

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和3年10月7日(2021.10.7)

【公表番号】特表2021-517457(P2021-517457A)

【公表日】令和3年7月26日(2021.7.26)

【年通号数】公開・登録公報2021-032

【出願番号】特願2020-548645(P2020-548645)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 0 7 K 16/42 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

C 1 2 N 15/62 (2006.01)

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

G 0 1 N 33/574 (2006.01)

C 0 7 K 16/18 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/13

C 0 7 K 16/42

C 1 2 N 5/10

C 1 2 P 21/08

C 1 2 N 15/62 Z

C 1 2 N 15/63 Z

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 K 39/395 T

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02

G 0 1 N 33/574 A

C 0 7 K 16/18 Z N A

【手続補正書】

【提出日】令和3年8月25日(2021.8.25)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

ヒト5T4に結合しかつ重鎖可変(VH)領域および軽鎖可変(VL)領域を含む抗体であって、VH領域が、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、およびSEQ ID NO:43にそれぞれ示すCDR1、CDR2、およびCDR3配列を含み、VL領域が、SEQ ID NO:45、配列DAS、およびSEQ ID NO:46にそれぞれ示すCDR1、CDR2、およびCDR3配列を含む、抗体。

【請求項2】

SEQ ID NO:40の配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有する配列を含むVH領域およびSEQ ID NO:44の配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有する配列を含むVL領域

を含む、請求項1記載の抗体。

【請求項3】

SEQ ID NO:40に示すアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO:44に示すアミノ酸配列を含むVL領域を含む、請求項1記載の抗体。

【請求項4】

モノクローナル抗体である、請求項1～3のいずれか一項記載の抗体。

【請求項5】

完全長抗体である、請求項1～4のいずれか一項記載の抗体。

【請求項6】

ヒトIgG1定常領域を含む、請求項1～5のいずれか一項記載の抗体。

【請求項7】

軽鎖定常領域または 軽鎖定常領域を含む、請求項1～6のいずれか一項記載の抗体。

【請求項8】

請求項1～7のいずれか一項記載の抗体の抗原結合領域に対応する第1の抗原結合領域を含む、第1の重鎖および第1の軽鎖、ならびに

第2の抗原結合領域を含む、第2の重鎖および第2の軽鎖を含む、二重特異性抗体。

【請求項9】

第2の抗原結合領域が、ヒトCD3に結合する、請求項8記載の二重特異性抗体。

【請求項10】

第2の抗原結合領域が、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、およびSEQ ID NO:67にそれぞれ示すCDR1、CDR2、およびCDR3配列を含むVH領域、ならびにSEQ ID NO:58、配列GTN、およびSEQ ID NO:59にそれぞれ示すCDR1、CDR2、およびCDR3配列を含むVL領域を含む、請求項9記載の二重特異性抗体。

【請求項11】

第2の抗原結合領域が、SEQ ID NO:68に示すアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO:60に示すアミノ酸配列を含むVL領域を含む、請求項10記載の二重特異性抗体。

【請求項12】

第1の抗原結合領域が、SEQ ID NO:40のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO:44のアミノ酸配列を含むVL領域を含み、

第2の抗原結合領域が、SEQ ID NO:68のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO:60のアミノ酸配列を含むVL領域を含む、

請求項9記載の二重特異性抗体。

【請求項13】

完全長抗体である、請求項9～12のいずれか一項記載の二重特異性抗体。

【請求項14】

ヒトIgG1定常領域を含む、請求項13記載の二重特異性抗体。

【請求項15】

ヒト5T4に結合する第1の抗原結合領域を含む、第1の重鎖および第1の軽鎖、ならびに

ヒトCD3に結合する第2の抗原結合領域を含む、第2の重鎖および第2の軽鎖

を含む二重特異性抗体であって、

(a)第1の抗原結合領域が、SEQ ID NO:40に示すアミノ酸配列を含む重鎖可変(VH)領域およびSEQ ID NO:44に示すアミノ酸配列を含む軽鎖可変(VL)領域を含み、

(b)第2の抗原結合領域が、SEQ ID NO:68に示すアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO:60に示すアミノ酸配列を含むVL領域を含み、

二重特異性抗体が、ヒトIgG1Fc領域を含み、第1の重鎖が、EUナンバリングでヒトIgG1重鎖中のL234、L235、D265、およびF405に対応するアミノ酸残基がそれぞれF、E、A、およびLである定常領域を含み、第2の重鎖が、EUナンバリングでヒトIgG1重鎖中のL234、L235、D265、およびK409に対応するアミノ酸残基がそれぞれF、E、A、およびRである定常領域を含み、かつ

第1の軽鎖および第2の軽鎖が、それぞれSEQ ID NO:95およびSEQ ID NO:96に示すアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、  
二重特異性抗体。

【請求項16】

ヒト5T4に結合する第1の抗原結合領域を含む、第1の重鎖および第1の軽鎖、ならびにヒトCD3に結合する第2の抗原結合領域を含む、第2の重鎖および第2の軽鎖を含む二重特異性抗体であって、

(a)第1の抗原結合領域が、SEQ ID NO:40に示すアミノ酸配列を含む重鎖可変(VH)領域およびSEQ ID NO:44に示すアミノ酸配列を含む軽鎖可変(VL)領域を含み、

(b)第2の抗原結合領域が、SEQ ID NO:68に示すアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO:60に示すアミノ酸配列を含むVL領域を含み、

二重特異性抗体が、ヒトIgG1Fc領域を含み、第1の重鎖が、EUナンバリングでヒトIgG1重鎖中のL234、L235、D265、およびK409に対応するアミノ酸残基がそれぞれF、E、A、およびRである定常領域を含み、第2の重鎖が、EUナンバリングでヒトIgG1重鎖中のL234、L235、D265、およびF405に対応するアミノ酸残基がそれぞれF、E、A、およびLである定常領域を含み、かつ

第1の軽鎖および第2の軽鎖が、それぞれSEQ ID NO:95およびSEQ ID NO:96に示すアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、  
二重特異性抗体。

【請求項17】

二重特異性抗体が、ヒト5T4に結合する第1のモノクローナル抗体のFabアーム、およびヒトCD3に結合する第2のモノクローナル抗体のFabアームを含み、

第1のモノクローナル抗体のFabアームが、二重特異性抗体の第1の重鎖および第1の軽鎖を含み、第2のモノクローナル抗体のFabアームが、二重特異性抗体の第2の重鎖および第2の軽鎖を含む、

請求項15または16記載の二重特異性抗体。

【請求項18】

ヒト5T4に結合する第1の抗原結合領域を含む、第1の重鎖および第1の軽鎖、ならびにヒトCD3に結合する第2の抗原結合領域を含む、第2の重鎖および第2の軽鎖を含む二重特異性抗体であって、

(a)第1の抗原結合領域が、SEQ ID NO:40に示すアミノ酸配列内の相補性決定領域(CDR)およびフレームワーク領域(FR)を含む重鎖可変(VH)領域ならびにSEQ ID NO:44に示すアミノ酸配列内のCDRおよびFRを含む軽鎖可変(VL)領域を含み、

(b)第2の抗原結合領域が、SEQ ID NO:68に示すアミノ酸配列内のCDRおよびFRを含むVH領域ならびにSEQ ID NO:60に示すアミノ酸配列内のCDRおよびFRを含むVL領域を含み、

VHおよびVL領域のそれぞれにおいて、CDRおよびFRが、アミノ末端からカルボキシ末端へ向かって、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4の順序で配置されている、  
二重特異性抗体。

【請求項19】

ヒト5T4に結合する第1の抗原結合領域を含む、第1の重鎖および第1の軽鎖、ならびにヒトCD3に結合する第2の抗原結合領域を含む、第2の重鎖および第2の軽鎖を含む二重特異性抗体であって、

(a)第1の抗原結合領域が、SEQ ID NO:40に示すアミノ酸配列からなる重鎖可変(VH)領域ならびにSEQ ID NO:44に示すアミノ酸配列からなる軽鎖可変(VL)領域を含み、

(b)第2の抗原結合領域が、SEQ ID NO:68に示すアミノ酸配列からなるVH領域ならびにSEQ ID NO:60に示すアミノ酸配列からなるVL領域を含む、

二重特異性抗体。

【請求項20】

ヒトIgG1Fc領域を含む、請求項18または19記載の二重特異性抗体。

【請求項21】

Fc領域が、ヒトIgG1m(f)アロタイプである、請求項20記載の二重特異性抗体。

【請求項 2 2】

軽鎖定常領域および 軽鎖定常領域を含む、請求項18～21のいずれか一項記載の二重特異性抗体。

【請求項 2 3】

第1の重鎖および第2の重鎖の両方において、EUナンバリングでヒトIgG1重鎖中のL234、L235およびD265に対応する位置のアミノ酸がそれぞれF、EおよびAである、請求項18～22のいずれか一項記載の二重特異性抗体。

【請求項 2 4】

二重特異性抗体が、ヒトIgG1Fc領域を含み、第1の重鎖が、EUナンバリングでヒトIgG1重鎖中のL234、L235、D265、およびF405に対応するアミノ酸残基がそれぞれF、E、A、およびLである定常領域を含み、第2の重鎖が、EUナンバリングでヒトIgG1重鎖中のL234、L235、D265、およびK409に対応するアミノ酸残基がそれぞれF、E、A、およびRである定常領域を含み、かつ

第1の軽鎖および第2の軽鎖が、それぞれSEQ ID NO:95およびSEQ ID NO:96に示すアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項18～23のいずれか一項記載の二重特異性抗体。

【請求項 2 5】

第1の重鎖が、SEQ ID NO:92に示すアミノ酸配列からなる定常領域を含み、第2の重鎖が、SEQ ID NO:93に示すアミノ酸配列からなる定常領域を含む、請求項24記載の二重特異性抗体。

【請求項 2 6】

二重特異性抗体が、ヒトIgG1Fc領域を含み、第1の重鎖が、EUナンバリングでヒトIgG1重鎖中のL234、L235、D265、およびK409に対応するアミノ酸残基がそれぞれF、E、A、およびRである定常領域を含み、第2の重鎖が、EUナンバリングでヒトIgG1重鎖中のL234、L235、D265、およびF405に対応するアミノ酸残基がそれぞれF、E、A、およびLである定常領域を含み、かつ

