ Ｂ．０４．０３ ＳＰ１を用いて、データ分析を行った。

【０５３３】

スタンドアップ単層吸着クロマトグラフィー（ＳＭＡＣ）分析の結果は、特定の抗体が強い開発可能性を有する一方、他の抗体は中程度の開発可能性を有することが示された。ｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、及びｍＡｂＡ１７は、ＳＭＡＣ分析に基づいて強力な産生を有するものに含まれる。この測定は、コロイドの安定性及び低い凝集傾向を示す良好な保持時間に基づいた。

【０５３４】

実施例５：エピトープビニングアッセイ

エピトープビニングアッセイを用いて、実施例１でファージディスプレイによって得られた各抗体が５Ｔ４のどのエピトープに結合するかを決定した。

【０５３５】

５Ｔ４タンパク質の全体的な構造を維持しながら、依然としてエピトープ結合の測定を可能にするために、マウス－ヒトキメラを、ヒト５Ｔ４の７つの連続配列（エピトープ１～７）の各々をクローニングして、対応するマウス配列の各々を置き換えることによって生成した。キメラ生成のため、完全長ヒト及びマウス５Ｔ４遺伝子をＧｅｎＳｃｒｉｐｔによって合成し、６－Ｈｉｓ－Ａｖｉタグを含む哺乳動物ベクターにクローニングした。次いで、本明細書に記載の７つの配列（エピトープ１～７）の各々をヒト遺伝子から除去し、適切なプライマーを使用してマウス遺伝子に別々にクローニングした。ヒト５Ｔ４（Ｈ１）のエピトープ１は、ＳＳＰＴＳＳＡＳＳＦＳＳＳＡＰＦＬＡＳＡＶＳＡＱＰＰＰＬＰＤＱＣＰＡＬＣＥＣＳＥＡＡＲＴ（配列番号７６）に対応し、ヒト５Ｔ４（Ｈ２）のエピトープ２は、ＶＫＣＶＮＲＮＬＴＥＶＰＴＤＬＰＡＹＮＶＲＬＴＧＮＱＬＡＶＬＰＡＧＡＦＡＲＲＰＰＬＡＥＬＡＡＬＮＬＳＧＳＲＬＤＥＶＲ（配列番号７７）に対応し、ヒト５Ｔ４（Ｈ３）のエピトープ３は、ＡＧＡＦＥＨＬＰＳＬＲＱＬＤＬＳＨＮＰＬＡＤＬＳＰＦＡＦＳＧ（配列番号７８）に対応し、ヒト５Ｔ４（Ｈ４）のエピトープ４は、ＳＮＡＳＳＶＳＡＰＳＰＬＶＥＬＩＬＮＨＩＶＰＰＥＤＥＲＱＮＲＳＦＥＧＭＶＶＡＡＬＬＡＧＲＡＬＱＧＬＲＲＬＥ（配列番号７９）に対応し、ヒト５Ｔ４（Ｈ５）のエピトープ５は、ＬＡＳＮＨＦＬＹＬＰＲＤＶＬＡＱＬＰＳＬＲＨＬＤＬＳＮＮＳＬＶＳＬＴＹＶＳＦＲＮＬＴＨＬＥＳＬ（配列番号８０）に対応し、ヒト５Ｔ４（Ｈ６）のエピトープ６は、ＨＬＥＤＮＡＬＫＶＬＨＮＧＴＬＡＥＬＱＧＬＰＨＩＲＶＦＬ（配列番号８１）に対応し、ヒト５Ｔ４（Ｈ７）のエピトープ７は、ＤＮＮＰＷＶＣＤＣＨＭＡＤＭＶＴＷＬＫＥＴＥ

ＶＶＱＧＫＤＲＬＴＣＡＹＰＥＫＭＲＮＲＶＬＬＥＬＮＳＡＤＬＤＣＤＰＩＬＰＰＳＬＱＴＳ（配列番号８２）に対応する。抗原を、Ｅｘｐｉ２９３タンパク質発現系（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ）を使用して一過性に発現させ、共発現したＢｉｒＡビオチンリガーゼを使用してインビトロでビオチン化し、Ｎｉ－ＮＴＡアフィニティークロマトグラフィーを使用して精製した。表６に示すように、生成されたヒト（Ｈ）及びマウス（Ｍ）配列の７つのキメラ構築物は以下の通りであった：（１）Ｈ１　Ｍ２　Ｍ３　Ｍ４　Ｍ５　Ｍ６　Ｍ７（配列番号８３）、（２）Ｍ１　Ｈ２　Ｍ３　Ｍ４　Ｍ５　Ｍ６　Ｍ７（配列番号８４）、（３）Ｍ１　Ｍ２　Ｈ３　Ｍ４　Ｍ５　Ｍ６　Ｍ７（配列番号８５）、（４）Ｍ１　Ｍ２　Ｍ３　Ｈ４　Ｍ５　Ｍ６　Ｍ７（配列番号８６）、（５）Ｍ１　Ｍ２　Ｍ３　Ｍ４　Ｈ５　Ｍ６　Ｍ７（配列番号８７）、（６）Ｍ１　Ｍ２　Ｍ３　Ｍ４　Ｍ５　Ｈ６　Ｍ７（配列番号８８）、及び（７）Ｍ１　Ｍ２　Ｍ３　Ｍ４　Ｍ５　Ｍ６　Ｈ７（配列番号８９）。次いで、各抗体を、キメラ構築物の各々及び完全長ヒトタンパク質への結合について試験した。キメラへの任意の有意な結合シグナルは、抗体が特異的に結合する領域を示す。

【表６－１】

表６．５Ｔ４キメラ構築物

ヒト5T4 エピトープ1	H1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 (配列番号 83)	SSPTSSASS FSSSAPFLAS AVSAQPPLPD QCPALCECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN PWVCDCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT S

【表６－２】

ヒト5T4 エピトープ2	M1 H2 M3 M4 M5 M6 M7 (配列番号 84)	SAPSSSVPS SSTSPAAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLTEVPTDLP AYVRNLFLTG NQLAVLPAGA FARRPPLAEL AALNLSGSRL DEVRAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN PWVCDCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT S
ヒト5T4 エピトープ3	M1 M2 H3 M4 M5 M6 M7 (配列番号 85)	SAPSSSVPS SSTSPAAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPSLRQLDLS HNPLADLSPF AFSGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN PWVCDCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT S
ヒト5T4 エピトープ4	M1 M2 M3 H4 M5 M6 M7 (配列番号 86)	SAPSSSVPS SSTSPAAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLVELIL NHIVPPEDER QNRSFEGMVV AALLAGRALQ GLRRLELASN HFLFLPRDLL AQLPSLRYLD LRNNSLVSLT YASFRNLTHL ESLHLEDNAL KVLHNSTLAE WHGLAHVKVF LDNNPWVCDC YMADMVAWLK ETEVVPDKAR LTCAFPEKMR NRGLLDLNSS DLDCDAVLPQ SLQTS

【表６－３】

ヒト5T4 エピトープ5	M1 M2 M3 M4 H5 M6 M7 (配列番号 87)	SAPSSSVPS SSTSPAAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLY LPRDVLAQLP SLRHLDLSNN SLVSLTYVSF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN PWVCDCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT S
ヒト5T4 エピトープ6	M1 M2 M3 M4 M5 H6 M7 (配列番号 88)	SAPSSSVPS SSTSPAAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NGTLAELQGL PHIRVFLDNN PWVCDCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT S
ヒト5T4 エピトープ7	M1 M2 M3 M4 M5 M6 H7 (配列番号 89)	SAPSSSVPS SSTSPAAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN PWVCDCHMAD MVTWLKETEV VQGKDRLTCA YPEKMRNRVL LELNSADLDC DPILPPSLQT S

【０５３６】

標準的なＯｃｔｅｔベースのアッセイをエピトープビニングアッセイに使用して、各抗体のエピトープビンを確立した。これらのアッセイのために、５０ｎＭのビオチン化抗原を１Ｘキネティックバッファー（ＦｏｒｔｅＢｉｏ）中でストレプトアビジンバイオセンサに固定化した。次いで、目的の抗体を１００ｎＭで含有するウェルにセンサを浸漬させ、会合シグナルをモニターした。抗体の結合を効果的にノックアウトしたキメラ（複数可）は次に、抗体が結合する特定のエピトープ（複数可）に対応する。参照のために、完全長ヒト５Ｔ４をアッセイに含めた。

【０５３７】

結果は、９つの抗体が５Ｔ４のエピトープ４に特異的に結合し、３つの抗体が５Ｔ４のエピトープ７に特異的に結合し、３つの抗体が５Ｔ４のエピトープ２に特異的に結合し、

１つの抗体が５Ｔ４のエピトープ４とエピトープ６との両方に特異的に結合し、１１個の抗体が完全長５Ｔ４（ＦＬ）に結合することを示した。例示的なエピトープビニングの結果（ｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、及びｍＡｂＡ１７の）を表７にまとめる。
【表７】

表７．エピトープビニングアッセイ

抗体	エピトープビニング
mAbA4	4
mAbA15	2
mAbA17	7

【０５３８】
本明細書に記載の通り、実施例１に記載されるようにファージライブラリからスクリーニングされたすべての抗体の中で、ＩｇＧにフォーマット化した後になおも５Ｔ４に結合することができた２７個の抗体を、実施例２～５に記載されるようにさらに試験した。ｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、及びｍＡｂＡ１７と特定される３つの抗体を、ヒト５Ｔ４結合に対するそれらの特異性、ｃｙｎｏ５Ｔ４への結合、それらの細胞表面結合シグナル、及び強力な開発可能性を含む、多数の活性に基づいて、ＳＥＣ、ＨＩＣ、及びＳＭＡＣなどの様々な方法で評価し、選択した。これらの抗体のＶＨ配列、ＶＬ配列、及びＣＤＲ配列は、本明細書、例えば表１～３に記載されている。
【０５３９】
実施例６：ＡＤＣの調製
Ａ．タグ付き抗体の調製
【０５４０】
タグ付き抗体は、Ｒａｂｕｋａ Ｄ．ｅｔ ａｌ．，“Ｓｉｔｅ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｃｈｅｍｉｃａｌ ｐｒｏｔｅｉｎ ｃｏｎｊｕｇａｔｉｏｎ ｕｓｉｎｇ ｇｅｎｅｔｉｃａｌｌｙ ｅｎｃｏｄｅｄ ａｌｄｅｈｙｄｅ ｔａｇｓ，”Ｎａｔ Ｐｒｏｔｏｃ．，２０１２；７（６）：１０５２－１０６７及びＵ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ Ｎｏ．７，９８５，７８３ Ｂ２に記載されているもの等、当技術分野で公知の方法に従って調製した。これらの各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。簡潔に述べると、異種スルファターゼモチーフを含む抗体をホルミルグリシン生成酵素と接触させて、モチーフ中のシステインまたはセリンを、アルデヒド部分を有するホルミルグリシンに変換し、それによって「アルデヒドタグ付き抗体」を生成することができる。Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｔｕｂｅｒｃｕｌｏｓｉｓまたはＭｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｔｕｂｅｒｃｕｌｏｓｉｓなどの任意のホルミルグリシン生成酵素を使用することができる。
【０５４１】
Ｂ．リンカーペイロードの調製
【０５４２】
１．リンカーペイロードＶＩａ－２１の合成。
【０５４３】
リンカー－薬物ＶＩａ－２１の合成を図１のスキーム１に示す。化合物２－１は、Ｓｈａｎｇｈｉ Ｍｅｄｉｃｉｌｏｎ Ｉｎｃ．（Ｓｈａｎｇｈｉ，Ｃｈｉｎａ）から市販されているものを入手し、そのまま使用した。化合物２－１はまた、参照により全体として本明細書に組み込まれる国際特許出願公開第ＷＯ２０１５／０８１２８２号に開示されている合成手順に従って調製してもよい。化合物２１－１を、例えば、Ｋｕｄｉｒｋａ ｅｔ ａｌ．ＡＣＳ Ｍｅｄ． Ｃｈｅｍ． Ｌｅｔｔ．２０１６，７（１１）：９４－９

９８及び国際特許出願公開ＷＯ２０１５／０８１２８２に開示の手順に従って調製し、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。使用した他のすべての試薬は、商業的供給源から購入し、更に精製せずに使用した。

【０５４４】

化合物２１－１（６２ｍｇ、５４μｍｏｌ）及び３０μＬのＤＩＰＥＡを、室温で２ｍＬの無水ＤＭＦ中の化合物２－１（４５ｍｇ、５４μｍｏｌ）の撹拌溶液に添加した。（７－アザベンゾトリアゾール－１－イルオキシ）トリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（「ＰｙＡＯＰ」、２８ｍｇ、５４μｍｏｌ）を室温で加えた。３０分後、反応混合物を２０ｍＬのブライン中に注ぎ入れ、ＤＣＭ（２×２５ｍＬ）で抽出した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、真空下で濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー（ＤＣＭ中５～１０％ＭｅＯＨ）によって精製して、７０ｍｇ（３６μｍｏｌ、収率６７％）の中間体３を無色固体として得た。固体のＬＲＭＳ（ＥＳＩ）分析は、$C_{101}H_{135}ClN_{14}O_{24}$について予想されるように、ｍ／ｚ１９８６．０［Ｍ＋Ｎａ］$^{+}$にピークを明らかにした。

【０５４５】

ＤＣＭ中の$SnCl_4$（１Ｍ、０．３６ｍＬ）を、無水ＤＣＭ（２ｍＬ）中の中間体Ｆｍｏｃ－ＶＩａ－２１（７０ｍｇ、３６μｍｏｌ）の溶液に、室温でゆっくりと添加した。添加後、反応混合物を室温で３０分間撹拌させ、反応を２滴の水を含む２ｍＬのアセトニトリルでクエンチした。得られた溶液を真空下で濃縮し、残渣を逆相クロマトグラフィー（Ｃ１８カラム、０～１００％アセトニトリル－水＋０．０５％トリフルオロ酢酸（「ＴＦＡ」））によって精製した。純粋画分を合わせ、凍結乾燥して、２５ｍｇ（１３μｍｏｌ、収率３６％）のＦｍｏｃ－ＶＩａ－２１を無色の固体として得た。固体のＬＲＭＳ（ＥＳＩ）分析は、$C_{97}H_{127}ClN_{14}O_{24}$について予想されるように、ｍ／ｚ１９２９．８［Ｍ＋Ｎａ］$^{+}$にピークを明らかにした。

【０５４６】

ピペリジン（２６μＬ）を、室温で２ｍＬの無水ＤＭＡ中のＦｍｏｃ－ＶＩａ－２１（２５ｍｇ、１３μｍｏｌ）の溶液に添加した。２０分後、反応混合物を逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８カラム、０～７５％アセトニトリル－水＋０．０５％ＴＦＡ）によって直接精製した。純粋画分を合わせ、凍結乾燥して、８ｍｇのリンカー－薬物ＶＩａ－２１（５μｍｏｌ、収率３９％）を白色固体として得た。白色の固体のＬＲＭＳ（ＥＳＩ）分析は、$C_{82}H_{117}ClN_{14}O_{22}$について予想されるように、ｍ／ｚ１６８５．９［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$にピークを明らかにした。

【０５４７】

２．リンカーペイロードＶＩａ－１１の合成。リンカーペイロードＶＩａ－１１の合成を、図２のスキーム２に示す。４－ピペリジノン塩酸塩一水和物（１．５３ｇ、１０ｍｍｏｌ）、Ｂｏｃ無水物（２．３９ｇ、１１ｍｍｏｌ）、炭酸ナトリウム（１．２２ｇ、１１．５ｍｍｏｌ）、ジオキサン（１０ｍＬ）、及び水（１ｍＬ）を１００ｍＬの磁気撹拌子を含む丸底フラスコに添加した。反応混合物を室温で１時間撹拌した。混合物を水（１００ｍＬ）で希釈し、エチルアセテート（「ＥｔＯＡｃ」、３ｘ１００ｍｌ）で抽出した。組み合わせた有機層をブラインで洗浄し、Na_2SO_4上で乾燥し、濾過し、減圧下で濃縮した。得られた材料を真空中で乾燥させて、４－オキソピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルを白色固体（１．７４ｇ、８７％収率）として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（$CDCl_3$）δ３．７３（ｔ，４Ｈ，Ｊ＝６．０），２．４６（ｔ，４Ｈ，Ｊ＝６．０），１．５１（ｓ，９Ｈ）．