第1の軽鎖および第2の軽鎖が、それぞれSEQ ID NO:95およびSEQ ID NO:96に示すアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項18～23のいずれか一項記載の二重特異性抗体。

【請求項 2 7】

第1の重鎖が、SEQ ID NO:93に示すアミノ酸配列からなる定常領域を含み、第2の重鎖が、SEQ ID NO:92に示すアミノ酸配列からなる定常領域を含む、請求項26に記載の二重特異性抗体。

【請求項 2 8】

完全長抗体である、請求項18～27のいずれか一項記載の二重特異性抗体。

【請求項 2 9】

第1の重鎖および第1の軽鎖ならびに第2の重鎖および第2の軽鎖がすべてジスルフィド結合により相互に連結されている、請求項18～28のいずれか一項記載の二重特異性抗体。

【請求項 3 0】

ヒト5T4に結合する第1の抗原結合領域を含む、第1の重鎖および第1の軽鎖、ならびにヒトCD3に結合する第2の抗原結合領域を含む、第2の重鎖および第2の軽鎖を含む二重特異性抗体であって、

(a) 第1の抗原結合領域が、SEQ ID NO:40に示すアミノ酸配列内の相補性決定領域(CDR)およびフレームワーク領域(FR)を含む重鎖可変(VH)領域ならびにSEQ ID NO:44に示すアミノ酸配列内のCDRおよびFRを含む軽鎖可変(VL)領域を含み、

(b) 第2の抗原結合領域が、SEQ ID NO:68に示すアミノ酸配列内のCDRおよびFRを含むVH領域ならびにSEQ ID NO:60に示すアミノ酸配列内のCDRおよびFRを含むVL領域を含み、

VHおよびVL領域のそれぞれにおいて、CDRおよびFRが、アミノ末端からカルボキシ末端へ向かって、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4の順序で配置されており、

二重特異性抗体が、ヒトIgG1Fc領域を含み、第1の重鎖が、EUナンバリングでヒトIgG1重鎖中のL234、L235、D265、およびK409に対応するアミノ酸残基がそれぞれF、E、A、およびRである定常領域を含み、第2の重鎖が、EUナンバリングでヒトIgG1重鎖中のL234、L235、D265、およびF405に対応するアミノ酸残基がそれぞれF、E、A、およびLである定常領域を含み、かつ

第1の軽鎖および第2の軽鎖が、それぞれSEQ ID NO:95およびSEQ ID NO:96に示すアミノ酸配列からなる軽鎖定常領域を含む、  
二重特異性抗体。

【請求項31】

ヒト5T4に結合する第1の抗原結合領域を含む、第1の重鎖および第1の軽鎖、ならびにヒトCD3に結合する第2の抗原結合領域を含む、第2の重鎖および第2の軽鎖を含む二重特異性抗体であって、

(a) 第1の抗原結合領域が、SEQ ID NO:40に示すアミノ酸配列からなる重鎖可変(VH)領域ならびにSEQ ID NO:44に示すアミノ酸配列からなる軽鎖可変(VL)領域を含み、

(b) 第2の抗原結合領域が、SEQ ID NO:68に示すアミノ酸配列からなるVH領域ならびにSEQ ID NO:60に示すアミノ酸配列からなるVL領域を含み、

二重特異性抗体が、ヒトIgG1Fc領域を含み、第1の重鎖が、EUナンバリングでヒトIgG1重鎖中のL234、L235、D265、およびK409に対応するアミノ酸残基がそれぞれF、E、A、およびRである定常領域を含み、第2の重鎖が、EUナンバリングでヒトIgG1重鎖中のL234、L235、D265、およびF405に対応するアミノ酸残基がそれぞれF、E、A、およびLである定常領域を含み、かつ

第1の軽鎖および第2の軽鎖が、それぞれSEQ ID NO:95およびSEQ ID NO:96に示すアミノ酸配列からなる軽鎖定常領域を含む、  
二重特異性抗体。

【請求項32】

請求項1~7のいずれか一項記載の抗体または請求項8~31のいずれか一項記載の二重特異性抗体と、担体とを含む、組成物。

【請求項33】

請求項1~7のいずれか一項記載の抗体または請求項8~31のいずれか一項記載の二重特異性抗体と、使用説明書とを含む、キット。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0019

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0019】

別の一局面において、本発明は、本明細書において規定する抗体の5T4へと結合することができる抗原結合領域に結合する、抗イディオタイプ抗体に関する。

[本発明1001]

5T4(栄養膜糖タンパク質)へと結合することができる少なくとも1つの抗原結合領域を含む抗体であって、

SEQ ID NO:5に示す配列を含む可変重鎖(VH)領域とSEQ ID NO:9に示す配列を含む可変軽鎖(VL)領域とを含む抗体[059]の、5T4への結合を遮断することができる、抗体。

[本発明1002]

a) SEQ ID NO:40に示す配列を含む可変重鎖(VH)領域とSEQ ID NO:44に示す配列を含む可変軽鎖(VL)領域とを含む抗体[207]、

b) SEQ ID NO:47に示す配列を含む可変重鎖(VH)領域とSEQ ID NO:51に示す配列を含む可変軽鎖(VL)領域とを含む抗体[226]、および

c) SEQ ID NO:5に示す配列を含む可変重鎖(VH)領域とSEQ ID NO:9に示す配列を含む可変軽鎖(VL)領域とを含む抗体[059]

からなる群より選択される抗体の、5T4への結合を遮断する、本発明1001の抗体。

[本発明1003]

a) SEQ ID NO:40に示す配列を含む可変重鎖 (VH) 領域とSEQ ID NO:44に示す配列を含む可変軽鎖 (VL) 領域とを含む抗体 [207]、および

b) SEQ ID NO:47に示す配列を含む可変重鎖 (VH) 領域とSEQ ID NO:51に示す配列を含む可変軽鎖 (VL) 領域とを含む抗体 [226]

からなる群より選択される抗体の、5T4への結合を遮断する、本発明1001または本発明1002の抗体。

[本発明1004]

5T4がヒト (Homo sapiens) 5T4、例えばSEQ ID NO:1の成熟ポリペプチド配列である、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1005]

5T4がカニクイザル (Macaca fascicularis) 5T4、例えばSEQ ID NO:2の成熟ポリペプチド配列である、本発明1001~1003のいずれかの抗体。

[本発明1006]

5T4がニワトリ (Gallus gallus) 5T4、例えばSEQ ID NO:3の成熟ポリペプチド配列である、本発明1001~1003のいずれかの抗体。

[本発明1007]

5T4がヒト5T4、例えばSEQ ID NO:1の成熟ポリペプチド、およびカニクイザル5T4、例えばSEQ ID NO:2の成熟ポリペプチドである、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1008]

5T4がヒト5T4、例えばSEQ ID NO:1の成熟ポリペプチド配列、カニクイザル5T4、例えばSEQ ID NO:2の成熟ポリペプチド配列、およびニワトリ5T4、例えばSEQ ID NO:3の成熟ポリペプチド配列である、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1009]

ヒト5T4、カニクイザルおよび/またはニワトリ5T4に、 $1E-7M$ 以下、例えば $5E-8M$ 以下、 $1E-8M$ 以下、 $5E-9M$ 以下または例えば $1E-9M$ 以下の $K_D$ 値に対応する結合親和性で結合することができる、例えば $1E-7 \sim 5E-10M$ の範囲内、例えば $1E-7 \sim 1E-9M$ の範囲内、例えば $5E-8 \sim 5E-10M$ 、 $5E-8 \sim 1E-9M$ 、例えば $1E-8 \sim 5E-10M$ 、 $1E-8 \sim 1E-9M$ または例えば $1E-8 \sim 5E-9M$ の範囲内にある $K_D$ 値に対応する結合親和性で結合することができる、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1010]

結合親和性が、バイオレイヤー干渉法によって、任意で本願明細書の実施例2に示すように決定される、本発明1009の抗体。

[本発明1011]

結合親和性が、

I) 抗体を、 $1 \mu g/mL$ の量で600秒間かけて、抗ヒトIgG Fc捕捉バイオセンサー上に固定化する工程、

II)  $100nM \sim 1.56nM$ の範囲の2倍希釈系列を使って、5T4ECDHis (SEQ ID NO:99の成熟タンパク質) またはカニクイザル5T4 (SEQ ID NO:2の成熟タンパク質)、または組換えカニクイザル5T4タンパク質 (Cusabio、カタログ番号CSB-MP024093MOV) の会合を200秒の期間にわたって、解離を1000秒の期間にわたって決定する工程、

III) データを緩衝液対照 (0nM) と関連づける工程を含むバイオレイヤー干渉法を使って決定される、本発明1009および本発明1010のいずれかの抗体。

[本発明1012]

結合親和性が、単一特異性二価抗体である前記本発明のいずれかの抗体、例えば完全長IgG1である抗体を使って決定される、本発明1009~1011のいずれかの抗体。

[本発明1013]

a) SEQ ID NO:5に示す配列を含むVH領域とSEQ ID NO:9に示す配列を含むVL領域とを含

む抗体 [ 059 ]、

b) SEQ ID NO:12に示す配列を含むVH領域とSEQ ID NO:16に示す配列を含むVL領域とを含む抗体 [ 076 ]、

c) SEQ ID NO:19に示す配列を含むVH領域とSEQ ID NO:23に示す配列を含むVL領域とを含む抗体 [ 085 ]、

d) SEQ ID NO:26に示す配列を含むVH領域とSEQ ID NO:30に示す配列を含むVL領域とを含む抗体 [ 106 ]、

e) SEQ ID NO:33に示す配列を含むVH領域とSEQ ID NO:37に示す配列を含むVL領域とを含む抗体 [ 127 ]、

f) SEQ ID NO:40に示す配列を含むVH領域とSEQ ID NO:44に示す配列を含むVL領域とを含む抗体 [ 207 ]、および

g) SEQ ID NO:47に示す配列を含むVH領域とSEQ ID NO:51に示す配列を含むVL領域とを含む抗体 [ 226 ]

からなる群より選択される抗体のいずれか1つによって認識される、5T4上のエピトープまたは抗体結合領域または結合部位を認識する、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1014]

a) SEQ ID NO:87に示す配列を含むVH領域とSEQ ID NO:88に示す配列を含むVL領域とを含む抗体 [ H8 ]、

b) SEQ ID NO:83に示す配列を含むVH領域とSEQ ID NO:84に示す配列を含むVL領域とを含む抗体 [ A1 ]、および

c) SEQ ID NO:85に示す配列を含むVH領域とSEQ ID NO:86に示す配列を含むVL領域とを含む抗体 [ A3 ]

からなる群より選択される抗体によって結合される抗体結合領域でも結合部位でもエピトープでもない、または

a) SEQ ID NO:87に示す配列を含むVH領域とSEQ ID NO:88に示す配列を含むVL領域とを含む抗体 [ H8 ]、

b) SEQ ID NO:83に示す配列を含むVH領域とSEQ ID NO:84に示す配列を含むVL領域とを含む抗体 [ A1 ]、および

c) SEQ ID NO:85に示す配列を含むVH領域とSEQ ID NO:86に示す配列を含むVL領域とを含む抗体 [ A3 ]

からなる群より選択される抗体によって結合される抗体結合領域とも結合部位ともエピトープとも異なる、5T4上の抗体結合領域、結合部位またはエピトープに結合する、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1015]

SEQ ID NO:85に示す配列を含む可変重鎖 (VH) 領域とSEQ ID NO:86に示す配列を含む可変軽鎖 (VL) 領域とを含む抗体 [ A3 ] の5T4への結合によって、5T4への結合が遮断される、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1016]

SEQ ID NO:85に示す配列を含む可変重鎖 (VH) 領域とSEQ ID NO:86に示す配列を含む可変軽鎖 (VL) 領域とを含む、5T4ECDHis (SEQ ID NO:99の成熟タンパク質) に結合している抗体 [ A3 ]

の置き換えを示す、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1017]

交差遮断が、または5T4への別の抗体の結合を遮断する前記本発明のいずれかの抗体の能力が、蛍光活性化細胞選別 (FACS) アッセイによって、例えば実施例5に記載されるように行われるアッセイにおいて、決定される、本発明1014または本発明1015の抗体。

[本発明1018]

交差遮断が、または5T4への別の抗体の結合を遮断する前記本発明のいずれかの抗体の能力が、コンジュゲート抗体の結合を遮断する非コンジュゲート抗体の能力として決定さ

れ、任意で、

i) 各試料が、ヒト卵巣腺癌SK-OV-3細胞と、5T4に結合する抗体であってフルオレセインイソチオシアネート (FITC) にコンジュゲートされている該抗体と、5T4を標的とする過剰量の非コンジュゲート抗体との混合物を含む、試料セットを用意する工程、

ii) 該試料を4 で30分間インキュベートした後、該試料を遠心分離に供する工程、

iii) 各試料から上清を取り除き、細胞を緩衝液に再懸濁し、フローサイトメーターを使ってFITCの平均蛍光強度 (MFI) を決定する工程、および

iv) 結合のパーセンテージを、以下:

FITCコンジュゲート抗体および非コンジュゲート抗体の混合物と共にインキュベートされた細胞と、FITCコンジュゲート抗体も非コンジュゲート抗体もなしでインキュベートされた細胞との間のMFIの差を100倍し、次にFITCコンジュゲート抗体およびIgG-b12抗体の混合物と共にインキュベートした細胞と、FITCコンジュゲート抗体も非コンジュゲート抗体もなしでインキュベートした細胞との間のMFIの差で割る

の通りに算出する工程

を含む手順で決定される、本発明1014~1016のいずれかの抗体。

[本発明1019]

5T4への別の抗体の結合を遮断する抗体の能力または5T4ECDHis (SEQ ID NO:99の成熟タンパク質) に結合している別の抗体を置き換える抗体の能力が、バイオレイヤー干渉法を使って、例えば実施例3記載のアッセイにおいて決定される、本発明1014~1017のいずれかの抗体。

[本発明1020]

5T4への別の抗体の結合を遮断する抗体の能力、または5T4に結合している別の抗体を置き換える抗体の能力が、バイオレイヤー干渉法を使って、

i) 前記本発明のいずれかの抗体を、10mM酢酸ナトリウム緩衝液中、20 µg/mLの量で、活性化アミン反応性第2世代バイオセンサーに固定化する工程、

ii) 固定化された抗体を持つバイオセンサーをエタノールアミンpH8.5中でクエンチする工程、

iii) 3.6 µg/mL (100nM) のヒト5T4ECDHis (SEQ ID NO:99の成熟タンパク質) を含む組成物中に、固定化された抗体を持つバイオセンサーを、500秒の期間、浸漬する工程、および次に、

iv) 5T4を標的とする該別の抗体を10 µg/mLで含む組成物中に、固定化された抗体および5T4ECDHisを持つバイオセンサーを、500秒の期間にわたって浸漬し、会合応答を決定する工程

を含み、工程 i) ~ iv) が1000rpmで振とうしながら30 の温度において行われる手順で、決定される、本発明1014~1018のいずれかの抗体。

[本発明1021]

SEQ ID NO:1におけるそれぞれの位置を指す各アミノ酸残基のナンバリングでアミノ酸残基R73、Y92およびR94を含む、ヒト5T4上のエピトープまたは抗体結合領域に結合する、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1022]

SEQ ID NO:1におけるそれぞれの位置を指す各アミノ酸残基のナンバリングでアミノ酸残基S69、R73、Y92およびR94を含む、ヒト5T4上のエピトープまたは抗体結合領域に結合する、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1023]

SEQ ID NO:1におけるそれぞれの位置を指す各アミノ酸残基のナンバリングでアミノ酸残基R73、T74、Y92、R94およびN95を含む、ヒト5T4上のエピトープまたは抗体結合領域に結合する、本発明1001~1021のいずれかの抗体。

[本発明1024]

前記アミノ酸残基が、抗体の結合に直接的に関与する、本発明1021~1023のいずれかの抗体。

[本発明1025]

SEQ ID NO:1におけるそれぞれの位置を指す各アミノ酸残基のナンバリングでL89、F111、L117、F138、L144、D148、N152の追加アミノ酸残基のうちの1つまたは複数が、抗体の結合に参与する、例えば、タンパク質のフォールディングに影響を及ぼすことおよび/または抗体の結合に直接的に参与する1つまたは複数のアミノ酸残基の位置決めに影響を及ぼすことなどによって、結合に間接的に参与する、本発明1021～1024のいずれかの抗体。

[本発明1026]

SEQ ID NO:1におけるそれぞれの位置を指す各アミノ酸残基のナンバリングでアミノ酸残基R73、Y92およびR94が、抗体の結合に直接的に参与し、かつアミノ酸残基F111、F138、L144およびD148のうちの1つまたは複数が、該結合に間接的に参与する、ヒト5T4上のエピトープまたは抗体結合領域に結合する、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1027]

SEQ ID NO:1におけるそれぞれの位置を指す各アミノ酸残基のナンバリングでアミノ酸残基S69、R73、Y92およびR94が、抗体の結合に直接的に参与し、かつアミノ酸残基F111、F138およびD148のうちの1つまたは複数が、該結合に間接的に参与する、ヒト5T4上のエピトープまたは抗体結合領域に結合する、本発明1001～1025のいずれかの抗体。

[本発明1028]

SEQ ID NO:1におけるそれぞれの位置を指す各アミノ酸残基のナンバリングでアミノ酸残基R73、T74、Y92、R94およびN95が、抗体の結合に直接的に参与し、かつアミノ酸残基F138が、該結合に間接的に参与する、ヒト5T4上のエピトープまたは抗体結合領域に結合する、本発明1001～1025のいずれかの抗体。

[本発明1029]

前記エピトープまたは抗体結合領域に含まれるアミノ酸残基および任意で1つまたは複数の追加アミノ酸残基が、SEQ ID NO:1に示すアミノ酸配列またはSEQ ID NO:1の成熟ポリペプチド配列を有するヒト5T4のアラニンスキャニングによって同定される、本発明1021～1028のいずれかの抗体。

[本発明1030]

アラニンスキャニングが、本願明細書の実施例16に示されるように、または本願明細書の実施例16に本質的に示されるように、行われる、本発明1029の抗体。

[本発明1031]

アラニンスキャニングが、

i) ヒト5T4の細胞外ドメイン (SEQ ID NO:1のアミノ酸残基32～355に対応する) 中のシステインおよびアラニンを除く全アミノ酸残基がアラニンで個別に置換されている変異ヒト5T4ポリペプチド、ならびに野生型5T4ポリペプチド (SEQ ID NO:1のアミノ酸残基32～355) を、ヒト胎児腎臓細胞、例えばHEK293細胞中で、各変異5T4または野生型5T4について、70～90,000個の細胞、例えば80,000個の細胞を含む試料が得られるように、個別に発現させる工程、

ii) 各試料中の細胞を、フルオレセインイソチオシアネート (FITC) コンジュゲート抗体にコンジュゲートされた抗体20 μL (3 μg/mL; FACS緩衝液中) と共に、室温で40分間インキュベートした後、各試料を150～180 μLのFACS緩衝液 (リン酸緩衝食塩水 + 0.1% [w/v] BSA + 0.02% [w/v] アジ化ナトリウム) で2回洗浄し、各試料中の細胞を30 μLのFACS緩衝液に再懸濁する工程、

iii) 各試料について、該試料中の生存単一細胞集団に関して、細胞1つあたりに結合している抗体の平均量を蛍光強度の幾何平均 (gMFI) として決定し、各試験抗体に関するデータを、以下の式:

$$\text{標準化 } gMFI_{aa \text{ 位置}} = \text{Log}_{10} \left( \frac{gMFI_{\text{試験 Ab}}}{gMFI_{\text{対照 Ab}}} \right)$$

(式中、「aa位置」は、アラニンへと変異させた位置を指す)