【０５４８】

４－オキソピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチル（３９９ｍｇ、２ｍｍｏｌ）、３－（２－（２－アミノエトキシ）エトキシ）プロパン酸ｔｅｒｔ－ブチル（５５０ｍｇ、２．４ｍｍｏｌ）、４Åのモレキュラーシーブ（活性化粉末、２００ｍｇ）、及び１，２－ジクロロエタン（５ｍＬ）を、磁気撹拌子を含有する乾燥したシンチレーションバイアルに添加した。この混合物を室温で１時間撹拌した。ナトリウムトリアセトキシボロ

ヒドリド（８４５ｍｇ、４ｍｍｏｌ）を反応混合物に添加した。混合物を室温で３日間撹拌し、次いで、ＥｔＯＡｃと飽和ＮａＨＣＯ$_3$水溶液との間で分配した。有機層をブラインで洗浄し、Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、中間体１－１（ｔｅｒｔ－ブチル４－（（２－（２－（３－（ｔｅｒｔ－ブトキシ）－３－オキソプロポキシ）エトキシ）エチル）アミノ）ピペリジン－１－カルボキシレート）を粘稠油状物（８５０ｍｇ、収率＞１００％）として得た。油のＭＳ（ＥＳＩ）分析により、予想通り、ｍ／ｚ４１７．２のピークが明らかとなった。

【０５４９】

中間体１－１（２２０ｍｇ、０．５ｍｍｏｌ）、無水コハク酸（５５ｍｇ、０．５５ｍｍｏｌ）、４－（ジメチルアミノ）ピリジン（５ｍｇ、０．０４ｍｍｏｌ）、及びジクロロメタン（３ｍＬ）を、磁気撹拌子を含有する乾燥したシンチレーションバイアルに添加した。混合物を室温で２４時間撹拌した。この反応混合物をフラッシュクロマトグラフィー（溶離液＝５０～１００％ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）により部分精製し、中間体１－２（１３－（１－（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）ピペリジン－４－イル）－２，２－ジメチル－４，１４－ジオキソ－３，７，１０－トリオキサ－１３－アザヘプタデカン－１７－オイック酸）を、透明油状物（１１７ｍｇ）として得た。

【０５５０】

中間体１－２（５５ｍｇ、０．１ｍｍｏｌ）、デアシルマイタンシン（６５ｍｇ、０．１ｍｍｏｌ）、１－［ビス（ジメチルアミノ）メチレン］－１Ｈ－１，２，３－トリアゾロ［４，５－ｂ］ピリジニウム３－オキシドヘキサフルオロリン酸（「ＨＡＴＵ」、４３ｍｇ、０．１１ｍｍｏｌ）、ジメチルホルムアミド（「ＤＭＦ」、１ｍＬ）、及びジクロロメタン（「ＤＣＭ」、０．５ｍＬ）を、磁気撹拌棒を含有する乾燥したシンチレーションバイアルに添加した。この混合物を室温で８時間撹拌した。反応混合物をＣ１８フラッシュクロマトグラフィー（溶離液＝５～１００％のＭｅＣＮ／水）によって直接精製して、中間体１１－１を白色のフィルム（１８ｍｇ、収率１６％）として得た。フィルムのＭＳ（ＥＳＩ）分析では、予想通り、ｍ／ｚ１１４８．７にピークが見られた。

【０５５１】

中間体１１－１（３１ｍｇ、０．０２７ｍｍｏｌ）及びジクロロメタン（１ｍＬ）を、磁気撹拌棒を含有する乾燥したシンチレーションバイアルに添加した。この溶液を０℃まで冷却し、四塩化スズ（ＩＶ）（ＤＣＭ中の１．０Ｍ溶液、０．３ｍＬ、０．３ｍｍｏｌ）を加えた。反応混合物を０℃で１時間攪拌した。反応混合物をＣ１８フラッシュクロマトグラフィー（溶離液＝５～１００％のＭｅＣＮ／水）によって直接精製して、中間体１１－２を白色の個体（１６ｍｇ、収率６０％）として得た。白色の固体のＭＳ（ＥＳＩ）分析は、予想通り、ｍ／ｚ９９２．６のピークを明らかにした。

【０５５２】

中間体１１－２（１６ｍｇ、０．０１６ｍｍｏｌ）、Ｆｍｏｃ－ＶＩａ（１３ｍｇ、０．０２ｍｍｏｌ、スキーム６に示す）、Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン（「ＤＩＰＥＡ」、８μＬ、０．０５ｍｍｏｌ）、及びＤＭＦ（１ｍＬ）を、磁気撹拌棒を含む乾燥したシンチレーションバイアルに添加した。溶液を室温で１８時間撹拌した。反応混合物をＣ１８フラッシュクロマトグラフィー（溶離液＝５～１００％のＭｅＣＮ／水）によって直接精製して、Ｆｍｏｃ－ＶＩａ－１１を白色の個体（１８ｍｇ、収率７７％）として得た。白色の固体のＭＳ（ＥＳＩ）分析は、予想通り、ｍ／ｚ１４５７．９のピークを明らかにした。

【０５５３】

Ｆｍｏｃ－ＶＩａ－１１（１８ｍｇ、０．０１２ｍｍｏｌ）、ピペリジン（２０μＬ、０．０２ｍｍｏｌ）、及びＤＭＦ（１ｍＬ）を、磁気撹拌棒を含有する乾燥したシンチレーションバイアルに添加した。混合物を室温で２０分間撹拌した。反応混合物をＣ１８フラッシュクロマトグラフィー（溶離液＝１～６０％ＭｅＣＮ／水）によって直接精製して、リンカー－薬物ＶＩａ－１１を白色の固体（１５ｍｇ、９８％の収率）として得た。白色の固体のＭＳ（ＥＳＩ）分析は、予想通り、ｍ／ｚ１２３６．０のピークを明らかにし

た。
【０５５４】
３．リンカーペイロードＶＩｂ－１１の合成。
【０５５５】
リンカー－薬物ＶＩｂ－１１の合成を図３のスキーム３に示す。
【０５５６】
化合物１－１は、Ｓｈａｎｇｈａｉ Ｍｅｄｉｃｉｌｏｎから市販されているものを入手し、そのまま使用した。化合物１－１はまた、国際特許出願公開ＷＯ２０１５／０８１２８２、ＷＯ２０１５／１８７４２８、及びＡｌｂｅｒｓ，ｅｔ ａｌ．Ｅｕｒ．Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．２０１４，８３：３－９に開示される合成手順に従っても調製することが可能であり、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。モノメチルアウリスタチンＦ（ＭＭＡＦ）を商業的供給源から入手し、精製することなく使用した。
【０５５７】
ＤＩＰＥＡ（３５μＬ、０．２ｍｍｏｌ）に次いでＨＡＴＵ（３０ｍｇ、０．０８ｍｍｏｌ）を、０．６ｍＬの無水ＤＭＦ中の化合物１－１（９０ｍｇ、０．０９ｍｍｏｌ）の溶液に室温で加えた。得られた混合物を３０分間撹拌し、ＭＭＡＦ（５０ｍｇ、０．０７ｍｍｏｌ）と合わせた。反応混合物を室温で２時間撹拌し、逆相クロマトグラフィー（Ｃ１８、４０～１００％のアセトニトリル水＋０．０５％のＴＦＡ）によって直接精製して、９８ｍｇの中間体１２－１（０．０６ｍｍｏｌ、８６％の収率）を黄色油状物として得た。白色の固体のＬＲＭＳ（ＥＳＩ）分析が、$C_{98}H_{128}N_{10}O_{17}$について予想されるように、ｍ／ｚ１７１７．７［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$にピークを明らかにした。
【０５５８】
ピペリジン（４０μＬ、０．４ｍｍｏｌ）を、室温で０．８ｍＬの無水ＤＭＡ中の中間体１２－１（９８ｍｇ、０．０６ｍｍｏｌ）の溶液に添加した。３０分後、反応混合物を逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８カラム、１０～７０％アセトニトリル－水＋０．０５％ＴＦＡ）によって直接精製した。純粋画分を合わせ、凍結乾燥して、４５ｍｇのリンカー－薬物ＶＩｂ－１２（０．０３ｍｍｏｌ、収率５０％）を白色固体として得た。白色の固体のＬＲＭＳ（ＥＳＩ）分析が、$C_{69}H_{108}N_{10}O_{15}$について予想されるように、ｍ／ｚ１３１７．８［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$にピークを明らかにした。
【０５５９】
４．リンカーペイロードＶＩｂ－８２の合成。
【０５６０】
リンカー－薬物ＶＩｂ－８２の合成を図４のスキーム４に示す。
【０５６１】
化合物８－１及び２，３，４，５，６－ペンタフルオロフェノールはＳｈａｎｇｈａｉ Ｍｅｄｉｃｉｌｏｎから商業的に入手し、そのまま使用した。モノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）をＢｒｏａｄＰｈａｒｍ（Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ，ＵＳＡ）から購入した。他の全ての試薬は、商業的供給源から購入し、更に精製せずに使用した。
【０５６２】
化合物８－１（１．３３ｇ、１．６７ｍｍｏｌ）を、６．５ｍＬの無水ＤＭＦ中で２，３，４，５，６－ペンタフルオロフェノール（１．２３ｇ、６．６８ｍｍｏｌ）と混合した。この混合物を、１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド（「ＥＤＣＩ－ＨＣｌ」、０．６４ｇ、３．３４ｍｍｏｌ）で室温にて一度に処理し、ＨＰＬＣ分析によって証明されるように、化合物８－１が完全に消費されるまで２０時間撹拌した。反応混合物をＣ１８カラム（ＢＩＯＴＡＧＥ（登録商標）、６０ｇサンプルあり）にロードし、ＡＣＮ／水＋０．０５％ＴＦＡの０～８０％勾配（１０カラム体積）で溶出した。純粋な画分を合わせ、ロータリーエバポレーターでわずかに濁るまで濃縮し、凍結乾燥して、中間体８－２（１．４０ｇ、１．４６ｍｍｏｌ、収率８７％）を黄褐色の粉末として得、これを窒素下でさらに使用するまで－２０℃で保存した。黄褐色の粉末のＬＲ

ＭＳ（ＥＳＩ）分析では、$C_{44}H_{45}F_5N_6O_{11}S$の予想通り、ｍ／ｚ９６１．２［Ｍ＋Ｈ］$^+$にピークが明らかになった。

【０５６３】

２０ｍＬのガラスバイアル中で、ＭＭＡＥ（７２０ｍｇ、１．０ｍｍｏｌ）、５ｍＬの無水ＤＭＦ、及び０．３５ｍＬのＤＩＰＥＡ（２．０ｍｍｏｌ）を室温で合わせた。得られた混合物を撹拌し、化合物８－３（１０１４ｍｇ、１．０ｍｍｏｌ）を固体として数回に分けて処理し、続いてＨＯＡｔ（１３６ｍｇ、１．０ｍｍｏｌ）を室温で一度に加えた。ＨＰＬＣ分析によって証明されるように、反応が完了するまで反応混合物を６時間撹拌した。反応混合物を３０ｍＬの水に注ぎ入れた。得られた白色沈殿物を回転によって分離し、収集し、５ｍＬの水で洗浄し、高真空下で簡単に乾燥させて、１．８７ｇの中間体８－４を黄色の固体として得、これを精製することなく以下の開示に従ってさらに反応させた。

【０５６４】

１５ｍＬのＴＨＦ中の中間体８－４（１．８７ｇ）の溶液を、氷浴中で０℃まで冷却し、１Ｍの水酸化リチウム水溶液（３ｍＬ）でゆっくりと処理した。反応混合物を０℃で３時間撹拌し、次いで、周囲温度まで温め、３ｍＬの１Ｍ水酸化リチウム水溶液で処理し、３ｍＬのメタノールで希釈した。得られた混合物を、ＨＰＬＣ分析によって証明されるように、加水分解が完了するまで室温で３時間撹拌した。次いで、１Ｍ　ＨＣｌ水溶液を加えて反応をクエンチして、反応混合物をｐＨ７にした。次いで、反応混合物を減圧下で濃縮し、１０ｍＬのメチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（「ＭＴＢＥ」）で洗浄した。その水層を逆相クロマトグラフィー（Ｃ１８カラム、０～４０％のアセトニトリル－水＋０．０５％のＴＦＡ）によって精製した。純粋な生成物画分を合わせ、減圧下で濃縮し、凍結乾燥して、中間体８－５を白色の粉末（７３５ｍｇ、０．６０ｍｍｏｌ、２ステップで６０％収率）として得た。白色粉末のＬＲＭＳ（ＥＳＩ）分析は、$C_{61}H_{96}N_8O_{18}$について予想されるように、ｍ／ｚ１２２９．７［Ｍ＋Ｈ］$^+$にピークを明らかにした。

【０５６５】

ＤＩＰＥＡ（０．２１ｍＬ、１．２ｍｍｏｌ）、及び２ｍＬのＤＭＡ中の中間体８－２（５７５ｍｇ、０．６０ｍｍｏｌ）の溶液を、室温で３ｍＬの無水ＤＭＡ中の中間体８－５（７３５ｍｇ、０．６０ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に加えた。次いで、１－ヒドロキシ－７－アザベンゾトリアゾール（「ＨＯＡｔ」、８４ｍｇ、０．６０ｍｍｏｌ）を加えた。得られた混合物を、ＨＰＬＣによって証明されるように、カップリングが完了するまで３０分間撹拌した。次いで、反応混合物を室温で１．２ｍＬのピペリジンで処理した。１５分後、反応混合物を逆相クロマトグラフィー（Ｃ１８カラム、アセトニトリル－水の０～４０％勾配）によって精製した。純粋画分を合わせ、減圧下及び室温下で濃縮し、凍結乾燥して、リンカー－薬物ＶＩｂ－８２（８０８ｍｇ、０．４５ｍｍｏｌ、７５％収率）を白色の綿毛状粉末として得た。白色の粉末のＬＲＭＳ（ＥＳＩ）分析は、$C_{84}H_{130}N_{14}O_{26}Sm/z$について予想されるように、１７８３．９［Ｍ＋Ｈ］$^+$にピークを明らかにした。

【０５６６】

５．リンカーペイロードＶＩｂ－８１の合成。

【０５６７】

リンカー－薬物ＶＩｂ－８１の合成を図５のスキーム５に示す。

【０５６８】

３－ヒドロキシ－４－ニトロベンズアルデヒド（２０４ｍｇ、１．２２ｍｍｏｌ）及びアセトブロモ－α－Ｄ－ガラクトース（５００ｍｇ、１．２２ｍｍｏｌ）を２０ｍＬの無水アセトニトリルとともに５０ｍＬの丸底フラスコ内で合わせた。この溶液を酸化銀（Ｉ）（９８６ｍｇ、４．３ｍｍｏｌ）で処理し、得られた混合物を室温で暗所にて２４時間激しく撹拌した。反応混合物を真空下で濃縮した後、残渣を、酢酸エチル－ヘキサン混合物を溶離液（０～１００％勾配）として使用してシリカゲル上で精製して、４２０ｍｇ（０．８５ｍｍｏｌ、７０％収率）の（２Ｒ，３Ｓ，４Ｓ，５Ｒ，６Ｓ）－２－（アセトキ

シメチル）－６－（２－アミノ－５－（ヒドロキシメチル）フェノキシ）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３，４，５－トリイルトリアセテートを淡黄色がかった固体として得た。黄色固体のＬＲＭＳ（ＥＳＩ）分析は、$C_{21}H_{23}NO_{13}$について予想されるように、５２０．０［Ｍ＋Ｎａ］$^{+}$にピークを明らかにした。