を使って、非交差遮断性5T4特異的対照抗体の結合強度に対して標準化する工程を含む手順によって行われ、

抗体の結合の喪失または獲得を表現するために、Z-スコアが、計算：

$$Z\text{-スコア (変化倍率)} = \frac{\text{標準化gMFI}_{aa\text{位置}} - \mu}{\sigma}$$

(式中、 $\mu$ および $\sigma$ はそれぞれ、すべての変異体から算出された標準化gMFIの平均および標準偏差である)

に従って算出され、

特定の5T4変異体に関する対照抗体のgMFIが、(全変異体からの)平均gMFI<sub>対照Ab</sub>の平均gMFI<sub>対照Ab</sub>-2.5×SDより低い場合は、データは解析から除外され、かつ任意で、

ある残基が-1.5直下(例えば-1.5と-1.8の間、例えば-1.5と-1.7の間または例えば-1.5と-1.6の間)のZ-スコアで結合し、その残基が、埋没していると予測され、かつその残基が、

表面に露出していると予測される大半の残基であって、これらの残基に関して結合の喪失または結合の減少が決定される、該大半の残基

から空間的に離れていると予測される場合は、データは解析から除外される、

本発明1029~1030のいずれかの抗体。

[本発明1032]

工程iv)における非交差遮断性5T4特異的対照抗体が、

・SEQ ID NO:83に示すVH配列とSEQ ID NO:84に示すVL配列とを含む抗原結合領域[A1]

、および

・SEQ ID NO:97に示すVH配列とSEQ ID NO:98に示すVL配列とを含む抗原結合領域[B12]

]

を含む二重特異性抗体である、本発明1031の抗体。

[本発明1033]

SEQ ID NO:1におけるそれぞれの位置を指す各アミノ酸残基のナンバリングでアミノ酸残基R73、Y92およびR94のうちの任意の1つまたは複数、アラニンで置換されると、結合の喪失が起こるかまたは結合が減少するように、5T4に結合する、本発明1001~1020のいずれかの抗体。

[本発明1034]

SEQ ID NO:1におけるそれぞれの位置を指す各アミノ酸残基のナンバリングでアミノ酸残基S69、R73、Y92およびR94のうちの任意の1つまたは複数、アラニンで置換されると、結合の喪失が起こるかまたは結合が減少するように、5T4に結合する、本発明1001~1020および本発明1033のいずれかの抗体。

[本発明1035]

SEQ ID NO:1におけるそれぞれの位置を指す各アミノ酸残基のナンバリングでアミノ酸残基R73、T74、Y92、R94およびN95のうちの任意の1つまたは複数、アラニンで置換されると、結合の喪失が起こるかまたは結合が減少するように、5T4に結合する、本発明1001~1020および本発明1033のいずれかの抗体。

[本発明1036]

SEQ ID NO:1におけるそれぞれの位置を指す各アミノ酸残基のナンバリングでアミノ酸残基L89、F111、L117、F138、L144、D148、N152のうちの任意の1つまたは複数、アラニンで置換されると、結合の喪失が起こるかまたは結合が減少するように、5T4に結合する、本発明1001~1020および本発明1033~1035のいずれかの抗体。

[本発明1037]

SEQ ID NO:1におけるそれぞれの位置を指す各アミノ酸残基のナンバリングでアミノ酸残基R73、Y92、R94、F111、F138、L144およびD148のうちの任意の1つまたは複数、アラニンで置換されると、結合の喪失が起こるかまたは結合が減少するように、5T4に結合する、本発明1001~1020および本発明1033~1036のいずれかの抗体。

[本発明1038]

SEQ ID NO:1におけるそれぞれの位置を指す各アミノ酸残基のナンバリングでアミノ酸残基S69、R73、Y92、R94、F111、F138およびD148のうちの任意の1つまたは複数、アラニンで置換されると、結合の喪失が起こるかまたは結合が減少するように、5T4に結合する、本発明1001～1020および本発明1033～1036のいずれかの抗体。

[本発明1039]

SEQ ID NO:1におけるそれぞれの位置を指す各アミノ酸残基のナンバリングでアミノ酸残基R73、T74、Y92、R94、N95およびF138のうちの任意の1つまたは複数、アラニンで置換されると、結合の喪失が起こるかまたは結合が減少するように、5T4に結合する、本発明1001～1020および本発明1033～1036のいずれかの抗体。

[本発明1040]

アラニン置換の効果が、SEQ ID NO:1のアミノ酸残基32～355を含むポリペプチドのアラニンスキニングによって決定される、本発明1033～1039のいずれかの抗体。

[本発明1041]

アラニン置換の効果が、本願明細書の実施例16に示される手順、または本願明細書の実施例16に本質的に示される手順によって決定される、本発明1033～1039のいずれかの抗体。

[本発明1042]

結合の喪失は、結合に関するZ-スコアが1.5未満であると定義され、該Z-スコアは、任意で、本願明細書の実施例16に示されるように、または本願明細書の実施例16に本質的に示されるように、算出される、本発明1033～1039のいずれかの抗体。

[本発明1043]

アラニン置換の効果が、

i) ヒト5T4の細胞外ドメイン (SEQ ID NO:1のアミノ酸残基32～355に対応する) 中のシステインおよびアラニンを除く全アミノ酸残基がアラニンで個別に置換されている変異ヒト5T4ポリペプチド、ならびに野生型5T4ポリペプチドを、ヒト胎児腎臓細胞、例えばHEK293細胞中で、各変異5T4または野生型5T4について、70～90,000個の細胞、例えば80,000個の細胞を含む試料が得られるように、個別に発現させる工程、

ii) 各試料中の細胞を、フルオレセインイソチオシアネート (FITC) コンジュゲート抗体にコンジュゲートされた抗体20 μL (3 μg/mL; FACS緩衝液中) と共に、室温で40分間インキュベートした後、各試料を150～180 μLのFACS緩衝液 (リン酸緩衝食塩水 + 0.1% [w/v] BSA + 0.02% [w/v] アジ化ナトリウム) で2回洗浄し、各試料中の細胞を30 μLのFACS緩衝液に再懸濁する工程、

iii) 各試料について、該試料中の生存単一細胞集団に関して、細胞1つあたりに結合している抗体の平均量を蛍光強度の幾何平均 (gMFI) として決定し、各試験抗体に関するデータを、以下の式:

$$\text{標準化 } gMFI_{aa \text{ 位置}} = \log_{10} \left( \frac{gMFI_{\text{試験 Ab}}}{gMFI_{\text{対照 Ab}}} \right)$$

(式中、「aa位置」は、アラニンへと変異させた位置を指す)

を使って、非交差遮断性5T4特異的対照抗体の結合強度に対して標準化する工程を含む手順によって決定され、

抗体の結合の喪失または獲得を表現するために、Z-スコアが、計算:

$$Z\text{-スコア (変化倍率)} = \frac{\text{標準化 } gMFI_{aa \text{ 位置}} - \mu}{\sigma}$$

(式中、μ および σ はそれぞれ、すべての変異体から算出された標準化gMFIの平均および標準偏差である)

に従って算出され、

特定の5T4変異体に関する対照抗体のgMFIが、(全変異体からの)平均gMFI<sub>対照Ab</sub>の平均gMFI<sub>対照Ab</sub> - 2.5 × SDより低い場合は、データは解析から除外され、かつ任意で、

ある残基が-1.5直下 (例えば-1.5と-1.8の間、例えば-1.5と-1.7の間または例えば-1.5と-1.6の間) のZ-スコアで結合し、その残基が、埋没していると予測され、かつその残基

が、  
 表面に露出していると予測される大半の残基であって、これらの残基に関して結合の喪失  
 または結合の減少が決定される、該大半の残基  
 から空間的に離れていると予測される場合は、データは解析から除外される、  
 本発明1042の抗体。

[本発明1044]

工程iii)における非交差遮断性5T4特異的対照抗体が、  
 ・SEQ ID NO:83に示すVH配列とSEQ ID NO:84に示すVL配列とを含む抗原結合領域 [ A1 ]  
 、および  
 ・SEQ ID NO:97に示すVH配列とSEQ ID NO:98に示すVL配列とを含む抗原結合領域 [ B12 ]  
 を含む二重特異性抗体である、本発明1043の抗体。

[本発明1045]

細胞傷害性部分にコンジュゲートされた場合に、SEQ ID NO:87に示す配列を含む可変重鎖 (VH) 領域とSEQ ID NO:88に示す配列を含む可変軽鎖 (VL) 領域とを含む抗体 [ H8 ] と比較して、低減した細胞傷害によって示される、低減した内在化能を有する、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1046]

細胞傷害が、実施例7に示される手順を使って、例えば  
 i) 前記本発明のいずれかの抗体の第1FabアームとHIVウイルスタンパク質gp120 (HIV-1 gp120) へと結合することができる第2Fabアームとを含み、デュオスタチン (Duostatin) -3にコンジュゲートされている、一価抗体を用意する工程、  
 ii) 乳がん細胞MDA-MB-468 (ATCCクローンHTB-132) またはHCC1954 (ATCCクローンCRL-1338) を該一価抗体と37 °Cで5日間接触させる工程、および  
 iii) 細胞の生存率を決定する工程  
 を含む手順で決定される、本発明1045の抗体。

[本発明1047]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、  
 a) SEQ ID NO:6、7および8のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 059 ]、  
 b) SEQ ID NO:13、14および15のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 076 ]、  
 c) SEQ ID NO:20、21および22のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 085 ]、  
 d) SEQ ID NO:27、28および29のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 106 ]、  
 e) SEQ ID NO:34、35および36のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 127 ]、  
 f) SEQ ID NO:41、42および43のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 207 ]、  
 g) SEQ ID NO:48、49および50のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 226 ]、ならびに  
 h) a) ~ g) のいずれか1つに記載のCDR1、CDR2およびCDR3配列と比較した場合に全部で多くとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、または多くとも10個のアミノ酸置換を含むCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) からなる群より選択される重鎖可変領域 (VH) を含む、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1048]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、  
 a) SEQ ID NO:6、7および8のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 059 ]、

b) SEQ ID NO:41、42および43のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 207 ]、

c) SEQ ID NO:48、49および50のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 226 ]、ならびに

d) a) ~ c) のいずれか1つに記載のCDR1、CDR2およびCDR3配列と比較した場合に全部で多くとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、または多くとも10個のアミノ酸置換を含むCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH)

からなる群より選択される重鎖可変領域 (VH) を含む、前記本発明のいずれかの抗体。 [本発明1049]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:6、7および8のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 059 ] を含む、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1050]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:41、42および43のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 207 ] からなる群より選択される重鎖可変領域 (VH) を含む、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1051]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:48、49および50のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 226 ] からなる群より選択される重鎖可変領域 (VH) を含む、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1052]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、

a) それぞれSEQ ID NO:6、7および8のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) ならびにそれぞれSEQ ID NO:10、AASおよびSEQ ID NO:11のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域 (VL) [ 059 ]、

b) それぞれSEQ ID NO:13、14および15のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) ならびにそれぞれSEQ ID NO:17、DASおよびSEQ ID NO:18のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域 (VL) [ 076 ]、

c) それぞれSEQ ID NO:20、21および22のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) ならびにそれぞれSEQ ID NO:24、DASおよびSEQ ID NO:25のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域 (VL) [ 085 ]、

d) それぞれSEQ ID NO:27、28および29のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) ならびにそれぞれSEQ ID NO:31、DVSおよびSEQ ID NO:32のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域 (VL) [ 106 ]、

e) それぞれSEQ ID NO:34、35および36のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) ならびにそれぞれSEQ ID NO:38、DASおよびSEQ ID NO:39のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域 (VL) [ 127 ]、

f) それぞれSEQ ID NO:41、42および43のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) ならびにそれぞれSEQ ID NO:45、DASおよびSEQ ID NO:46のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域 (VL) [ 207 ]、

g) それぞれSEQ ID NO:48、49および50のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) ならびにそれぞれSEQ ID NO:52、DASおよびSEQ ID NO:53のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域 (VL) [ 226 ]、および

h) 各領域が、a) ~ g) のいずれか1つに記載のCDR1、CDR2およびCDR3配列と比較した場合に全部で多くとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、または多くとも10個のアミノ酸置換を含むCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む、重鎖可変領域 (VH) および軽鎖可変領域 (VL) からなる群より選択される重鎖可変領域 (VH) および軽鎖可変領域 (VL) を含む、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1053]

5T4へと結合することができる抗原結合領域の6つの相補性決定領域 (CDR) が、

iv) SEQ ID NO:6、7、8、10、AASおよびSEQ ID NO:11のCDR配列 [ 059 ]、

v) SEQ ID NO:41、42、43、45、DASおよびSEQ ID NO:46のCDR配列 [ 207 ]、または

vi) SEQ ID NO:48、49、50、52、DASおよびSEQ ID NO:53のCDR配列 [ 226 ]

と比較した場合に全部で多くとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、または多くとも10個のアミノ酸置換を含む、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1054]

アミノ酸置換のうち1個、例えば2、3、4、5、6、7、8、9または10個が保存的アミノ酸置換である、本発明1022～1029のいずれかの抗体。

[本発明1055]

SEQ ID NO:102 (YYGMDV) に示す配列の6連続アミノ酸残基を相補性決定領域3 (CDR3) に含む1つまたは2つの重鎖可変領域を含む [ 059、207、226 ]、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1056]

6連続アミノ酸残基がCDR3内の最もC末側のアミノ酸残基である、本発明1055の抗体。

[本発明1057]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:41 (GGSFSGYY) のCDR1配列、SEQ ID NO:103 (IDHSX<sub>1</sub>ST) のCDR2配列およびSEQ ID NO:104 (AX<sub>2</sub>WFGELX<sub>3</sub>X<sub>4</sub>YYYGMDV) のCDR3配列を含む1つまたは2つの重鎖可変領域 (VH) と、SEQ ID NO:105 (QSVSSX<sub>5</sub>) のCDR1配列、CDR2配列DAS、およびSEQ ID NO:46 (QQRSNWPLT) のCDR3配列を含む軽鎖可変領域 (VL) とを含み、ここで、X<sub>1</sub>はGまたはEであり、X<sub>2</sub>はAまたはGであり、X<sub>3</sub>はWまたはYであり、X<sub>4</sub>はDまたはHであり、かつX<sub>5</sub>はYまたはFである [ 207、226 ]、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1058]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、それぞれSEQ ID NO:6、7および8のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) とそれぞれSEQ ID NO:10、AASおよびSEQ ID NO:11のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域 (VL) とを含む [ 059 ]、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1059]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、それぞれSEQ ID NO:41、42および43のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) とそれぞれSEQ ID NO:45、DASおよびSEQ ID NO:46のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域 (VL) とを含む [ 207 ]、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1060]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、それぞれSEQ ID NO:48、49および50のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) とそれぞれSEQ ID NO:52、DASおよびSEQ ID NO:53のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域 (VL) とを含む [ 226 ]、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1061]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、

a) SEQ ID NO:5の配列を含むかまたはSEQ ID NO:5の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 059 ]、

b) SEQ ID NO:12の配列を含むかまたはSEQ ID NO:12の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 076 ]、

c) SEQ ID NO:19の配列を含むかまたはSEQ ID NO:19の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 085 ]、

d) SEQ ID NO:26の配列を含むかまたはSEQ ID NO:26の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 106 ]、

e) SEQ ID NO:33の配列を含むかまたはSEQ ID NO:33の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 127 ]、

f) SEQ ID NO:40の配列を含むかまたはSEQ ID NO:40の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 207 ]、および

g) SEQ ID NO:47の配列を含むかまたはSEQ ID NO:47の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 226 ]

からなる群より選択される重鎖可変領域 (VH) を含む、前記本発明のいずれかの抗体。  
[本発明1062]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:5の配列を含むかまたはSEQ ID NO:5の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) を含む [ 059 ]、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1063]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:40の配列を含むかまたはSEQ ID NO:40の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) を含む [ 207 ]、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1064]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:47の配列を含むかまたはSEQ ID NO:47の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) を含む [ 226 ]、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1065]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、

a) SEQ ID NO:5の配列を含むかまたはSEQ ID NO:5の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) およびSEQ ID NO:9の配列を含むかまたはSEQ ID NO:9の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変領域 (VL) [ 059 ]、

b) SEQ ID NO:12の配列を含むかまたはSEQ ID NO:12の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) およびSEQ ID NO:16の配列を含むかまたはSEQ ID NO:16の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変領域 (VL) [ 076 ]、

c) SEQ ID NO:19の配列を含むかまたはSEQ ID NO:19の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) およびSEQ ID NO:23の配列を含むかまたはSEQ ID NO:23の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変領域 (VL) [ 085 ]、

d) SEQ ID NO:26の配列を含むかまたはSEQ ID NO:26の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) およびSEQ ID NO:30の配列を含むかまたはSEQ ID NO:30の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変領域 (VL) [ 106 ]、

e) SEQ ID NO:33の配列を含むかまたはSEQ ID NO:33の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) およびSEQ ID NO:37の配列を含むかまたはSEQ ID NO:37の

配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変領域(VL) [127]、

f) SEQ ID NO:40の配列を含むかまたはSEQ ID NO:40の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域(VH)およびSEQ ID NO:44の配列を含むかまたはSEQ ID NO:44の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変領域(VL) [207]、

g) SEQ ID NO:47の配列を含むかまたはSEQ ID NO:47の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域(VH)およびSEQ ID NO:51の配列を含むかまたはSEQ ID NO:51の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変領域(VL) [226]

からなる群より選択される重鎖可変領域(VH)および軽鎖可変領域(VL)を含む、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1066]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、

a) SEQ ID NO:5の配列を含む重鎖可変領域(VH)およびSEQ ID NO:9の配列を含む軽鎖可変領域(VL) [059]、

b) SEQ ID NO:12の配列を含む重鎖可変領域(VH)およびSEQ ID NO:16の配列を含む軽鎖可変領域(VL) [076]、

c) SEQ ID NO:19の配列を含む重鎖可変領域(VH)およびSEQ ID NO:23の配列を含む軽鎖可変領域(VL) [085]、

d) SEQ ID NO:26の配列を含む重鎖可変領域(VH)およびSEQ ID NO:30の配列を含む軽鎖可変領域(VL) [106]、

e) SEQ ID NO:33の配列を含む重鎖可変領域(VH)およびSEQ ID NO:37の配列を含む軽鎖可変領域(VL) [127]、

f) SEQ ID NO:40の配列を含む重鎖可変領域(VH)およびSEQ ID NO:44の配列を含む軽鎖可変領域(VL) [207]、および

g) SEQ ID NO:47の配列を含む重鎖可変領域(VH)およびSEQ ID NO:51の配列を含む軽鎖可変領域(VL) [226]

からなる群より選択される重鎖可変領域(VH)および軽鎖可変領域(VL)を含む、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1067]

完全長IgG1抗体などの完全長抗体である、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1068]

一価抗体である、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1069]

二価抗体である、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1070]

単一特異性抗体である、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1071]

二重特異性抗体である、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1072]

CD3、例えばヒトCD3 (イプシロン)、例えばSEQ ID NO:4に明示されるヒトCD3 (イプシロン)に結合する抗体の抗原結合領域を含む、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1073]

CD3に結合する抗原結合領域が、

それぞれSEQ ID NO:54、55および56のCDR1、CDR2およびCDR3配列 [野生型抗CD3 (SP34/ヒト化SP34、WO2015001085 (Genmab)) - VH CDR配列]を含む重鎖可変領域(VH)、および任意で、

それぞれSEQ ID NO:58、GTNおよびSEQ ID NO:59のCDR1、CDR2およびCDR3配列 [ 野生型抗CD3、VL CDR配列 ] を含む軽鎖可変領域 (VL) を含む、本発明1072の抗体。

[本発明1074]

CD3に結合する抗原結合領域が、

SEQ ID NO:57の配列を含むかまたはSEQ ID NO:57の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) [ 野生型抗CD3 - VH完全長配列 ]、および任意で、