【０５６９】

パラジウム炭素（３０ｍｇ、１０重量％）及び３０μＬのトリメチルアミンを、３ｍＬの酢酸エチル中の（（２Ｒ，３Ｓ，４Ｓ，５Ｒ，６Ｓ）－２－（アセトキシメチル）－６－（５－ホルミル－２－ニトロフェノキシ）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３，４，５－トリイルトリアセテート（３５０ｍｇ、０．７０ｍｍｏｌ）の溶液に添加した。空気を除去した後、フラスコに水素バルーンを装着し、反応混合物を室温で４８時間撹拌した。セライトのパッドを通して濾過した後、溶媒を真空下で除去し、得られた残渣を高真空下で乾燥させて、３００ｍｇの（２Ｒ，３Ｓ，４Ｓ，５Ｒ，６Ｓ）－２－（アセトキシメチル）－６－（２－アミノ－５－（ヒドロキシメチル）フェノキシ）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３，４，５－トリイルトリアセテートを白色固体として調製し、これをさらに精製することなく合成にさらに使用した。白色の固体のＬＲＭＳ（ＥＳＩ）分析は、$C_{21}H_{27}NO_{11}$について予想されるように、４７０．１［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$でのピークを明らかにした。

【０５７０】

Ｂｏｃ－Ｌ－アラニン（２２０ｍｇ、１．１１ｍｍｏｌ）及び（２Ｒ，３Ｓ，４Ｓ，５Ｒ，６Ｓ）－２－（アセトキシメチル）－６－（２－アミノ－５－（ヒドロキシメチル）フェノキシ）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン３，４，５－トリイルトリアセテート（５２０ｍｇ、１．１６ｍｍｏｌ）を５ｍＬの無水ジクロロメタン及び０．５０ｍＬの無水メタノール中で混合した。得られた溶液を室温でＮ－エトキシカルボニル－２－エトキシ－１，２－ジヒドロキノリン（「ＥＥＤＱ」、２８０ｍｇ、１．１３ｍｍｏｌ）で処理した。反応混合物を暗所で１時間撹拌し、その後、溶媒を真空中で除去した。得られた中間体８－７を、高真空下で１時間乾燥させ、室温で６ｍＬのＴＦＡとＤＣＭの１：１の混合物に溶解した。溶液を１時間静置させた後、溶媒を除去し、得られた中間体８－８を高真空下で数時間保持した。

【０５７１】

別の２０ｍＬのシンチレーションバイアル中で、Ｆｍｏｃ－Ｌ－バリン（３７５ｍｇ、１．１ｍｍｏｌ）をＨＡＴＵ（４２０ｍｇ、１．１ｍｍｏｌ）及び３ｍＬの無水ＤＭＦ中のＤＩＰＥＡ（３７５μＬ、２．１５ｍｍｏｌ）で混合した。混合物を室温で３０分間撹拌し、中間体８－８と合わせ、反応が完了するまで一晩撹拌した（ＬＣＭＳ分析によって証明される）。反応混合物を逆相Ｃ１８カラム（CH_3CN-H_2O／０．０５％ＴＦＡ、０～８０％勾配）で直接精製して、中間体８－９を少量の不純物を含む混合物として得た。生成物を高真空下で完全に乾燥させ、追加の精製なしに次の工程に供した。

【０５７２】

中間体８－９を６ｍＬの無水ＤＣＭ中に溶解させ、ＤＩＰＥＡ（３７５μＬ、２．１５ｍｍｏｌ）、続いて６８６ｍｇ（２．２６ｍｍｏｌ）のビス（４－イントロフェニル）カーボネートで室温で一度に処理した。反応混合物を１時間撹拌してから、溶媒を真空下で除去した。得られた残渣をシリカゲルでのカラムクロマトグラフィー（ＥｔＯＡｃ－ヘキサン、１０～１００％勾配）によって精製して、中間体８－１０（６４０ｍｇ、０．６２ｍｍｏｌ、４ステップで収率５６％）を黄色がかった固体として得た。中間体のＬＲＭＳ（ＥＳＩ）分析により、$C_{51}H_{54}N_4O_{19}$について予想されるように、１０４９．３［Ｍ＋Ｎａ］$^{+}$にピークが明らかになった。

【０５７３】

４－（メチルアミノ）ブタン酸（６１ｍｇ、０．５２ｍｍｏｌ）、６１μＬ（０．３５ｍｍｏｌ）のＤＩＰＥＡ、及び１ｍＬの無水ＤＭＦを２０ｍＬのシンチレーションバイアルに加えた。得られた溶液を、１８０ｍｇ（０．１７５ｍｍｏｌ）の中間体８～１０と室温で合わせた。反応混合物を、中間体８～１０が完全に消費されるまで（ＬＣＭＳ分析に

よって証明されるように）１時間撹拌した。溶媒を真空下で除去し、残渣を３ｍＬのメタノール中に溶解させた。得られた溶液を０℃まで冷却し、３ｍＬの１Ｍ水酸化リチウム水溶液で処理した。反応混合物を周囲温度で３０分撹拌し、室温まで加温し、次に真空下で濃縮した。その残渣を逆相Ｃ１８カラム（CH_3CN-H_2O／０．０５％ＴＦＡ、０～５０％勾配）で直接精製して、９０ｍｇ（０．１４６ｍｍｏｌ、２ステップで８３％収率）の中間体８－１１を黄色油状物として得た。油のＬＲＭＳ（ＥＳＩ）分析は、$C_{27}H_{42}N_4O_{12}$で予想されるように、６１５．３［Ｍ＋Ｈ］$^+$でのピークを明らかにした。

【０５７４】

中間体８－１１（８４ｍｇ、０．１４ｍｍｏｌ）、１ｍＬの無水ＤＭＦ、及びＤＩＰＥＡ（４８μＬ、０．２８ｍｍｏｌ）を２０ｍＬのシンチレーションバイアルに添加し、続いて１３０ｍｇ（０．１４ｍｍｏｌ）の中間体８－２を添加した。得られた混合物を、カップリングが完了する（ＬＣＭＳ分析によって証明される）まで３０分間撹拌した。マイタンシン（８９ｍｇ、０．１４ｍｍｏｌ）を０．５ｍＬのＤＭＦ中の溶液として反応混合物に直接添加し、続いてＨＡＴＵ（５２ｍｇ、０．１４ｍｍｏｌ）を添加した。３０分後、反応混合物を逆相Ｃ１８カラム（CH_3CN-H_2O／０．０５％ＴＦＡ、１０～９５％勾配）で精製した。溶媒を完全に除去した後、得られた中間体８を３ｍＬのＤＭＦ中に溶解させ、室温で１５０μＬのピペリジンで処理した。３０分後、反応混合物を逆相分取ＨＰＬＣ（Ｃ１８カラム、CH_3CN-H_2O／０．０５％ＴＦＡ、０～５０％勾配）で直接精製した。純粋画分を凍結乾燥して、５８ｍｇ（０．０３２ｍｍｏｌ、３ステップで２３％収率）のリンカー－薬物ＶＩｂ－８１を得た。凍結乾燥固体のＬＲＭＳ（ＥＳＩ）分析は、$C_{82}H_{118}ClN_{13}O_{28}S$について予想されるように、１８０１．８［Ｍ＋Ｈ］$^+$でのピークを明らかにした。

【０５７５】

Ｃ．５Ｔ４　ＡＤＣのバイオコンジュゲーション

【０５７６】

アルデヒドタグ付き抗体（１５ｍｇ／ｍＬ）を、合成されたリンカー薬物（８ｍｏｌ当量の薬物：抗体）に、リンカー薬物及びアルデヒドタグ付き抗体を２０ｍＭクエン酸ナトリウム、ｐＨ５．５、０．８５％のＤＭＡを含む５０ｍＭの塩化ナトリウム中、３７℃で７２時間反応させることによってコンジュゲートした。場合によっては、リンカー－薬物の溶解度を改善するために、０．２５のＴＸ－１００及び／または最大１０％体積／体積のＤＭＡを添加した。コンジュゲーション後、残留する遊離薬物を、３０ｋＤａ　ＴＦＦカセット（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ、カタログ番号Ｐ３Ｃ０３０Ｃ００）を備えた１５Ｖ　Ｌａｂスケールタンジェント流ろ過（ＴＦＦ）システム（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ、カタログ番号ＸＸ４２ＬＳＳ１１）を使用したダイアフィルトレーションで除去し、２０ｍＭのクエン酸ナトリウム、ｐＨ５．５、５０ｍＭのＮａＣｌに、１２ダイア容量（６００ｍＬ）を交換した。あるいは、残留する遊離薬物を、２０ｍＭのクエン酸ナトリウム、ｐＨ５．５、５０ｍＭの塩化ナトリウムへの複数回の希釈、及びＡＭＩＣＯＮ（登録商標）０．５ｍＬ　３０ｋＤ分子量カットオフ（ＭＷＣＯ）遠心フィルター（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ　Ｓｉｇｍａ、カタログ番号ＵＦＣ５０３０ＢＫ）またはＺＥＢＡ（登録商標）脱塩カラム（Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、カタログ番号ＰＩ８７７６６）を使用して濃縮して除去した。最終生成物の薬物対抗体比（ＤＡＲ）を決定するために、抗体薬物複合体を分析疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）またはポリマー逆相クロマトグラフィー（ＰＬＲＰ）によって調べた。ＨＩＣカラム（Ｔｏｓｏｈ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、カタログ番号１４９４７）を、移動相Ａとして１．５Ｍの硫酸アンモニウム及び２５ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ７．０）、ならびに移動相Ｂとして２５％のイソプロパノール及び１８．７５ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ７．０）で実行した。ＰＬＲＰカラム（Ａｇｉｌｅｎｔ、カタログ番号ＰＬ１９１２－１８０２）を移動相ＡとしてH_2O中０．１％トリフルオロ酢酸、及び移動相Ｂとして０．１％トリフルオロ酢酸のCH_3CN溶液を用いて、カラムを８０℃に加熱して、分析した。凝集を判定するために、試料を分析サイズ排除クロマトグラフィー（Ｔｏｓｏｈ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、カタログ番号０

８５４１）を使用し、移動相３００ｍＭ　ＮａＣｌ、２５ｍＭリン酸ナトリウム、及び５％イソプロパノール（ｐＨ６．８）を用いて分析した。

【０５７７】

Ｄ．ＡＤＣの特性評価：最終的なＡＤＣ生成物を特性評価するために、以下の分析を行った。

【０５７８】

１．融解温度分析

【０５７９】

タンパク質サーマルシフト実験（融解温度）用の試料を、ＡＰＰＬＩＥＤ　ＢＩＯＳＹＳＴＥＭＳ（商標）ＰＲＯＴＥＩＮ　ＴＨＥＲＭＡＬ　ＳＨＩＦＴ（商標）Ｄｙｅキット（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃカタログ番号４４６１１４６）を使用して調製した。データは、ＰＲＯＴＥＩＮ　ＴＨＥＲＭＡＬ　ＳＨＩＦＴ（商標）ソフトウェアｖ１．４（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃカタログ番号４６６０３８）を備えたＱＵＡＮＴＳＴＵＤＩＯ（商標）３　ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃカタログ番号Ａ２８５６７）を使用して収集した。簡潔に述べると、ＰＲＯＴＥＩＮ　ＴＨＥＲＭＡＬ　ＳＨＩＦＴ（商標）色素（１０００倍）を水中で希釈して、脱イオン水中で８倍にした。５μＬのＰＲＯＴＥＩＮ　ＴＨＥＲＭＡＬ　ＳＨＩＦＴ（商標）緩衝液、１２．５μＬのタンパク質溶液、及び２．５μＬの希釈ＰＲＯＴＥＩＮ　ＴＨＥＲＭＡＬ　ＳＨＩＦＴ（商標）色素（８倍）を混合して、総反応溶液量２０μＬにすることにより、試料を氷上で調製した。反応溶液をピペットで１０回混合した。次いで、チューブを１０００ｒｐｍで１分間遠沈させ、次いで、分析まで氷上でインキュベートした。試料を装置プレートにロードし、次にこれをＱＵＡＮＴＳＴＵＤＩＯ（商標）３リアルタイムＰＣＲシステム装置にロードした。以下の条件での標準的な融解曲線実験を使用して、データを収集した：ステップ１温度：２５℃で２分間、ステップ２温度：９９℃で２分間、連続高速ランプモード（ステップ１：１．６℃／秒、ステップ２：０．０５℃／秒）。生の融解温度データをＱＵＡＮＴＳＴＵＤＩＯ（商標）３分析ソフトウェア内で逆畳み込み処理した。下記の表８は、ＡＤＣの各々の測定された融解温度を報告する。

【表８】

表８．ＡＤＣの融解温度

mAb または ADC	CH2 T_m	Fab T_m
mAbA4 WT	69.18	89.94
mAbA15 WT	70.07	86.38
mAbA17 WT	70.06	81.92
mAbA4-VIa-11	69.03	89.63
mAbA15-VIa-11	69.34	89.95
mAbA17-VIa-11	69.04	80.9
mAbA4-VIb-82	69.3	89.59
mAbA15-VIb-82	69.74	86.04
mAbA17-VIb-82	69.46	80.87
mAbA15-VIb-12	69.48	85.94

【０５８０】

２．薬物対抗体比（ＤＡＲ）。ＵＶ／Ｖｉｓ検出による分析疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）（Ｔｏｓｏｈ＃１４９４７）。最終生成物の還元形態を、ＵＶ／Ｖｉ

ｓ検出を用いた逆相液体クロマトグラフィー（ＲＰ－ＨＰＬＣ）（Ａｇｉｌｅｎｔカタログ番号ＰＬ１９１２－１８０２）によって分析して、ＤＡＲを検証した。ＲＰクロマトグラフィーも、重鎖のみが修飾され、修飾は１つしかないことを検証するデータを提供した。下記の表９は、試験した各ＡＤＣのＤＡＲを報告する。

【表９】

表９．ＡＤＣにおける薬物対抗体の測定値

抗体	リンカー－ペイロード				
	VIa-21	VIa-11	VIb-12	VIb-82	VIb-81
mAbA4	1.8	1.8	-	1.8	-
mAbA15	1.8	1.9	1.9	1.9	1.9
mAbA17	1.9	1.8	-	1.8	-

【０５８１】

上記で特定した各分析方法の特定のプロトコルを以下にさらに詳述する。

【０５８２】

分析疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）：試料を、２５℃に保持されたＴｏｓｏｈ製（＃１４９４７）の４．６ｍｍ×３５ｍｍＴＳＫゲルブチルＮＰＲカラムを装着したＡｇｉｌｅｎｔ１１００　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔで分析した。２０μＬの５０ｍＭＮａＣｌ（ｐＨ５．５）及び２０μＬの移動相Ａを２０μｇの試料に加えることによって試料を調製し、室温で注入した。プログラム内で移動相Ａ（２５ｍＭのNa_3PO_4、１．５Ｍ（NH_4）$_2SO_4$、ｐＨ７．０）及び移動相Ｂ（１８．７５ｍＭのNa_3PO_4、ｐＨ７．０、２５％イソプロピルアルコール）を利用した勾配溶出は表１０に報告されているが、流速は１．０ｍＬ／分であった。検出は、２１５ｎｍ、２５２ｎｍ、及び２８０ｎｍのＵＶによるものであった。

【表１０】

表１０．ＨＩＣ分析のための勾配溶出プログラム

時間(分)	移動相 B(%)
0.0	12
5.5	42
7.5	70
8.5	100
9.5	100
10	12
12	12

【０５８３】

逆相ＨＰＬＣ：Ａｇｉｌｅｎｔ製の５０×２．１ｍｍ　ＰＬ１９１２－１８０２（８μｍ、１０００Å）カラムを備えたＡｇｉｌｅｎｔ　１１００　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔで試料を８０℃に保持して分析した。２０μｇの試料に、１０μＬの、０．５ｍＭのＤＴＴ、５０μＬの８ＭのグアニジンＨＣ、１３０ｍＭトリス、及び１ｍＭのＥＤＴＡ（ｐＨ７．６）の混合物を加え、１００μＬの最終体積になるようにＰＢＳを加えることで試料を調製した。調製後、試料を３７℃で３０分間インキュベートした。試料を２５％アセトニト

リル＋０．１％ＴＦＡ中、２．０ｍＬ／分の流速で溶出させ、２１５ｎｍ、２５２ｎｍ、及び２８０ｎｍのＵＶを介して検出した。

【０５８４】

サイズ排除ＨＰＬＣ：試料を、２５℃に保持されたＴｏｓｏｈ（＃０８５４１）製の７．８ｍｍ×３００ｍｍ　Ｇ３００　ＳＷ　ＸＬカラムを備えたＡｇｉｌｅｎｔ　１１００　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔで分析した。試料（１ｍｇ／ｍＬ、２０μｇ）を室温で注入し、２５ｍＭのＮａＰＯ４緩衝液、３００ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ６．８中で、１．０ｍＬ／分の流速で溶出し、２１５ｎｍ、２５２ｎｍ及び２８０ｎｍのＵＶを介して検出した。