SEQ ID NO:60の配列を含むかまたはSEQ ID NO:60の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変領域 (VL) [ 野生型抗CD3 - VL完全長配列 ] を含む、本発明1072または本発明1073の抗体。

[本発明1075]

SEQ ID NO:57に示すVH配列とSEQ ID NO:60に示すVL配列 [ 野生型抗CD3 ( ヒト化SP34、W02015001085 ( Genmab ) ) VHおよびVL配列 ] を含む抗原結合領域を有する抗体よりも低いヒトCD3 結合親和性を有し、好ましくは該親和性が、少なくとも5分の1、例えば少なくとも10分の1、例えば少なくとも20分の1、少なくとも30分の1、少なくとも40分の1、少なくとも45分の1または例えば少なくとも50分の1である、本発明1072~1074のいずれかの抗体。

[本発明1076]

抗原結合領域が、200~1000nMの範囲内、例えば300~1000nMの範囲内、400~1000nMの範囲内、500~1000nMの範囲内、300~900nMの範囲内、400~900nMの範囲内、400~700nMの範囲内、500~900nMの範囲内、500~800nMの範囲内、500~700nMの範囲内、600~1000nMの範囲内、600~900nMの範囲内、600~800nMの範囲内、または例えば600~700nMの範囲内の平衡解離定数 $K_D$ でCD3に結合する、本発明1072~1074のいずれかの抗体。

[本発明1077]

抗原結合領域が、1~100nMの範囲内、例えば5~100nMの範囲内、10~100nMの範囲内、1~80nMの範囲内、1~60nMの範囲内、1~40nMの範囲内、1~20nMの範囲内、5~80nMの範囲内、5~60nMの範囲内、5~40nMの範囲内、5~20nMの範囲内、10~80nMの範囲内、10~60nMの範囲内、10~40nMの範囲内、または例えば10~20nMの範囲内の平衡解離定数 $K_D$ でCD3に結合する、本発明1072または本発明1075の抗体。

[本発明1078]

CD3に結合する抗原結合領域が、CDR1配列、CDR2配列およびCDR3配列を含む重鎖可変 (VH) 領域を含み、

該重鎖可変 (VH) 領域は、SEQ ID NO:57に示す配列を含む重鎖可変 (VH) 領域と比較した場合に、CDR配列のうちの一つに、SEQ ID NO:57 [ VH\_huCD3-H1L1 ] の配列に従ってナンバリングされた位置でT31、N57、H101、G105、S110およびY114からなる群より選択される位置にあるアミノ酸置換を有し、かつ

野生型軽鎖可変 (VL) 領域が、それぞれSEQ ID NO:58、GTNおよびSEQ ID NO:59に示すCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む、本発明1072~1077のいずれかの抗体。

[本発明1079]

CD3に結合する抗原結合領域の重鎖可変 (VH) 領域のCDR1、CDR2およびCDR3が、SEQ ID NO:57に示す配列のCDR1、CDR2およびCDR3と比較した場合に、全部で多くとも1、2、3、4または5個のアミノ酸置換を含む、本発明1072の抗体。

[本発明1080]

CD3に結合する抗原結合領域の重鎖可変 (VH) 領域のCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列が、野生型重鎖可変 (VH) 領域のCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列に対して、少なくとも95%の配列同一性、例えば少なくとも96%の配列同一性、少なくとも97%の配列

同一性、少なくとも98%の配列同一性または少なくとも99%の配列同一性を有し、配列同一性は、CDに結合する抗原結合領域の重鎖可変（VH）領域のCDR1、CDR2およびCDR3の配列からなるアミノ酸配列と野生型重鎖可変（VH）領域のCDR1、CDR2およびCDR3の配列を含むアミノ酸配列とのアラインメントに基づいて算出される、本発明1072または本発明1073の抗体。

[本発明1081]

CD3に結合する抗原結合領域が、T31M、T31P、N57E、H101G、H101N、G105P、S110A、S110G、Y114M、Y114R、Y114Vからなる群より選択される変異を含む、本発明1072～1074のいずれかの抗体。

[本発明1082]

Fc媒介性エフェクター機能を欠くかまたは低減したFc媒介性エフェクター機能を有し（「不活性」抗体）、かつCD3に結合する抗体の抗原結合領域を含む、二重特異性抗体である場合に、

a) 精製されたPBMCまたはT細胞をエフェクター細胞として使用した場合に、例えば本願明細書の実施例14に記載されるようにアッセイした場合に、SK-OV-3細胞の濃度依存的細胞傷害を媒介することができ、

b) 精製されたT細胞をエフェクター細胞として使用した場合に、例えば本願明細書の実施例13に記載されるようにアッセイした場合に、MDA-MB-231の細胞濃度依存的細胞傷害を媒介することができ、

c) MDA-MB-231腫瘍細胞の存在下で、例えば本願明細書の実施例13に記載されるようにアッセイした場合に、T細胞をインビトロで活性化することができ、

d) BxPC-3、PANC-1、Ca Skiおよび/またはSiHa腫瘍細胞の存在下で、例えば本願明細書の実施例17に記載されるようにアッセイした場合に、T細胞をインビトロで活性化することができ、

e) 精製されたT細胞をエフェクター細胞として使用した場合に、例えば本願明細書の実施例17に記載されるようにアッセイした場合に、BxPC-3、PANC-1、Ca Skiおよび/またはSiHa腫瘍細胞の細胞傷害を誘導することができ、かつ/または

f) ヒトMDA-MB-231腫瘍細胞を接種されたNOD.Cg-Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJなどのヒト化免疫造血幹細胞再構成マウス異種移植片モデルにおいて、例えば実施例15に記載されるように判定した場合に、腫瘍アウトグロースの遅延などの抗腫瘍活性を示す、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1083]

SK-OV-3細胞の濃度依存的細胞傷害を媒介する抗体の能力が、

i) 健常ヒトドナーパフィーコートから末梢血単核球（PBMC）またはT細胞を単離する工程、

ii) 各試料がPBMCとヒト卵巣腺癌SK-OV-3細胞とを含み、該試料におけるPBMC:SK-OV-3細胞の比が1:2、1:1、2:1、4:1、8:1および12:1である、第1試料セット、および

各試料がT細胞とヒト卵巣腺癌SK-OV-3細胞とを含み、該試料におけるT細胞:SK-OV-3細胞の比が1:2、1:1、2:1、4:1および8:1である、第2試料セット

を用意する工程、

iii) 各試料セットに該抗体を、0.0128ng/mL～1000ng/mLの範囲の濃度で加え、該試料を37℃で72時間インキュベートする工程、そして次に、

iv) レサズリン（7-ヒドロキシ-3H-フェノキサジン-3-オン10-オキシド）を使ってSK-OV-3細胞の生存率を評価する工程

を含むインビトロ細胞傷害性アッセイにおいて決定される、本発明1082の抗体。

[本発明1084]

MDA-MB-231腫瘍細胞の存在下でT細胞をインビトロで活性化する能力が、

i) 健常ヒトドナーパフィーコートからT細胞を単離する工程、

ii) 各試料がT細胞とヒト乳癌MDA-MB-231細胞とを含み、該試料におけるT細胞:MDA-MB-231細胞の比が8:1である、試料セットを用意する工程、

iii) 該試料セットに抗体を、0.0128ng/mL ~ 1000ng/mLの範囲の濃度で加え、該試料を37 で72時間インキュベートする工程、

iv) T細胞活性化マーカーに対する蛍光標識抗体、例えばCD69-APC、CD25-PE-Cy7およびCD279/PD1-BV604抗体と共に4 で30分間インキュベートすることによって、T細胞を染色する工程、および

v) 試料をフローサイトメトリーによって解析する工程を含むアッセイにおいて決定される、本発明1082の抗体。

[本発明1085]

BxPC-3、PANC-1、Ca Skiおよび/またはSiHa腫瘍細胞の存在下での、T細胞のインビトロでの活性化が、

i) 健常ヒトドナーパフィーコートからT細胞を単離する工程、

ii) 各試料が該T細胞とBxPC-3、PANC-1、Ca SkiまたはSiHa腫瘍細胞とを含み、該試料におけるT細胞:腫瘍細胞の比が4:1である、試料セットを用意する工程、

iii) 該試料セットに抗体を0.0128ng/mL ~ 5000ng/mLの濃度(例えば5倍希釈法)で加え、該試料を37 で72時間インキュベートする工程、

iv) 各試料からT細胞を含有する上清110 μLを収集し、T細胞マーカーに対する蛍光標識抗体、例えばCD3-eFluor450、CD4-APC-eFluor780、DC8-AF700、ならびにT細胞マーカーに対する抗体、例えば69-APC、CD25-PE-Cy7およびCD279/PD1-BV604抗体と共に4 で30分間インキュベートすることによって、T細胞を染色する工程、および

v) 試料をフローサイトメトリーによって解析する工程を含む手順で決定される、本発明1082の抗体。

[本発明1086]

BxPC-3、PANC-1、Ca Skiおよび/またはSiHa腫瘍細胞の細胞傷害を誘導する能力が、

i) 健常ヒトドナーパフィーコートから単離されたT細胞を用意する工程、

ii) 各試料が、該T細胞と、96ウェル組織培養プレートの底に接着させたBxPC-3、PANC-1、Ca SkiまたはSiHa腫瘍細胞とを含み、該試料におけるT細胞:腫瘍細胞の比が4:1である、試験試料セットおよび対照試料を用意する工程、

iii) 試験試料セットに抗体を0.0128ng/mL ~ 5000ng/mLの範囲の濃度(例えば5倍希釈法)で加え、一方、対照試料は無処理のままにしておくか、5 μMスタウロスポリンと共にインキュベートし、すべての試料を37 で72時間インキュベートする工程、

iv) 接着細胞を、10% (w/w)の鉄含有ドナーウシ血清およびペニシリン/ストレプトマイシンを補足したRPMI-1640培地中の10% (w/w) 7-ヒドロキシ-3H-フェノキサジン-3-オン10-オキシド(レサズリン)において、37 で4時間インキュベートする工程、

v) 細胞の吸光度を測定し、スタウロスポリンと共にインキュベートした細胞の吸光度を生存率0%と設定し、かつ無処理の細胞を生存率100%と設定して、生存細胞のパーセンテージを

$$x100\% \text{ 生存細胞} = \left( \frac{[\text{試料の吸光度}-\text{スタウロスポリン処理細胞の吸光度}]}{[\text{無処理細胞の吸光度}-\text{スタウロスポリン処理細胞の吸光度}]} \right)$$