【０５８５】

ＬＣ－ＭＲＭ／ＭＳ：この方法は、ＡＤＣの調製時にＲＰ－ＨＰＬＣ－ＭＲＭによって生成されたリンカー－薬物及びその既知の修飾のシグナルを、較正標準としてリンカー－薬物、及び内部標準としてジブカイン－ＨＣｌを使用した内部標準曲線と比較することによって、リンカー－薬物の遊離薬物濃度を決定する。

【０５８６】

標準曲線は、０．４５７ｎＭ～１０００ｎＭの範囲の試料を使用して作成した。リンカー－薬物の１０００ｎＭの標準物質は、１００μＭのリンカー－薬物０．７５μＬを７４．２５μＬのマトリックスに添加し、ピペット吸引（１０倍）を介して混合することによって調製した。調製した標準物質を－８０℃で保存した。標準物質を、２５μＬ～５０μＬのマトリックスに添加し、ピペット吸引（１０倍）によって混合し、ボルテックスすることによって１：３に希釈し、３３３．３３ｎＭの標準物質を生成した。同様に、３３３．３３ｎＭの標準物質２５μＬをマトリックス５０μＬで希釈することにより、１１１．１１ｎＭの標準物質を生成した。同様の方法でさらに希釈を行い、以下の濃度、１０００、３３３．３３、１１１．１１、３７．０４、１２．３５、４．１２、１．３７、及び０．４６ｎＭの８つの標準物質を得た。

【０５８７】

ＡＤＣ（５０μＬ）を８本の遠心チューブのそれぞれに加えた。内部標準物質（１５０μＬ）をそれぞれに添加して、それぞれ異なる濃度のリンカー－薬物を含む、各遠心分離チューブで２００μＬの最終体積を作成した。全ての遠心分離チューブを５分間ボルテックスした後、タンパク質が変性及び沈殿したため溶液が濁り、溶液中に遊離薬物が残った。全ての試料を氷上で３０分間インキュベートして沈殿を補助し、その後再度１０分間ボルテックス処理した。

【０５８８】

沈殿したｍＡｂを分離するために、各試料を遠心分離した（１０分、１５、０００×ｇ）。上清（７５μＬ）を除去し、オートサンプラーバイアルに入れ、７５μＬの水で希釈した。以下のＨＰＬＣ／ＭＳ法を使用して、各試料を三連で実行した。

【０５８９】

試料は、５０℃に保持されたＡｇｉｌｅｎｔ製２．１×１００ｍｍＺＯＲＢＡＸ（登録商標）ＲＲＨＤ　Ｅｃｌｉｐｓｅ　Ｐｌｕｓ　Ｃ１８カラム（９５Å、１．８μｍ）を備えたＡｇｉｌｅｎｔ１１００　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔで分析した。試料（１ｍｇ／ｍＬ、２０μｇ）を室温で注入し、１％アセトニトリル＋０．１％ＴＦＡ中を０．５ｍＬ／分の流速で溶出した。質量分析を検出に使用した。

【０５９０】

質量分析法は、ＳＣＩＥＸのＡｎａｌｙｓｔソフトウェアの「化合物最適化」機能を使用して作成した。機器は、分子のＭＲＭ遷移のセットを出力し、次にこれをＬＣ－ＭＳ法に使用した。ジブカインのＭＲＭ遷移も「化合物最適化」を使用して生成した。

【０５９１】

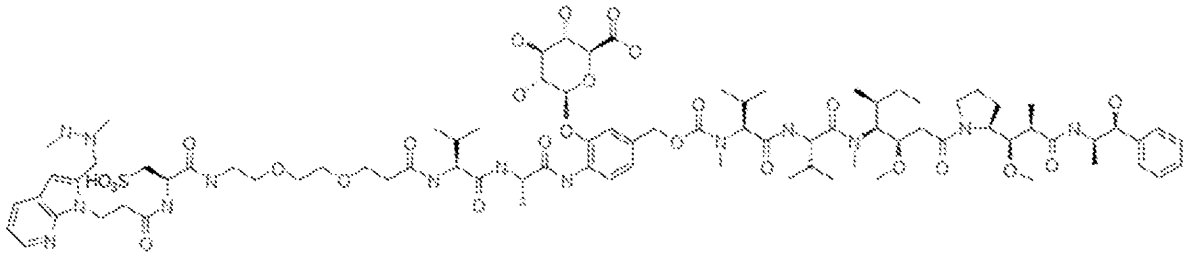
以下の表１１に特定した遷移を使用して、リンカー－薬物ＶＩｂ－８２の遊離濃度を決定する（これは質量分析計に基づいて異なり得る）。遊離ＶＩａ－２１、ＶＩｂ－１２、及びＶＩａ－１１の濃度を決定するために、同様の遷移を使用した。各遷移種のアイデンティティーを以下の表１１に示す。

【表１１】

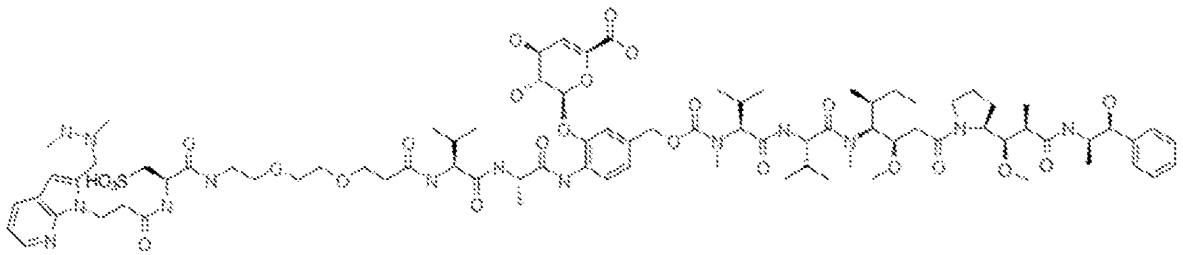
表１１リンカーペイロードＶＩｂ－８２の遊離濃度を決定するための遷移種

Q1(Da)	Q3(Da)	時間 (ms)	遷移種	DP (ボルト)	CE (ボルト)	CXP (ボルト)
892.536	718.2	30	VIb-82 親	1	29	26
892.536	501.1	30	VIb-82 親	1	35	18
892.536	725	30	VIb-82 親	1	29	26
898.527	718.2	30	VIb-82+12Da	1	29	30
898.527	737.1	30	VIb-82+12Da	1	29	12
898.527	513	30	VIb-82+12Da	1	39	54
883.684	718.1	30	VIb-82-18Da	136	31	30
883.684	501	30	VIb-82-18Da	136	37	20
883.684	725	30	VIb-82-18Da	136	27	12
343.968	271.1	10	IS	31	29	24
343.968	215.1	10	IS	31	39	16

【化１２１－１】

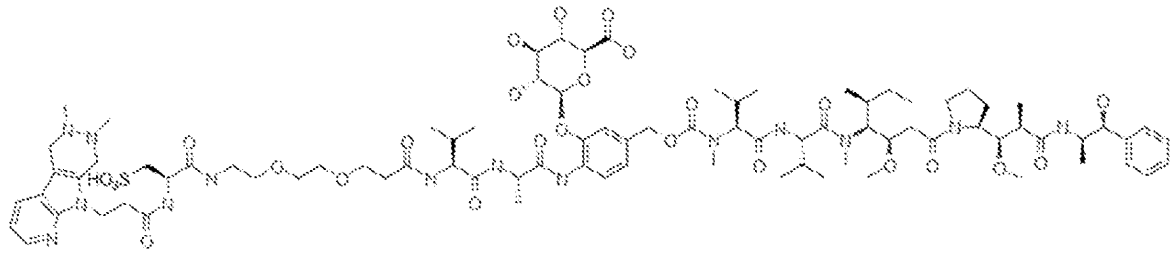


ＶＩｂ－８２、親、$C_{84}H_{130}N_{14}O_{26}S$
一同位体質量：１７８２．９００１

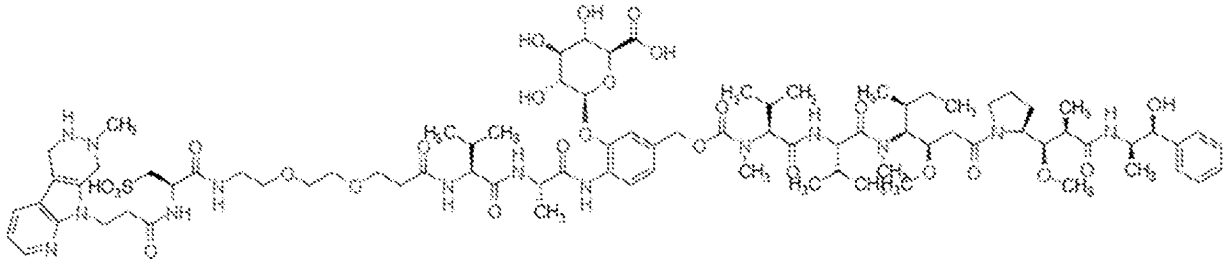


ＶＩｂ－８２、－１８Ｄａ、$C_{84}H_{128}N_{14}O_{25}S$
一同位体質量：１７６４．８８９６

【化１２１－２】



ＶＩｂ－８２、＋１２Ｄａ、$C_{85}H_{130}N_{14}O_{26}S$
一同位体質量：１７９４．９００１



ＶＩｂ－８２、－２Ｄａ、$C_{84}H_{128}N_{14}O_{26}S$
一同位体質量：１７８０．８８４５

【０５９２】
遊離薬物パーセントを算出するために、線形検量線を作成した。質量分析法で同定された各遷移は、独自のクロマトグラムを生成する。各遷移のピークをすべての標準について統合して、ピーク面積を求めた。「親」、「－１８Ｄａ」、及び「＋１２Ｄａ」を含む全ての遷移のピーク面積を合計して、「ＶＩｂ－８２面積」の値を生成した。同様に、内部標準のすべての遷移のピーク面積を追加して、「ＩＳ面積」値を生成した。ＩＳ面積に対するＶＩｂ－８２面積の比を計算し、ｘ軸を濃度、ｙ軸を比にして散布図を生成した。プロットされたデータから傾向線を生成し、その傾向線の式のｘインターセプトはＡＤＣの濃度であった。遊離薬物％を、以下の式を使用して算出した：
【数１】

$$\text{遊離薬物}\% = \frac{\text{相対薬物濃度}}{\text{総ＡＤＣ濃度}} \times １００\%$$

【０５９３】
実施例７：非コンジュゲート抗体のヒト５Ｔ４への結合（ＥＬＩＳＡ）
Ａ．通常の結合非コンジュゲート抗体を、ＥＬＩＳＡを使用して、ヒト５Ｔ４（ｈｕ５Ｔ４）に結合するそれらの能力に関して試験した。１日目に、ｃ末端ポリヒスチジン及びＡｖｉ（ＡＶＩＴＡＧ（商標））タグ（ＡｃｒｏＢｉｏｓｙｓｔｅｍｓ（Ｎｅｗａｒｋ，ＤＥ，ＵＳＡ）、カタログ番号ＴＰＧ－Ｈ５２Ｅ５）を有する非コンジュゲートヒトＴＰＢＧ／５Ｔ４タンパク質を、ＰＢＳで２μｇ／ｍＬに希釈し、完全に混合し、９６ウェルプレート（Ｎｕｎｃ　ＭＡＸＩＳＯＲＰ（登録商標））に１ウェル当たり１００μＬをプレ

ートし、４℃で一晩インキュベートした。

【０５９４】

２日目に、プレートを０．１％のＴｗｅｅｎ（登録商標）－２０を含むＰＢＳ（「ＰＢＳ－Ｔ」）で４回洗浄した。ウェルを２００μＬのＰＢＳ中のカゼイン（ＢＬＯＣＫＥＲ（商標）カゼイン、ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃから入手可能）でブロックし、振盪しながら室温で２時間インキュベートした。

【０５９５】

ＩｇＧ－ＡＤＣの１：３希釈系列をＰＢＳ中に調製し、９６ウェルプレートの１ウェル当たり１００μＬの体積で添加した。プレートを振盪しながら室温で１時間インキュベートした。

【０５９６】

ヤギ抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃガンマ特異的ＨＲＰコンジュゲート（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈ、カタログ番号１０９－０３５－０９８）をＰＢＳで１：１５０００の倍率に希釈した。ＥＬＩＳＡプレートをＰＢＳ－Ｔでプレート洗浄器（ＢＩＯＴＥＫ（登録商標）ＥＬｘ４０５（商標）で６回洗浄し、その後、１００μＬのヤギ抗ヒトＩｇ　ＧＦｃガンマ特異的ＨＲＰコンジュゲートを各ウェルに添加した。プレートを、振盪しながら室温にて３０分間インキュベートした。

【０５９７】

ＥＬＩＳＡプレートをＰＢＳ－Ｔでプレート洗浄器（ＢＩＯＴＥＫ　ＥＬｘ４０５（商標））を使用して６回洗浄した後、１００μＬの３，３’，５，５’－テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）を各ウェルに添加した。プレートを濃青色が見えるようになるまで発色させた。次いで、H_2SO_4（２Ｎ、１００μＬ）を加えて反応をクエンチし、各ウェルの吸光度をプレートリーダー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓから入手可能なＳＯＦＴＭＡＸ（登録商標）Ｐｒｏソフトウェアを備えたＳＰＥＴＲＡＭＡＸ（登録商標）Ｍ５）で読み取った。

【０５９８】

Ｂ．ストレス試験

【０５９９】

１．高ｐＨストレス試験。いくつかの非コンジュゲート抗体を、塩基性（高ｐＨ）条件下でＥＬＩＳＡを使用して、５Ｔ４に結合するそれらの能力について試験した。０．１％ｗ／ｗ　H_2O_2／１ｘＰＢＳ中の１ｍｇ／ｍＬの抗体を暗所で室温で２４～４８時間保存した後、５０ｍＭのメチオニンを添加した。分析前に保管するためにサンプルを凍結させ、分析をパートＡで説明したようにＥＬＩＳＡによって実施した。以下の表１２は、試験した各抗体に対して算出したEC_{50}を報告する。

【表１２】

表１２．高ｐＨ下でのｈｕ５Ｔ４への非コンジュゲート抗体の結合

mAb	条件	EC_{50}(nM)
mAbA4	pH8.5 0 日目	0.120
mAbA4	pH8.5 1 日目	0.127
mAbA4	pH8.5 4 日目	0.114
mAbA4	pH8.5 7 日目	0.128
mAbA4	pH8.5 14 日目	0.136
mAbA15	pH8.5 0 日目	0.134
mAbA15	pH8.5 1 日目	0.128
mAbA15	pH8.5 4 日目	0.133
mAbA15	pH8.5 7 日目	0.143
mAbA15	pH8.5 14 日目	0.131
mAbA17	pH8.5 0 日目	0.153
mAbA17	pH8.5 1 日目	0.174
mAbA17	pH8.5 4 日目	0.150
mAbA17	pH8.5 7 日目	0.158
mAbA17	pH8.5 14 日目	0.167

【０６００】

２．低ｐＨストレス試験。いくつかの非コンジュゲート抗体を、酸性（低ｐＨ）条件下でＥＬＩＳＡを使用して、５Ｔ４に結合するそれらの能力について試験した。２０ｍＭＴｒｉｓ／１０ｍＭ　ＥＤＴＡ中１ｍｇ／ｍＬ～１０ｍｇ／ｍＬの抗体溶液（ｐＨ８．５）を調製し、３７℃で１～２週間保存した。分析前に保管するためにサンプルを凍結させ、分析をパートＡで説明したようにＥＬＩＳＡによって実施した。以下の表１３は、試験した各抗体に対して算出したＥＣ$_{50}$を報告する。

【表１３】

表１３．低ｐＨ下でのｈｕ５Ｔ４への非コンジュゲート抗体の結合

mAb	条件	EC_{50}(nM)
mAbA4	pH5.5 0 日目	0.133
mAbA4	pH5.5 1 日目	0.132
mAbA4	pH5.5 4 日目	0.125
mAbA4	pH5.5 7 日目	0.124
mAbA4	pH5.5 14 日目	0.122
mAbA15	pH5.5 0 日目	0.124
mAbA15	pH5.5 1 日目	0.134
mAbA15	pH5.5 4 日目	0.123
mAbA15	pH5.5 7 日目	0.132
mAbA15	pH5.5 14 日目	0.138
mAbA17	pH5.5 0 日目	0.164
mAbA17	pH5.5 1 日目	0.159
mAbA17	pH5.5 4 日目	0.157
mAbA17	pH5.5 7 日目	0.190
mAbA17	pH5.5 14 日目	0.153

【０６０１】

３．酸化ストレス。いくつかの非コンジュゲート抗体を、酸化的環境においてＥＬＩＳＡを使用して、５Ｔ４に結合するそれらの能力について試験した。２０ｍＭのクエン酸塩／５０ｍＭのＮａＣｌ中１ｍｇ／ｍＬ～１０ｍｇ／ｍＬの抗体溶液をｐＨ５．５で調製し、３７℃で１～２週間保存した。分析前に保管するためにサンプルを凍結させ、分析をパートＡで説明したようにＥＬＩＳＡによって実施した。以下の表１４は、試験した各抗体に対して算出したＥＣ$_{50}$を報告する。

【表１４】

表１４．酸化ストレス下でのｈｕ５Ｔ４への非コンジュゲート抗体の結合

mAb	条件	EC_{50}(nM)
mAbA4	PBS 時間 0	0.182
mAbA4	PBS 時間 24 時間	0.200
mAbA4	PBS 時間 48 時間	0.189
mAbA4	PBS+H_2O_2 時間 0	0.225
mAbA4	PBS+H_2O_2 時間 24 時間	0.393
mAbA4	PBS+H_2O_2 時間 48 時間	0.386
mAbA15	PBS 時間 0	0.229
mAbA15	PBS 時間 24 時間	0.212
mAbA15	PBS 時間 48 時間	0.203
mAbA15	PBS+H_2O_2 時間 0	0.191
mAbA15	PBS+H_2O_2 時間 24 時間	0.190
mAbA15	PBS+H_2O_2 時間 48 時間	0.189
mAbA17	PBS 時間 0	0.198
mAbA17	PBS 時間 24 時間	0.186
mAbA17	PBS 時間 48 時間	0.185
mAbA17	PBS+H_2O_2 時間 0	0.188
mAbA17	PBS+H_2O_2 時間 24 時間	0.183
mAbA17	PBS+H_2O_2 時間 48 時間	0.207

【０６０２】

実施例８．カニクイザル、ラット、及びマウス５Ｔ４に対する非コンジュゲート抗体の交差反応性（ＥＬＩＳＡ及びＯＣＴＥＴ）

非コンジュゲート抗体を、ＥＬＩＳＡ及びＯｃｔｅｔを使用して、非ヒト５Ｔ４－Ｔに結合するそれらの能力に関して試験した。ヒト５Ｔ４抗原の代わりに、組み換えカニクイザル５Ｔ４－Ｆｃ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ，ＵＳＡ）、カタログ番号２２８０－ＴＧ－１００またはＬＳＢｉｏ（Ｓｅａｔｔｌｅ，ＷＡ，ＵＳＡ），カタログ番号ＬＳ－Ｇ１３７１３１のいずれかから供給）、組換えマウス５Ｔ４－Ｆｃ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、カタログ番号５０４９－ＴＧ－１００）、６Ｈｉｓ－ＳＭＯ、Ｎ末端タグを有する組換えラットＴＰＢＧ／５Ｔ４（ＬＳＢｉｏカタログ番号Ｇ５６５９２）、Ｈｉｓ、Ｎ末端タグ（ＬＳＢｉｏ、カタログ番号Ｇ１２１６８）抗原を有する組み換えマウスＴＰＢＧ／５Ｔ４に置き換えて、実施例７に記載のＥＬＩＳＡプロトコルを使用した。Ｏｃｔｅｔ分析では、プロテインＡバイオチップを抗体でコーティングし、ＰＢＳで洗浄し、次いで、上記で特定したように、抗原と反応させた。試験したすべての抗体は、ヒト、カニクイザル、及びラット５Ｔ４に結合した。マウス５Ｔ４に対する有意な結合交差反応性は観察されなかった。

【０６０３】

実施例９．５Ｔ４トランスフェクトＣＨＯ及びＨＥＫ２９３細胞に対する非コンジュゲート抗体の細胞結合

非コンジュゲート抗体を、ヒト、カニクイザル、ラット、またはマウス５Ｔ４を発現する

ようにトランスフェクトしたＨＥＫ２９３及びＣＨＯ細胞に結合する能力について試験した。非トランスフェクト細胞を対照として利用し、非特異的結合を観察した。ｍＡｂＡ４、ｍＡｂＡ１５、及びｍＡｂＡ１７は、ヒト及びカニクイザル５Ｔ４を発現するようにトランスフェクトされたＨＥＫ２９３及びＣＨＯ細胞に反応性であったが、ラットまたはマウス５Ｔ４を発現するようにトランスフェクトされた細胞には反応しなかった。

【０６０４】

実施例１０．５Ｔ４　ＡＤＣのインビトロでの細胞傷害作用

ＭＤＡ－ＭＢ－４６８、ＭＤＡ－ＭＢ－２３１、ＭＣＦ－７、ＮＣＩ－Ｈ２２６、またはＢｘＰＣ３細胞を、Ｃｏｓｔａｒ３６１０プレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ（Ｃｏｒｎｉｎｇ ＮＹ，ＵＳＡ）、ＶＷＲ　Ｃａｔ．ＶＷＲ＃２９４４４－０１０）に１ウェル当たり１５００細胞の密度でプレートし、１００μＬの増殖培地、終夜インキュベートした。試験する各ＡＤＣについて、６倍希釈シリーズを調製した。調製されたＡＤＣ溶液の各々２０μＬを細胞に添加して、１００ｎＭ～０．０２ｎＭの最終希釈範囲を得、５％CO_2にて３７℃で５日間インキュベートした。Ｃｅｌｌ　ＴＩＴＥＲ－ＧＬＯ（登録商標）生存アッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ（Ｍａｄｉｓｏｎ，　ＷＩ，　ＵＳＡ）、カタログ番号Ｇ７５７３）を使用して、細胞の生存率を測定し、未処理（対照）細胞と比較した。

【０６０５】

Ａ．ＶＩａ－１１．図６は、マイタンシンに直接コンジュゲートされたｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－１１、ｍＡｂＡ１７－ＶＩａ－１１、及びｍＡｂＡ１７で処置したＭＤＡ－ＭＢ－４６８細胞の細胞生存率を報告する。図７は、マイタンシンに直接コンジュゲートされたｍＡｂ１５－ＶＩａ－１１、ｍＡｂ１５－ＶＩａ－１１、及びｍＡｂＡ１７で処置したＭＣＦ－７細胞の細胞生存率を報告する。

【０６０６】

Ｂ．ＶＩａ－８２．図８は、ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２、ｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２、アイソタイプ対照、及び遊離ＭＭＡＥで処置したＭＤＡ－ＭＢ－４６８細胞の細胞生存率を報告する。図９は、ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２、ｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２、アイソタイプ対照、及び遊離ＭＭＡＥで処置したＭＣＦ－７細胞の細胞生存率を報告する。図１０は、リンカー薬物ＶＩｂ－８２にコンジュゲートされた様々な抗体で処置したＭＤＡ－ＭＢ－２３１細胞の細胞生存率を報告している。図１１は、リンカー薬物ＶＩｂ－８２にコンジュゲートされた様々な抗体で処置したＮＣＩ－Ｈ２２６細胞の細胞生存率を報告している。以下で提供される図１２は、リンカー薬物ＶＩｂ－８２にコンジュゲートされた様々な抗体で処置したＢｘＰＣ３細胞の細胞生存率を報告している。

【０６０７】

実施例１１．がん異種移植モデルに対する５Ｔ４　ＡＤＣのインビボ有効性

ＭＣＦ－７．１乳癌異種移植モデル。雌ＮＣｒＮＵ／ＮＵマウス（ｎ＝８）に、５０％ＭＡＴＲＩＧＥＬ（登録商標）（Ｃｏｒｎｉｎｇ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）マトリックス中、1×10^7のＭＣＦ－７．１腫瘍細胞を注射した（側腹部）。平均腫瘍体積が１５０～２５０mm^3に達した時点で、マウスをそれぞれの治療群にランダム化し、ビヒクル、アイソタイプ対照、またはＡＤＣの静脈内注射を行った。ＡＤＣは、ＭＣＦ－７．１細胞の注射後１日目及び４日目のいずれかに５ｍｇ／ｋｇの濃度で静脈内注入したか、または１日目にビヒクル、アイソタイプ対照、もしくは被験物質（５ｍｇ／ｋｇ）のいずれかの単回静脈内注射として注入した。本試験の過程を通じて、いずれの投与群でも体重への悪影響はなかった。

【０６０８】

図１３は、ｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－１１及びｍＡｂＡ１７－ＶＩａ－１１で処置したＭＣＦ－７．１異種移植マウスにおける腫瘍退行及び抑制に対する治療の効果を表す。矢印が示すように、マウスは、グラフのｘ軸上の矢印が示すように、１日目及び４日目に静脈内注射を受けた。

【０６０９】

図１４は、ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２及びｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２で処置したＭ

ＣＦ－７．１異種移植マウスにおける腫瘍退行及び抑制に対する治療の効果を表す。矢印が示すように、マウスは、グラフのｘ軸上の矢印が示すように、１日目に単回静脈内注射を受けた。

【０６１０】

図１５は、ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２の３つの異なる用量強度のうちの１つで処置したＭＣＦ－７．１異種移植マウスにおける腫瘍退行及び抑制に対する単回投薬の用量反応効果を表す。矢印が示すように、マウスに、ビヒクル、アイソタイプ対照（５ｍｇ／ｋｇ）、またはＡＤＣ（０．５ｍｇ／ｋｇ、２．５ｍｇ／ｋｇ、または５ｍｇ／ｋｇ）の単回静脈内注射を与えた。図１６は、ｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２で処置したＭＣＦ－７．１異種移植マウスにおける腫瘍退行及び抑制に対する週１回投与の用量反応効果を報告している。矢印が示すように、マウスは、１日目及び８日目に、ビヒクル、アイソタイプ対照（２．５ｍｇ／ｋｇ）またはＡＤＣ（０．２５ｍｇ／ｋｇ、１．２５ｍｇ／ｋｇ、または２．５ｍｇ／ｋｇ）を分割投与された。

【０６１１】

図１７は、ｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２で処置したＭＣＦ－７．１異種移植マウスにおける腫瘍退行及び抑制に対する単回投薬の用量反応効果を報告している。矢印が示すように、マウスに、ビヒクル、アイソタイプ対照（５ｍｇ／ｋｇ）、またはＡＤＣ（０．５ｍｇ／ｋｇ、２．５ｍｇ／ｋｇ、または５ｍｇ／ｋｇ）の単回静脈内注射を与えた。

【０６１２】

図１８は、ｍＡｂＡ１７－ＶＩｂ－８２の３つの異なる用量強度のうちの１つで処置したＭＣＦ－７．１異種移植マウスにおける腫瘍退行及び抑制に対する単回投薬の用量反応効果を表す。矢印が示すように、マウスは、１日目及び８日目に、ビヒクル、アイソタイプ対照（２．５ｍｇ／ｋｇ）またはＡＤＣ（０．２５ｍｇ／ｋｇ、１．２５ｍｇ／ｋｇ、または２．５ｍｇ／ｋｇ）を分割投与された。

【０６１３】

ＭＤＡ－ＭＢ－４６８乳癌異種移植モデル：雌ＳＣＩＤベージュマウス（ｎ＝８）に、５０％ＭＡＴＲＩＧＥＬ（登録商標）（Ｃｏｒｎｉｎｇ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）マトリックス中１×１０^{7}のＭＤＡ－ＭＢ－４６８腫瘍細胞を注射した（側腹部）。平均腫瘍体積が１００～１５０ｍｍ^{3}に達した時点で、マウスをそれぞれの治療群にランダム化し、ビヒクル、５ｍｇ／ｋｇのアイソタイプ対照、または５ｍｇ／ｋｇのＡＤＣの静脈内注射を行った。試験過程を通じていずれの投与群でも体重への悪影響はなかった。

【０６１４】

図１９では、腫瘍退行及び抑制に対するリンカー薬物ＶＩｂ－８２にコンジュゲートされたｍＡｂＡ１５の効果を、リンカー薬物ＶＩｂ－８１にコンジュゲートされたｍＡｂＡ１５の効果と、ＭＭＡＦに直接コンジュゲートされたｍＡｂＡ１５の効果と比較する。グラフのｘ軸上の矢印が示すように、マウスにＡＤＣの静脈内注射を１日目及び４日目に行った。

【０６１５】

ＭＤＡ－ＭＢ－２３１乳癌異種移植モデル：雌ＢａｌｂＣ／ヌードマウス（ｎ＝８）に１×１０^{6}のＭＤＡ－ＭＢ－２３１腫瘍細胞を乳脂肪パッドに接種した。平均腫瘍体積が５０～１５０ｍｍ^{3}に達した時点で、マウスをそれぞれの治療群にランダム化し、ビヒクル、アイソタイプ対照、または５ｍｇ／ｋｇのＡＤＣの静脈内注射を行った。試験過程を通じていずれの投与群でも体重への悪影響はなかった。腫瘍退行及び抑制に対するｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２及びｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－１１の効果を図２０に示す。マウスを実験群に分離した後、１日目及び４日目に、マウスに静脈内注射を行った（グラフのｘ軸の矢印は、ＭＣＦ－７細胞注射後の日数の投与を示す）。

【０６１６】

ＮＣＩ－Ｈ２２６肺癌異種移植モデル：雌ＢａｌｂＣ／ヌードマウス（ｎ＝８）に、１：１のＭＡＴＲＩＧＥＬ（登録商標）マトリックス中、１×１０^{7}のＮＣＩ－Ｈ２２６腫瘍細胞を接種した。平均腫瘍体積が１５０～２５０ｍｍ^{3}に達した時点で、マウスをそれ

ぞれの治療群にランダム化し、ビヒクル、アイソタイプ対照、または５ｍｇ／ｋｇのＡＤＣの静脈内注射を行った。試験過程を通じていずれの投与群でも体重への悪影響はなかった。腫瘍退行及び抑制に対するｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２及びｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－１１の効果を図２１に示す。グラフのｘ軸上の矢印が示すように、マウスに静脈内注射を１日目及び４日目に行った。

【０６１７】

ＢｘＰＣ３膵臓癌異種移植モデル：雌ＢａｌｂＣ／ヌードマウス（ｎ＝８）に、１：１のＭＡＴＲＩＧＥＬ（登録商標）マトリックス中1×10^7のＢｘＰＣ３腫瘍細胞を接種した。平均腫瘍体積が１５０～２５０mm^3に達した時点で、マウスをそれぞれの治療群にランダム化し、ビヒクル、アイソタイプ対照、または５ｍｇ／ｋｇのＡＤＣの静脈内注射を行った。試験過程を通じていずれの投与群でも体重への悪影響はなかった。腫瘍退行及び抑制に対するｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２及びｍＡｂＡ１５－ＶＩａ－１１の効果を図２２に示す。グラフのｘ軸上の矢印が示すように、マウスに静脈内注射を１日目及び４日目に行った。

【０６１８】

Ｃａｌｕ－６肺癌異種移植モデル：雌ＢａｌｂＣ／ヌードマウス（ｎ＝１０）に5×10^6のＣａｌｕ－６腫瘍細胞を含むＰＢＳ接種した。平均腫瘍体積が１５０～２００mm^3に達した時点で、マウスをそれぞれの治療群にランダム化し、ビヒクル、アイソタイプ対照、または１．２５、２．５５、または５ｍｇ／ｋｇのＡＤＣの静脈内注射を行った。これを治療の「１日目」と表した。１日目にマウスに単回静脈内注射を与えた。試験の過程を通じて、いずれの治療群でも体重に有害な影響は及ぼさなかった。腫瘍退行及び抑制に対するｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２の効果を図２３に示す。