として算出する工程

を含む手順で決定される、本発明1082の抗体。

[本発明1087]

CD3へと結合することができる抗原結合領域が、

a) それぞれSEQ ID NO:61、55および56に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域(VH) [VH CDR1-T31P + 野生型VH CDR2、3]ならびにそれぞれSEQ ID NO:58に示す配列、配列GTNおよびSEQ ID NO:59に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域(VL) [野生型VL CDR1、2、3]、または

b) それぞれSEQ ID NO:63、55および56に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域(VH) [VH CDR1-T31M + 野生型VH CDR2、3]ならびにそれぞれSEQ ID NO:58に示す配列、配列GTNおよびSEQ ID NO:59に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域(VL) [野生型VL CDR1、2、3]、または

c) それぞれSEQ ID NO:54、65および56に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域 (VH) [野生型VH CDR1、3]ならびにそれぞれSEQ ID NO:58に示す配列、配列GTNおよびSEQ ID NO:59に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域 (VL) [野生型VL CDR1、2、3]、または

d) それぞれSEQ ID NO:54、55および67に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域 (VH) [野生型VH CDR1、2 + VH CDR3-H101G]ならびにそれぞれSEQ ID NO:58に示す配列、配列GTNおよびSEQ ID NO:59に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域 (VL) [野生型VL CDR1、2、3]

e) それぞれSEQ ID NO:54、55および69に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域 (VH) [野生型VH CDR1、2 + VH CDR3-H101N]ならびにそれぞれSEQ ID NO:58に示す配列、配列GTNおよびSEQ ID NO:59に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域 (VL) [野生型VL CDR1、2、3]、

f) それぞれSEQ ID NO:54、55および71に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域 (VH) [野生型VH CDR1、2 + VH CDR3-G105P]ならびにそれぞれSEQ ID NO:58に示す配列、配列GTNおよびSEQ ID NO:59に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域 (VL) [野生型VL CDR1、2、3]、

g) それぞれSEQ ID NO:54、55および73に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域 (VH) [野生型VH CDR1、2 + VH CDR3-S110A]ならびにそれぞれSEQ ID NO:58に示す配列、配列GTNおよびSEQ ID NO:59に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域 (VL) [野生型VL CDR1、2、3]、または

h) それぞれSEQ ID NO:54、55および75に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域 (VH) [野生型VH CDR1、2 + VH CDR3-S110G]ならびにそれぞれSEQ ID NO:58に示す配列、配列GTNおよびSEQ ID NO:59に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域 (VL) [野生型VL CDR1、2、3]、

i) それぞれSEQ ID NO:54、55および77に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域 (VH) [野生型VH CDR1、2 + VH CDR3-Y114V]ならびにそれぞれSEQ ID NO:58に示す配列、配列GTNおよびSEQ ID NO:59に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域 (VL) [野生型VL CDR1、2、3]、または

j) それぞれSEQ ID NO:54、55および79に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域 (VH) [野生型VH CDR1、2 + VH CDR3-Y114M]ならびにそれぞれSEQ ID NO:58に示す配列、配列GTNおよびSEQ ID NO:59に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域 (VL) [野生型VL CDR1、2、3]、または

k) それぞれSEQ ID NO:54、55および81に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域 (VH) [野生型VH CDR1、2 + VH CDR3-Y114R]ならびにそれぞれSEQ ID NO:58に示す配列、配列GTNおよびSEQ ID NO:59に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域 (VL) [野生型VL CDR1、2、3]

を含む、本発明1072および本発明1078～1084のいずれかの抗体。

[本発明1088]

CD3へと結合することができる抗原結合領域が、それぞれSEQ ID NO:54、55および67に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域 (VH) [野生型VH CDR1、2 + VH CDR3-H101G]と、それぞれSEQ ID NO:58に示す配列、配列GTNおよびSEQ ID NO:59に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域 (VL) [野生型VL CDR1、2、3]とを含む、本発明1072および本発明1078～1085のいずれかの抗体。

[本発明1089]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、それぞれSEQ ID NO:6、7および8のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH)と、それぞれSEQ ID NO:10、AASおよびSEQ ID NO:11のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域 (VL)とを含み [059]、  
かつ

CD3へと結合することができる抗原結合領域が、それぞれSEQ ID NO:54、55および67に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域 (VH) [野生型VH CDR1、2 +

VH CDR3-H101G ] と、それぞれSEQ ID NO:58に示す配列、配列GTNおよびSEQ ID NO:59に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域 (VL) [ 野生型VL CDR1、2、3 ] とを含む、

本発明1072および本発明1078～1085のいずれかの抗体。

[ 本発明1090 ]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、それぞれSEQ ID NO:41、42および43のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) と、それぞれSEQ ID NO:45、DASおよびSEQ ID NO:46のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域 (VL) とを含み [ 207 ]

、

かつ

CD3へと結合することができる抗原結合領域が、それぞれSEQ ID NO:54、55および67に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域 (VH) [ 野生型VH CDR1、2 + VH CDR3-H101G ] と、それぞれSEQ ID NO:58に示す配列、配列GTNおよびSEQ ID NO:59に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域 (VL) [ 野生型VL CDR1、2、3 ] とを含む、

本発明1072および本発明1078～1085のいずれかの抗体。

[ 本発明1091 ]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、それぞれSEQ ID NO:48、49および50のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH) と、それぞれSEQ ID NO:52、DASおよびSEQ ID NO:53のCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域 (VL) とを含み [ 226 ]

、

かつ

CD3へと結合することができる抗原結合領域が、それぞれSEQ ID NO:54、55および67に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域 (VH) [ 野生型VH CDR1、2 + VH CDR3-H101G ] と、それぞれSEQ ID NO:58に示す配列、配列GTNおよびSEQ ID NO:59に示す配列を有するCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域 (VL) [ 野生型VL CDR1、2、3 ] とを含む、

本発明1047および本発明1051～1059のいずれかの抗体。

[ 本発明1092 ]

ヒトCD3へと結合することができる抗原結合領域が、

a) SEQ ID NO:62に示すVH配列 [ VH T31P完全長配列 ] およびSEQ ID NO:60に示すVL配列 [ 野生型完全長配列 ]、

b) SEQ ID NO:64に示すVH配列 [ VH T31M完全長配列 ] およびSEQ ID NO:60に示すVL配列

、

c) SEQ ID NO:66に示すVH配列 [ VH N57E完全長配列 ] およびSEQ ID NO:60に示すVL配列

、

d) SEQ ID NO:68に示すVH配列 [ VH H101G完全長配列 ] およびSEQ ID NO:60に示すVL配列、

e) SEQ ID NO:70に示すVH配列 [ VH H101N完全長配列 ] およびSEQ ID NO:60に示すVL配列、

f) SEQ ID NO:72に示すVH配列 [ VH G105P完全長配列 ] およびSEQ ID NO:60に示すVL配列、

g) SEQ ID NO:74に示すVH配列 [ VH S110A完全長配列 ] およびSEQ ID NO:60に示すVL配列、

h) SEQ ID NO:76に示すVH配列 [ VH S110G完全長配列 ] およびSEQ ID NO:60に示すVL配列、

i) SEQ ID NO:78に示すVH配列 [ VH Y114V完全長配列 ] およびSEQ ID NO:60に示すVL配列、

j) SEQ ID NO:80に示すVH配列 [ VH Y114M完全長配列 ] およびSEQ ID NO:60に示すVL配列、ならびに

k) SEQ ID NO:82に示すVH配列 [ VH Y114R完全長配列 ] およびSEQ ID NO:60に示すVL配列  
からなる群より選択されるVH配列およびVL配列を含む、本発明1072および本発明1078～10  
91のいずれかの抗体。

[本発明1093]

ヒトCD3へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:68に示すVH配列 [ VH H1  
01G完全長配列 ] と、SEQ ID NO:60に示すVL配列とを含む、本発明1072および本発明1078  
～1092のいずれかの抗体。

[本発明1094]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:5の配列を含むかまたはSEQ  
ID NO:5の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少な  
くとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) を含み [ 059 -  
VH完全長配列 ]、

かつ

ヒトCD3へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:68に示すVH配列 [ VH H1  
01G完全長配列 ] と、SEQ ID NO:60に示すVL配列とを含む、  
本発明1078～1093のいずれかの抗体。

[本発明1095]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:40の配列を含むかまたはSEQ  
ID NO:40の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少  
なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) を含み [ 207  
- VH完全長配列 ]、

かつ

ヒトCD3へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:68に示すVH配列 [ VH H1  
01G完全長配列 ] と、SEQ ID NO:60に示すVL配列とを含む、  
本発明1072および本発明1078～1093のいずれかの抗体。

[本発明1096]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:47の配列を含むかまたはSEQ  
ID NO:47の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少  
なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) を含み [ 226  
- VH完全長配列 ]、

かつ

ヒトCD3へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:68に示すVH配列 [ VH H1  
01G完全長配列 ] と、SEQ ID NO:60に示すVL配列とを含む、  
本発明1047および本発明1051～1064のいずれかの抗体。

[本発明1097]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:5の配列を含むかまたはSEQ  
ID NO:5の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少な  
くとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) と、SEQ ID NO:  
9の配列を含むかまたはSEQ ID NO:9に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なく  
とも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖軽領域 (he  
avy chain light region) (VL) を含み [ 059 ]、

かつ

ヒトCD3へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:68に示すVH配列 [ VH H1  
01G完全長配列 ] と、SEQ ID NO:60に示すVL配列とを含む、  
本発明1072および本発明1078～1094のいずれかの抗体。