【０６１９】

ラット毒性動態（ＴＫ）試験：雄Ｓｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラット（１群当たり３匹）に、上記実施例に記載の通りに生成したｍＡｂＡ１５－ＶＩｂ－８２の５ｍｇ／ｋｇの単回用量を静脈内投与した。K_2ＥＤＴＡで安定化させた血漿を、投薬の０．５時間後、６時間後、２４時間後、２日、４日、７日、１０日、１４日、及び２１日後に回収した。総抗体濃度及び総ＡＤＣ濃度を、２つのＥＬＩＳＡ法によって定量化した。全抗体測定では、コンジュゲートを抗ヒトＩｇＧ特異的抗体で捕捉し、ＨＲＰコンジュゲート抗ヒトＦｃ特異的抗体で検出した。全ＡＤＣ測定では、コンジュゲートを抗ヒトＦａｂ特異的抗体で捕捉し、マウス抗ペイロード一次抗体、続いてＨＲＰコンジュゲート抗マウスＩｇＧサブクラス１特異的二次抗体で検出した。結合した二次抗体を、Ｕｌｔｒａ ＴＭＢ Ｏｎｅ－Ｓｔｅｐ ＥＬＩＳＡ基質（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を使用して検出した。硫酸で反応をクエンチした後、ＳｏｆｔＭａｘ Ｐｒｏソフトウェアを備えたＭｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｅｖｉｃｅｓ Ｓｐｅｃｔｒａ Ｍａｘ Ｍ５プレートリーダーで４５０ｎｍでの吸光度を取得することによって、シグナルを読み取った。ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍ及びＭｉｃｒｏｓｏｆｔ Ｅｘｃｅｌソフトウェアを使用してデータを分析し、図２４Ａ（３０ｍｇ／ｋｇ）、図２４Ｂ（６０ｍｇ／ｋｇ）、及び図２４Ｃ（９０ｍｇ／ｋｇ）にプロットした。

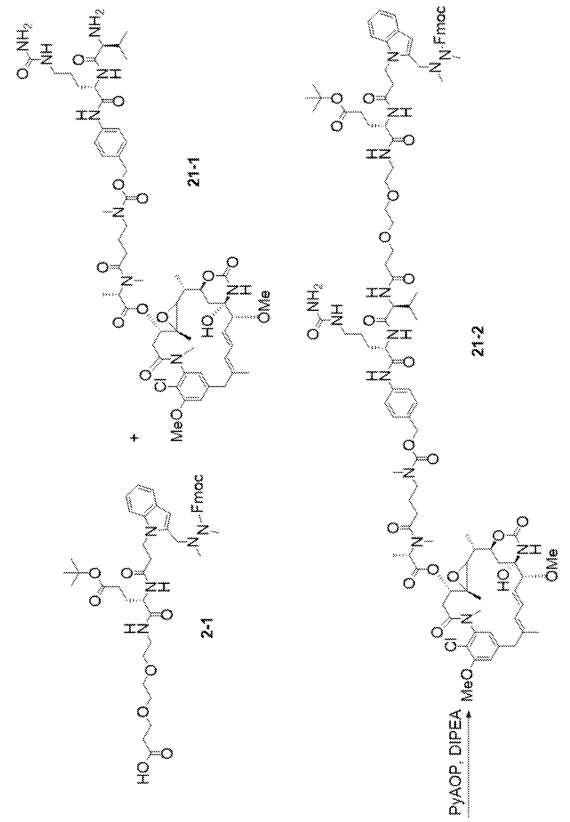
＊ ＊ ＊ ＊ ＊

【０６２０】

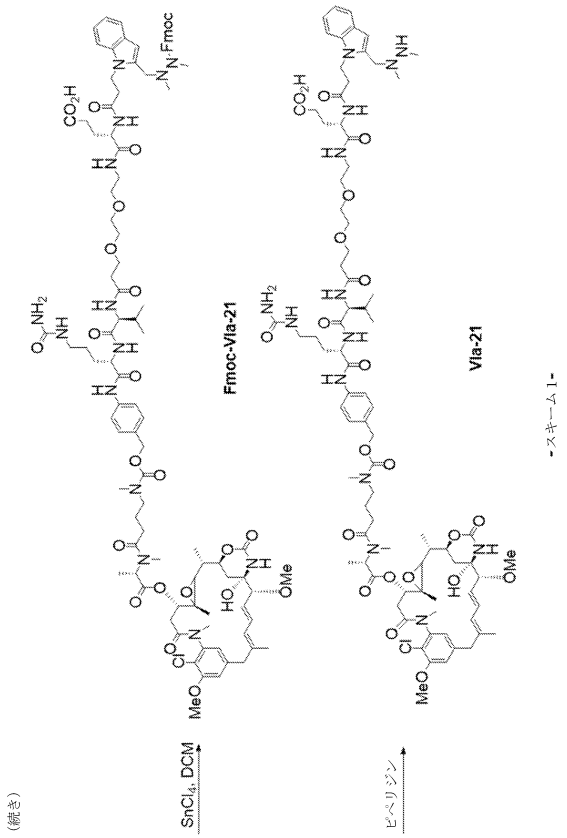
本願を通して、さまざまな刊行物、特許、特許出願及びその他文献が参照されている。これらの刊行物、特許、特許出願ならびにその他文献の開示は、本発明が関連する分野の状態をより詳細に述べる目的を含めたすべての目的のために、それらの全体が本願への参照により本明細書に組み込まれる。本発明は、上記で提供された実施例を参照しながら説明されてきたが、本発明の趣旨から逸脱することなく、さまざまな修正を行うことができることを理解されるべきである。本発明の多くの変型は、本明細書を考慮すれば当業者に明らかとなるであろう。

【図面】

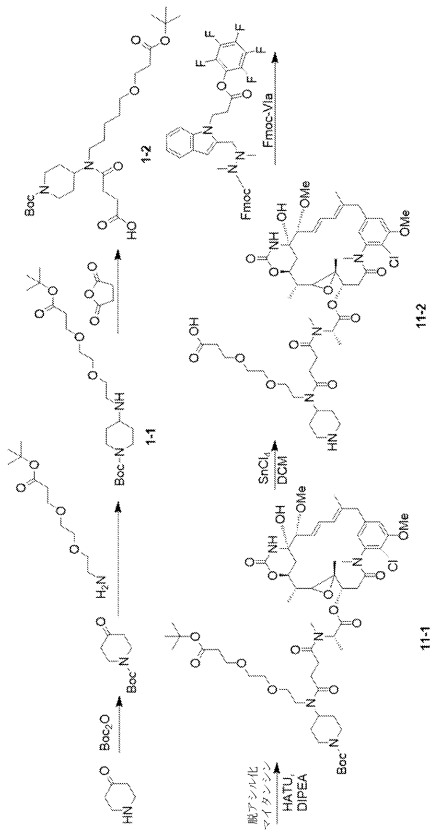
【図１－１】



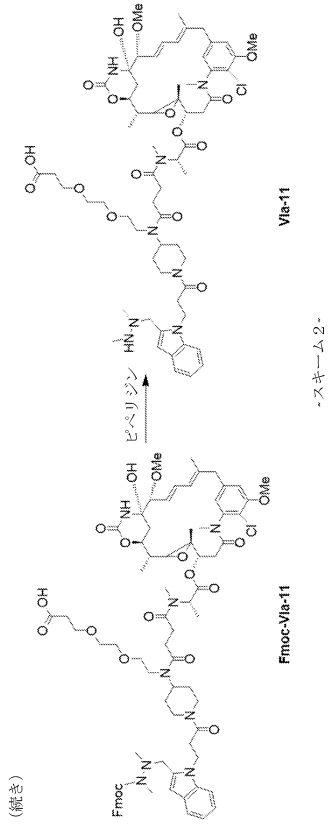
【図１－２】



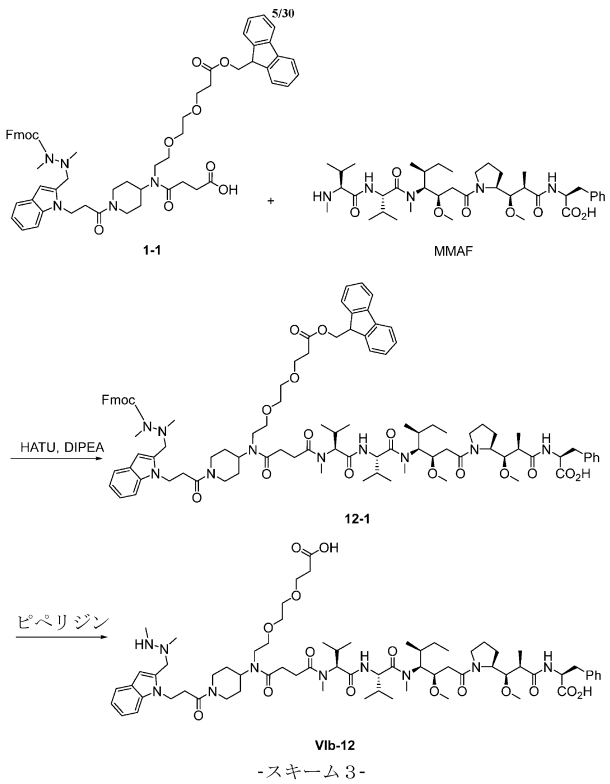
【図２－１】



【図２－２】

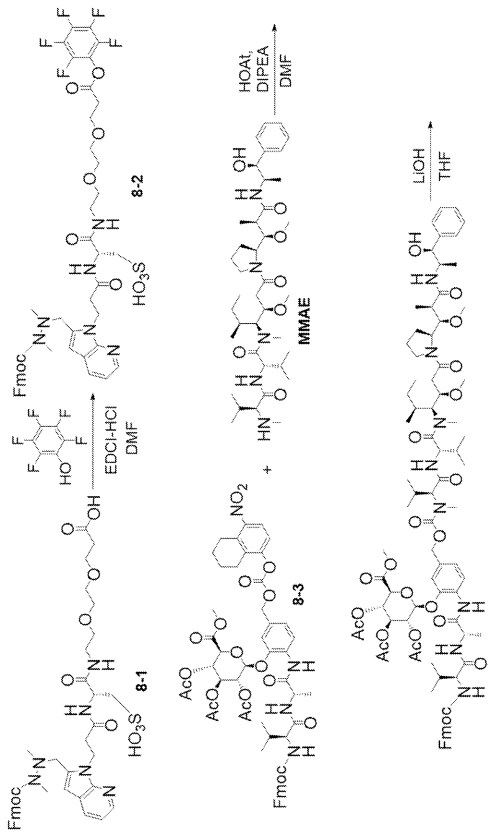


【図３】

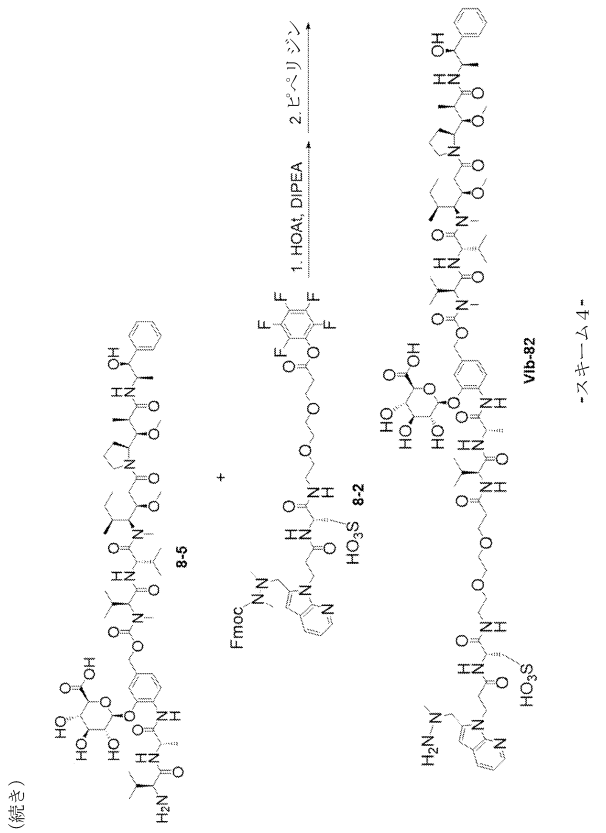


-スキーム３-

【図４－１】



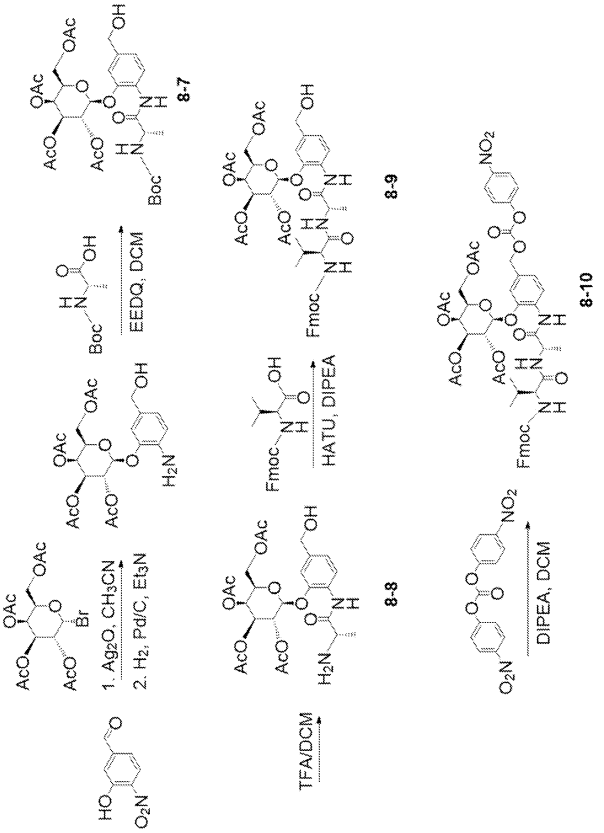
【図４－２】



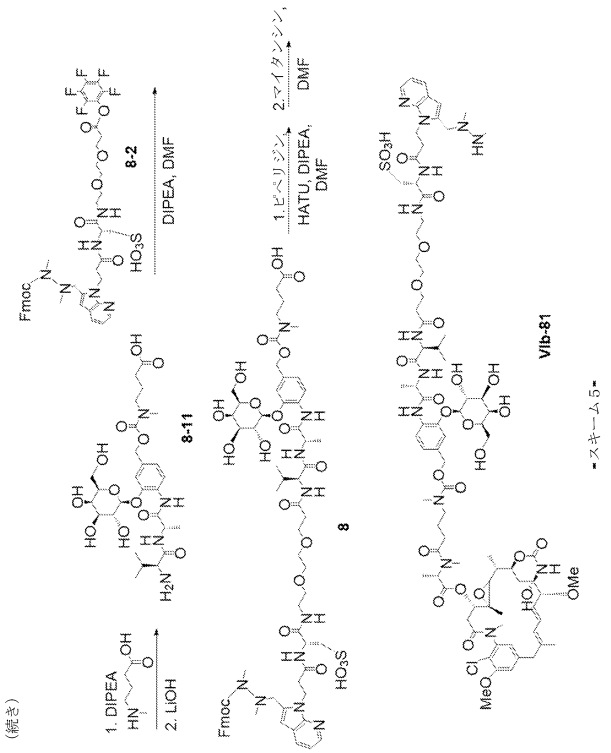
-スキーム４-

（続き）

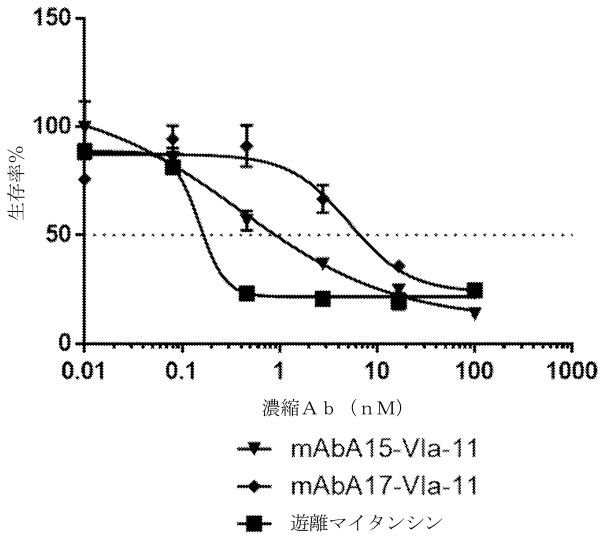
【図５－１】



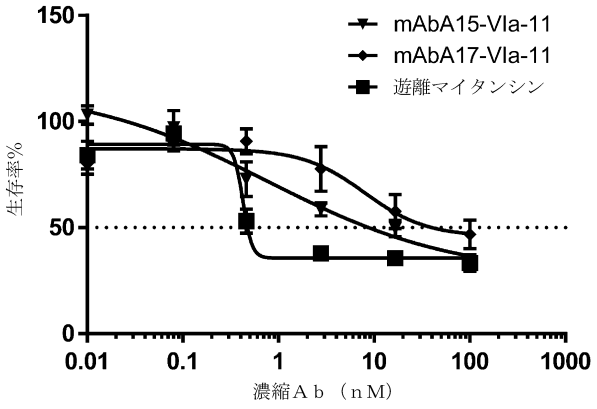
【図５－２】


(続き)
8-2
DIPEA, DMF
8-11
1. DIPEA
2. LiOH
1.ピペリジン、
HATU, DIPEA, DMF
2.マイタンシン、
DMF
8
VIb-81
-スキーム5-

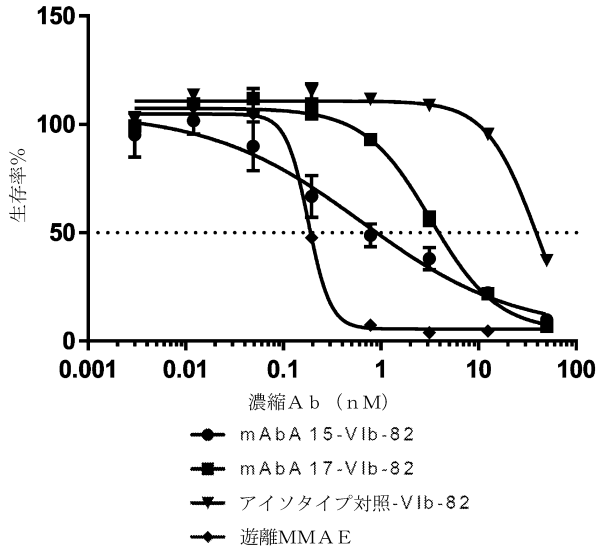
【図６】


生存率%
濃縮Ａｂ（ｎＭ）
mAbA15-VIa-11
mAbA17-VIa-11
遊離マイタンシン

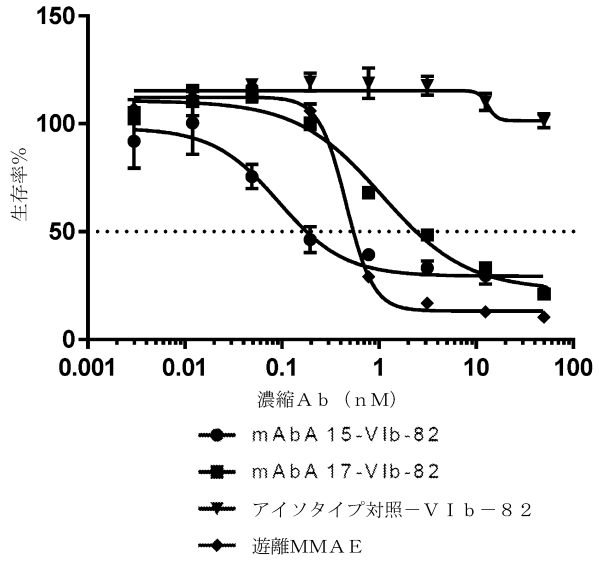
【図７】


生存率%
濃縮Ａｂ（ｎＭ）
mAbA15-VIa-11
mAbA17-VIa-11
遊離マイタンシン

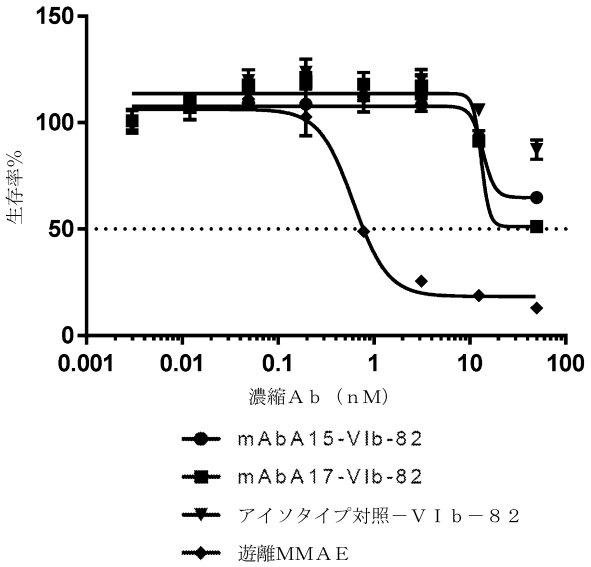
【図８】


生存率%
濃縮Ａｂ（ｎＭ）
mAbA15-VIb-82
mAbA17-VIb-82
アイソタイプ対照-VIb-82
遊離MMAE

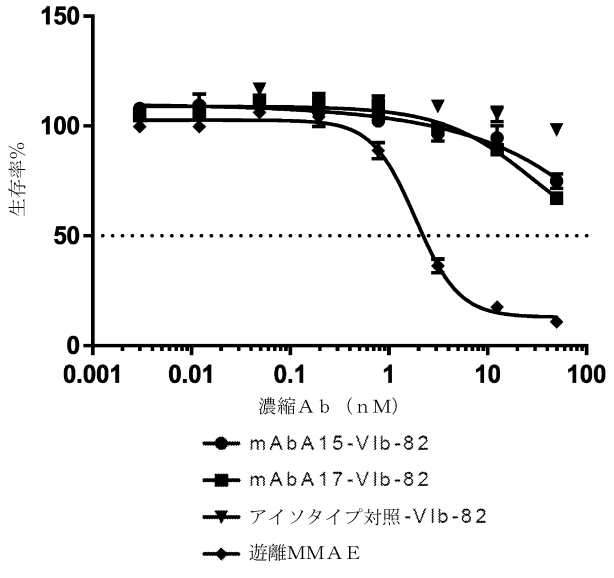
【図９】



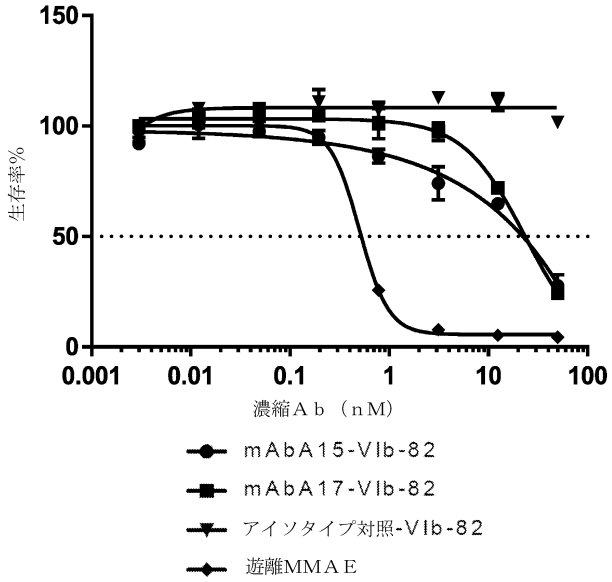
【図１０】



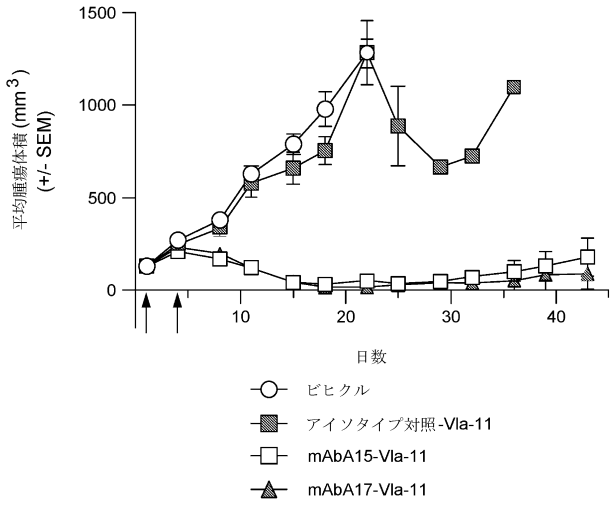
【図１１】



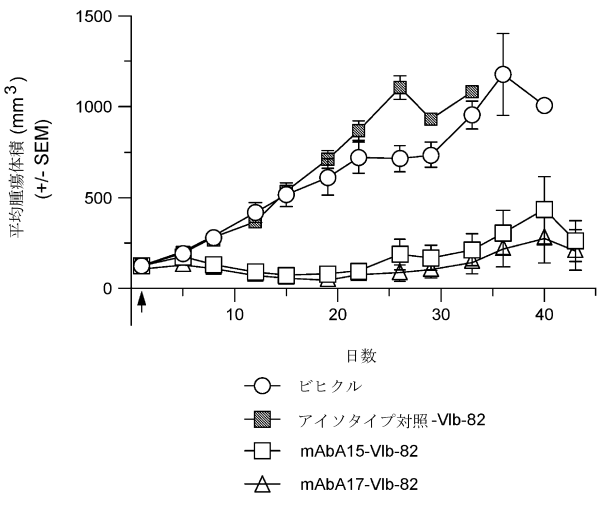
【図１２】



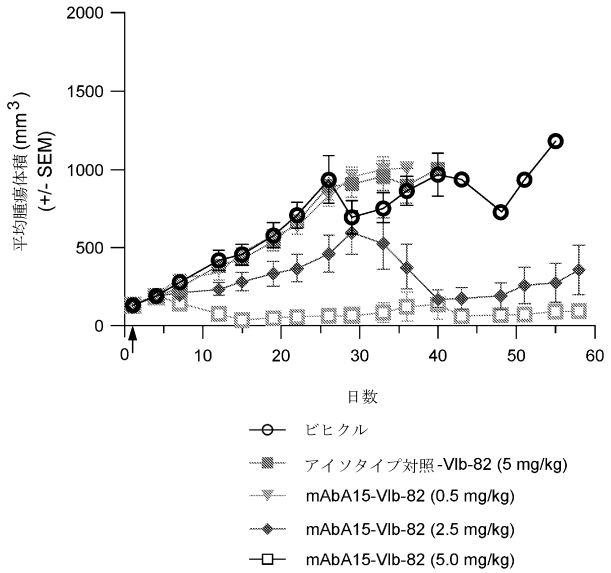
【図１３】



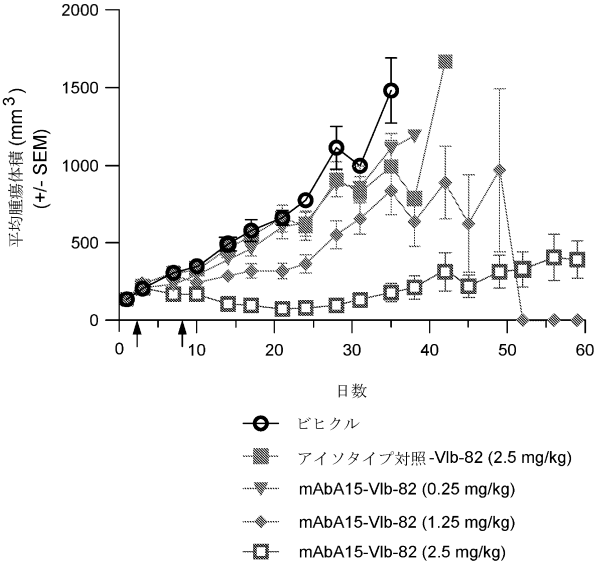
【図１４】



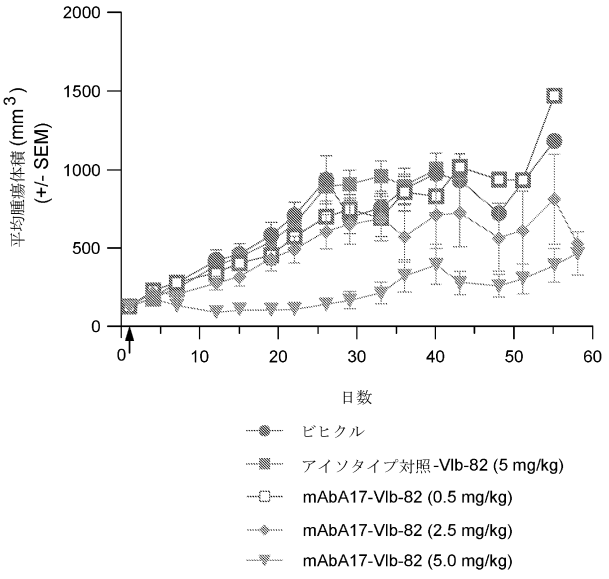
【図１５】



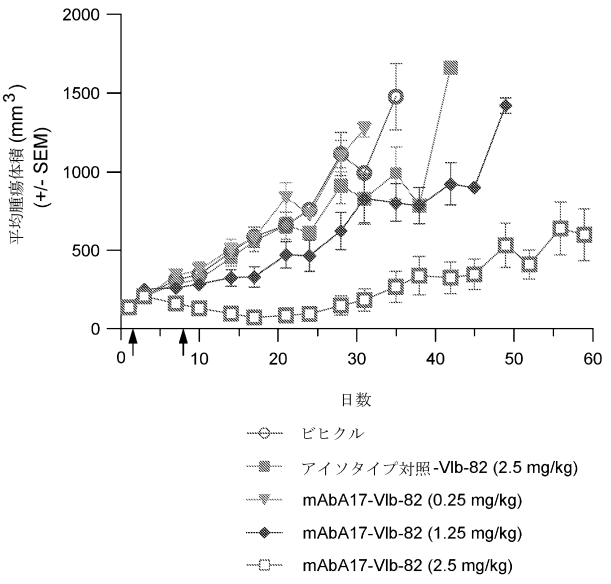
【図１６】



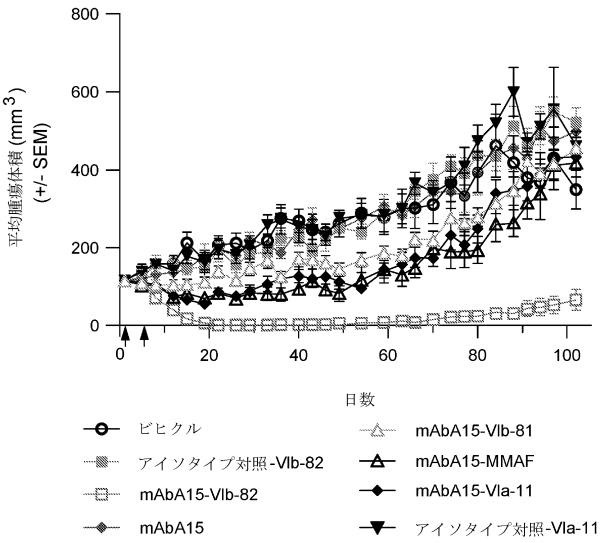
【図１７】



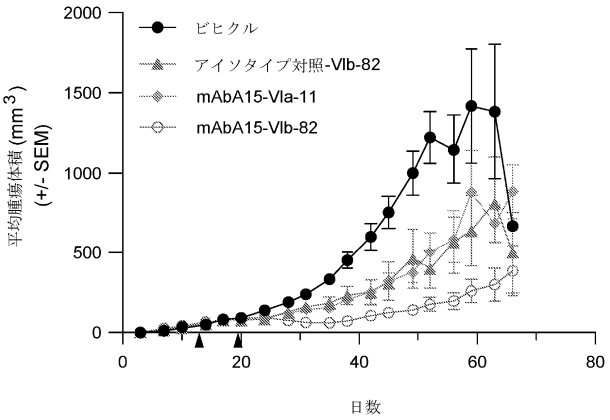
【図１８】



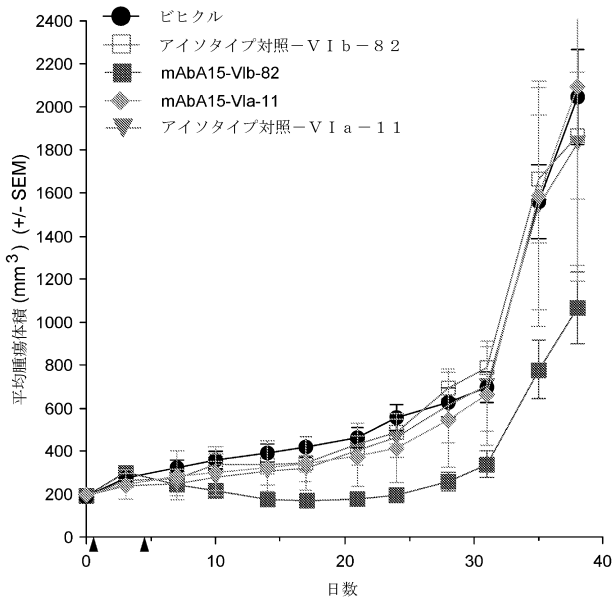
【図１９】



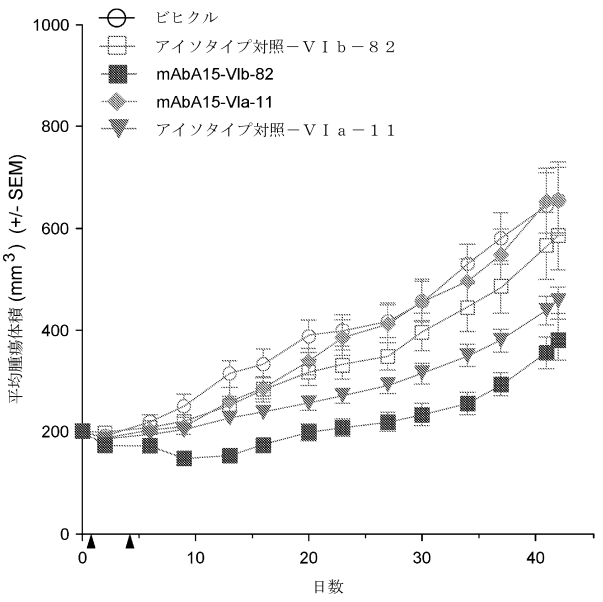
【図２０】



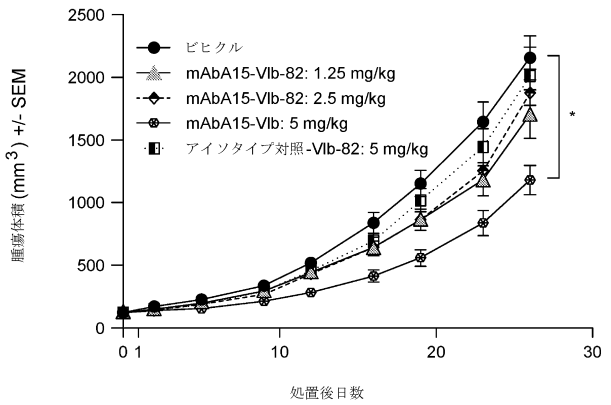
【図２１】



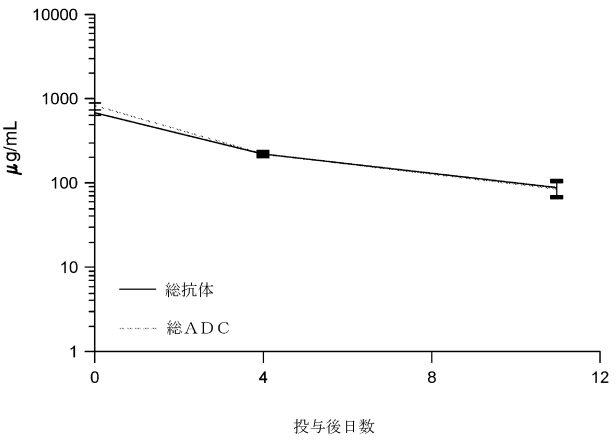
【図２２】



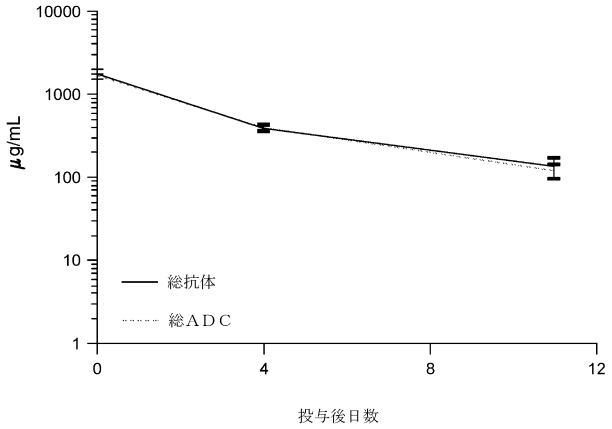
【図２３】



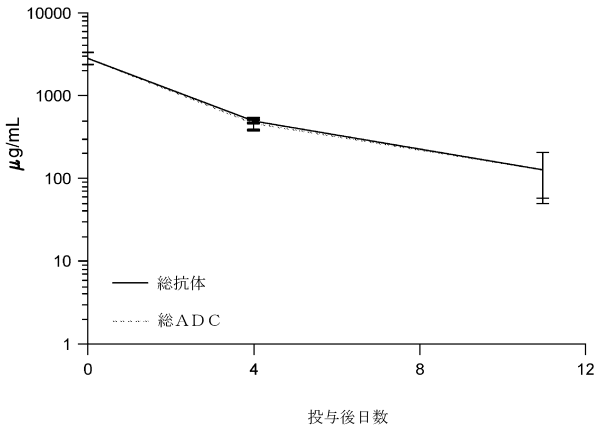
【図２４Ａ】



【図２４Ｂ】



【図２４Ｃ】



【配列表】

2025516569000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 23/66811

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - INV. A61K 31/395, A61K 31/343, A61K 31/4353, A61K 47/50, A61K 47/51 (2023.01)
ADD. A61K 31/33 (2023.01)

CPC - INV. A61K 31/395, A61K 31/343, A61K 31/4353, A61K 47/50, A61K 47/51, A61P 35/00
ADD. A61K 31/33

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2019/118411 A2 (TRIPHASE ACCELERATOR US CORPORATION) 20 June 2019 (20.06.2019), especially: para [0005]; para [0019] formula; para [0021] formula; para [0022] formula; para [00197]; para [00205]; para [00212]; para [00219].	1-2
A	WANG et al. "A novel 5T4-targeting antibody-drug conjugate H6-DM4 exhibits potent therapeutic efficacy in gastrointestinal tumor xenograft models", Am J Cancer Res. 2018. 8(4): pp 610-623, especially: abstract; pg 612, col 2, para 3.	1-2
A	STERN et al. "5T4 oncofoetal antigen: an attractive target for immune intervention in cancer", Cancer Immunol Immunother. 2017. 66: pp 415-426, especially: pg 418, col 1, para 1; pg 422, col 2, para 2.	1-2
A	FUJII et al. "Physical characteristics comparison between maytansinoid-based and auristatin-based antibody-drug conjugates", Explor Target Antitumor Ther. 2021. 2: pp 576-85, entire document.	1-2

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
3 October.2023 (03.10.2023)	NOV 0 2 2023
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Karl Rodriquez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 23/66811

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☒ forming part of the international application as filed.

   b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),

      ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 23/66811

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 4-12, 17-19, 29-54
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-2

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 23/66811

--Box III - Lack of Unity--

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I+: Claims 1-3, 13-16 and 20-28, directed to an antibody-drug conjugate (ADC) of Formula (IV) comprising: a. an antibody that binds to 5T4; and b. one or more drugs conjugated to one or more pyridazine-pyrrolo coupling moieties via a linker wherein Ab represents the antibody that binds to 5T4. The compound of Formula (IV) will be searched to the extent that it encompasses the first species of claim 1, wherein r is 1; m is 0; R2 and R3 are hydrogen; X1, X2, X3 and X4 are C; Y1, Y2, Y3 and Y4 are hydrogen; W1 is the drug; L represents the linker and is -(T1V1)a-(T2V2)b-(T3V3)c-(T4V4)d-(T5V5)e-; a is 1; b, c, d, and e are 0, wherein the sum of a, b, c, d and e is 1; T1 is C1 alkyl; and V1 is a covalent bond; and wherein the drug is the first species of claim 2, wherein W1 is consisting of a maytansinoid. It is believed that claims 1-2 encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass the first species of claim 1. This first named invention has been selected based on the guidance set forth in section 10.54 of the PCT International Search and Preliminary Examination Guidelines. Applicant is invited to elect additional compounds of Formula (IV), wherein each additional compound elected will require one additional invention fee. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected compound. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention. If different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. Additionally, an exemplary election wherein different actual variables are selected is suggested. An exemplary election would be a compound of claim 1, wherein r is 1; m is 0; R2 and R3 are hydrogen; X1, X2, X3 and X4 are C; Y1, Y2, Y3 and Y4 are hydrogen; W1 is the drug; L represents the linker and is -(T1V1)a-(T2V2)b-(T3V3)c-(T4V4)d-(T5V5)e-; a is 1; b, c, d, and e are 0, wherein the sum of a, b, c, d and e is 1; T1 is C1 alkyl; and V1 is a covalent bond; and wherein the drug is the first species of claim 2, wherein W1 is consisting of an auristatin (i.e. claims 1-3).

The groups of inventions listed above do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features:

Group I+ includes the technical feature of a unique compound of Formula (IV), which is not required by any other invention of Group I+.

Common technical features:

The inventions of Groups I+ share the technical feature of an antibody-drug conjugate (ADC) of Formula (IV) comprising: a. an antibody that binds to 5T4; and b. one or more drugs conjugated to one or more pyridazine-pyrrolo coupling moieties via a linker wherein Ab represents the antibody that binds to 5T4.

These shared technical features, however, do not provide a contribution over the prior art, as being obvious over WO 2019/118411 A2 to Triphase Accelerator US Corporation (hereinafter 'Triphase') in view of the article entitled "5T4 oncofoetal antigen: an attractive target for immune intervention in cancer" by Stern et al. (hereinafter 'Stern').

Triphase teaches an antibody-drug conjugate (ADC) (para [0005] The present disclosure provides methods for treating cancers and resistant cancers with an anti-CD22 antibody-maytansine conjugate) of Formula (IV) (para [0022] formula) comprising: a. an antibody (para [00197] As used herein, the term "anti-CD22 antibody conjugate" is used synonymously with "antibody-drug conjugate", "ADC," "conjugate," and "polypeptide-drug conjugate."; see also para [00205] The present disclosure provides conjugates, e.g., antibody-drug conjugates. By "conjugate" is meant a first moiety (e.g., an antibody) is stably associated with a second moiety (e.g., a drug). For example, a maytansine conjugate includes a maytansine (e.g., a maytansine active agent moiety) stably associated with another moiety (e.g., the antibody). By "stably associated" is meant that a moiety is bound to another moiety or structure under standard conditions. In certain embodiments, the first and second moieties are bound to each other through one or more covalent bonds); and b. one drug (para [0019] In certain embodiments, the maytansinoid is of the formula; see also para [0019] formula) conjugated to one pyridazine-pyrrolo coupling moiety via a linker (para [0021] In certain embodiments, the linker, L, includes the following structure; see also para [0021] formula) wherein Ab represents the antibody that binds to the antigen (para [00219] In certain embodiments, the conjugate includes at least one modified amino acid residue of the formula (I) described herein. For instance, the conjugate may include at least one modified amino acid residue with a side chain of the formula (I)... wherein W2 is an anti-CD22 antibody; see also formula (I)); r is 1; m is 1; R2 and R3 are each alkyl; X1, X2, X3 and X4 are each C; Y1, Y2, Y3 and Y4 are each hydrogen; W1 is the drug; L represents the linker and is -(T1V1)a-(T2V2)b-(T3V3)c-(T4V4)d-(T5V5)e-; wherein a is 1, b is 1, c is 1, d is 0 and e is 0, wherein the sum of a, b, c, d, and e is 1 to 5; T1 is C2 alkyl; V1 is -C(=O)-; T2 is a piperidin-4-amine (P4A-R12), R12 is a polyethylene glycol moiety; V2 is -C(=O)-; T3 is C2 alkyl; V3 is -C(=O)- (para [0022] In certain embodiments, the conjugate includes the following structure; see also para [0022] formula), but Triphase doesn't teach wherein the antibody is an antibody that binds to 5T4 (Triphase teaches anti-CD22). However, Stern teaches an antibody drug conjugate wherein the antibody binds to 5T4 (pg 422, col 2, para 2, Antibody drug conjugates (ADCs) chemically combine a cytotoxic drug with the targeting specificity of an antibody. Preliminary research by Boghaert et al. [70] aimed to combine the tumour specificity of a 5T4 monoclonal antibody with double-strand DNA break inducing toxin calicheamicin) and it would have been obvious to a person having ordinary skill in the art to combine Stern with Triphase because Triphase teaches an antibody drug conjugate that is used to treat cancer (para [0005] The present disclosure provides methods for treating cancers and resistant cancers with an anti-CD22 antibody-maytansine conjugate in combination with one or more anti-cancer agents. The disclosure also encompasses methods for sensitizing cancers by treatment with such conjugates and anti-cancer agents) and a specific chemical structure that could be conjugated to a different antibody (para [00212] In certain embodiments, the polypeptide and the moiety of interest are conjugated through a coupling moiety... Hydrazinyl-indolyl and hydrazinyl-pyrrolo-pyridinyl coupling moiety are also referred to herein as a hydrazino-iso-Pictet-Spengler (HIPS) coupling moiety and an aza-hydrazino-iso-Pictet-Spengler (azaHIPS) coupling moiety, respectively; see also para [0212] scheme) and Stern teaches that an antibody drug conjugate that targets 5T4 is effective against aggressive heterogeneous solid tumors (pg 418, col 1, para 1, Despite heterogeneous expression of 5T4 in NSCLC patient–derived xenografts, treatment with an anti-5T4 antibody–drug conjugate resulted in complete and sustained tumour regression. Thus, the aggressive growth of heterogeneous solid tumours can be blocked by therapeutic agents that target a 5T4 expressing subpopulation of cells near the top of the cellular hierarchy), which could lead to an antibody drug conjugate with enhanced activity against aggressive heterogeneous tumors.

--continued on next page--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 23/66811

--from previous page--

As said compound was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the inventions of Group I+.

The inventions of Group I+ thus lack unity under PCT Rule 13.

Item 4continued: Claims 4-12, 17-19 and 29-54 are unsearchable because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a). These claims are therefore, not included in the above analysis.

Continuation of International Patent Classification (IPC):

IPC: INV. A61P 35/00

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*47/68*	*(2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/68	
Ａ６１Ｐ	*35/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00	
Ｃ１２Ｎ	*15/13*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/13	
Ａ６１Ｋ	*38/07*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	38/07	
Ａ６１Ｋ	*31/537*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/537	

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

(72)発明者　カンタク， シーマ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４５０２， アラメダ， ハーバー ベイ パークウェイ １８５１， エグゼリクシス， インコーポレイテッド 気付
(72)発明者　メンデルソン， ブライアン アラン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４５０２， アラメダ， ハーバー ベイ パークウェイ １８５１， エグゼリクシス， インコーポレイテッド 気付
(72)発明者　バーフィールド， ロビン エム．
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４５０２， アラメダ， ハーバー ベイ パークウェイ １８５１， エグゼリクシス， インコーポレイテッド 気付
(72)発明者　チュプラコフ， ステパン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４５０２， アラメダ， ハーバー ベイ パークウェイ １８５１， エグゼリクシス， インコーポレイテッド 気付
(72)発明者　ドレイク， ペネロピー エム．
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４５０２， アラメダ， ハーバー ベイ パークウェイ １８５１， エグゼリクシス， インコーポレイテッド 気付
(72)発明者　オグンコヤ， アヨデレ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４５０２， アラメダ， ハーバー ベイ パークウェイ １８５１， エグゼリクシス， インコーポレイテッド 気付

Ｆターム（参考）　4C076　AA95 BB11 CC27 EE59
4C084　BA10 BA16 DA27 NA05 ZB261 ZB262
4C085　AA26 BB01 BB12 DD52 DD57 EE01 GG02
4C086　AA01 AA02 CB22 MA01 MA04 NA05 ZB26
4H045　AA11 AA20 AA30 BA10 BA11 BA40 BA51 BA72 CA40 CA50
DA76 DA83 EA28 FA52 FA74