[本発明1098]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:40の配列を含むかまたはSEQ  
ID NO:40の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少  
なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域 (VH) と、SEQ ID N

0:44の配列を含むかまたはSEQ ID NO:44に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖軽領域(VL) [207 - VH + VL完全長配列] を含み、  
かつ

ヒトCD3へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:68に示すVH配列 [VH H1 01G完全長配列] と、SEQ ID NO:60に示すVL配列とを含む、  
本発明1072、本発明1078～1093および本発明1095のいずれかの抗体。

[本発明1099]

5T4へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:47の配列を含むかまたはSEQ ID NO:47の配列に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖可変領域(VH)と、SEQ ID NO:51の配列を含むかまたはSEQ ID NO:51に対して少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%もしくは少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む重鎖軽領域(VL) [226 - VH + VL完全長配列] とを含み、

かつ

ヒトCD3へと結合することができる抗原結合領域が、SEQ ID NO:68に示すVH配列 [VH H1 01G完全長配列] と、SEQ ID NO:60に示すVL配列とを含む、  
本発明1072、本発明1078～1093および本発明1096のいずれかの抗体。

[本発明1100]

各抗原結合領域が重鎖可変領域(VH)と軽鎖可変領域(VL)とを含み、該可変領域がそれぞれ、3つのCDR配列、それぞれCDR1、CDR2およびCDR3と、4つのフレームワーク配列、それぞれFR1、FR2、FR3およびFR4とを含む、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1101]

2つの重鎖定常領域(CH)と2つの軽鎖定常領域(CL)とを含む、本発明1100の抗体。

[本発明1102]

第1重鎖および第2重鎖を含み、

該第1重鎖および該第2重鎖のそれぞれは、少なくともヒンジ領域、CH2およびCH3領域を含み、該第1重鎖では、ヒトIgG1重鎖中のT366、L368、K370、D399、F405、Y407およびK409からなる群より選択される位置に対応する位置にあるアミノ酸のうちの少なくとも1つが置換されており、かつ該第2重鎖では、ヒトIgG1重鎖のT366、L368、K370、D399、F405、Y407およびK409からなる群より選択される位置に対応する位置にあるアミノ酸のうちの少なくとも1つが置換されており、該第1重鎖と該第2重鎖の該置換は同じ位置にはなく、該アミノ酸位置はEUナンバリングに従ってナンバリングされている、  
本発明1100または本発明1101の抗体。

[本発明1103]

前記第1重鎖ではヒトIgG1重鎖中のK409に対応する位置にあるアミノ酸がRであり、かつ前記第2重鎖ではヒトIgG1重鎖中のF405に対応する位置にあるアミノ酸がLである、またはその逆である、本発明1100～1102のいずれかの抗体。

[本発明1104]

第1重鎖および第2重鎖を含み、

該第1重鎖と該第2重鎖のどちらにおいても、EUナンバリングでヒトIgG1重鎖中の位置L234およびL235に対応する位置にあるアミノ酸残基が、それぞれFおよびEである、  
前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1105]

第1重鎖および第2重鎖を含み、

該第1重鎖と該第2重鎖のどちらにおいても、EUナンバリングでヒトIgG1重鎖中の位置D265に対応する位置にあるアミノ酸残基がAである、  
前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1106]

a) 5T4へと結合することができる抗原結合領域がヒト化されており、かつ/または

b) CD3へと結合することができる抗原結合領域が、存在する場合、ヒト化されている、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1107]

a) 5T4へと結合することができる抗原結合領域がヒトのものであり、かつ/または  
b) CD3へと結合することができる抗原結合領域が、存在する場合、ヒトのものである、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1108]

a) 5T4へと結合することができる抗原結合領域がキメラであり、かつ/または  
b) CD3へと結合することができる抗原結合領域が、存在する場合、キメラである、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1109]

第1重鎖および任意で第2重鎖を含み、  
抗体がFc媒介性エフェクター機能を同一の非改変抗体と比べて低い程度に誘導するように、該第1重鎖と、存在する場合、該第2重鎖とが改変されている、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1110]

カッパ( )軽鎖を含む、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1111]

ラムダ( )軽鎖を含む、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1112]

例えばCD3へと結合することができる結合領域を含む重鎖およびラムダ軽鎖と5T4へと結合することができる結合領域を含む重鎖およびカッパ軽鎖とを持つ抗体などの、ラムダ( )軽鎖およびカッパ( )軽鎖を含む、前記本発明のいずれかの抗体。

[本発明1113]

前記本発明のいずれかの抗体と、治療部分、例えば細胞傷害性作用物質、化学治療薬、サイトカイン、免疫抑制薬、抗生物質、または放射性同位体とを含む、イムノコンジュゲートまたは抗体-薬物コンジュゲート(ADC)。

[本発明1114]

a) 本発明1001~1113のいずれかの5T4へと結合することができる抗原結合領域を含む抗体の重鎖配列をコードする核酸配列、および/または  
b) 本発明1072~1113のいずれかの5T4へと結合することができる抗原結合領域を含む抗体の軽鎖配列をコードする核酸配列  
を含む、核酸構築物。

[本発明1115]

a) 本発明1072~1113のいずれかのCD3へと結合することができる抗原結合領域を含む抗体の重鎖配列をコードする核酸配列、および/または  
b) 本発明1072~1113のいずれかのCD3へと結合することができる抗原結合領域を含む抗体の軽鎖配列をコードする核酸配列  
をさらに含む、本発明1114の核酸構築物。

[本発明1116]

a) 本発明1001~1112のいずれかの5T4へと結合することができる抗原結合領域を含む抗体の重鎖配列をコードする核酸配列、および/または  
b) 本発明1001~1112のいずれかの5T4へと結合することができる抗原結合領域を含む抗体の軽鎖配列をコードする核酸配列  
を含む、発現ベクター。

[本発明1117]

a) 本発明1072~1112のいずれかのCD3へと結合することができる抗原結合領域を含む抗体の重鎖配列をコードする核酸配列、および/または  
b) 本発明1072~1112のいずれかのCD3へと結合することができる抗原結合領域を含む抗体の軽鎖配列をコードする核酸配列

をさらに含む、本発明1116の発現ベクター。

[本発明1118]

例えば本発明1114～1115のいずれかの核酸構築物または本発明1116もしくは本発明1117の発現ベクターを宿主細胞にトランスフェクトすることによって得られた細胞、例えば組換え宿主細胞などの、本発明1114～1115のいずれかの核酸構築物または本発明1116もしくは本発明1117の発現ベクターを含む、細胞。

[本発明1119]

宿主細胞が、ヒト由来のもの、例えばヒト胎児腎臓（HEK）細胞、例えばHEK/Expi細胞であるか、または齧歯類由来のもの、例えばチャイニーズハムスター卵巣細胞、例えばCHO/N50細胞である、本発明1118の細胞。

[本発明1120]

本発明1001～1112のいずれかの抗体を含む、組成物。

[本発明1121]

本発明1001～1112のいずれかの抗体と薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物。

[本発明1122]

医薬としての使用のための、本発明1001～1112のいずれかの抗体。

[本発明1123]

疾患の処置における使用のための、本発明1001～1112のいずれかの抗体。

[本発明1124]

疾患が、がんである、本発明1122または本発明1123の使用のための抗体。

[本発明1125]

がんが、腫瘍細胞の少なくとも一部における5T4の発現を特徴とする、本発明1124の使用のための抗体。

[本発明1126]

がんが、腎臓がん/腎がん、乳がん、結腸直腸がん、前立腺がん、卵巣がん、膀胱がん、子宮がん/子宮内膜がん/子宮頸がん、肺がん、胃腸がん、胃がん、膵がん、甲状腺がん、頭頸部がん、リンパ腫、急性骨髄性白血病からなる群より選択される、本発明1122～1125のいずれかの使用のための抗体。

[本発明1127]

本発明1001～1112のいずれかの抗体、本発明1120の組成物、または本発明1121の薬学的組成物を、その必要がある対象に投与する工程を含む、疾患を処置する方法。

[本発明1128]

がんの処置のためである、本発明1127の方法。

[本発明1129]

がんが、腎臓がん/腎がん、乳がん、結腸直腸がん、前立腺がん、卵巣がん、膀胱がん、子宮がん/子宮内膜がん/子宮頸がん、肺がん、胃腸がん、胃がん、膵がん、甲状腺がん、頭頸部がん、リンパ腫、急性骨髄性白血病からなる群より選択される、本発明1128の方法。

[本発明1130]

a) 本発明1114または本発明1117の発現ベクターを含む宿主細胞を、培養する工程、および

b) 培養培地から抗体を精製する工程を含む、本発明1001～1112のいずれかの抗体を産生するための方法。

[本発明1131]

a) 本発明1116または本発明1117の発現ベクターを含む宿主細胞を、5T4へと結合することができる抗体の発現が可能な条件下で培養し、かつ5T4へと結合することができる抗体を培養培地から精製することによって、5T4へと結合することができる抗体を用意する工程、

b) i) 本発明1072～1123のいずれかのCD3へと結合することができる抗原結合領域を含

む抗体の重鎖配列をコードする核酸配列、および

II) 本発明1072～1112のいずれかのCD3へと結合することができる抗原結合領域を含む抗体の軽鎖配列をコードする核酸配列

を含む発現ベクターを含む宿主細胞を、CD3へと結合することができる抗体の発現が可能な条件下で培養し、かつCD3へと結合することができる抗体を培養培地から精製することによって、CD3へと結合することができる抗体を用意する工程、

c) 5T4へと結合することができる抗体を、CD3へと結合することができる抗体と一緒に、ヒンジ領域中のシステインがジスルフィド結合の異性化を起こすことを可能にするのに十分な還元条件下でインキュベートする工程、ならびに

d) 抗体を得る工程

を含む、本発明1001～1112のいずれかの抗体を産生するための方法。

[本発明1132]

例えばコンパニオン診断薬としての使用/患者の集団内で本発明1001～1112のいずれかの抗体または本発明1113のイムノコンジュゲートもしくは抗体-薬物コンジュゲート(ADC)による処置に応答する性質を有する患者を同定するための使用のための、または患者の処置に使用された場合の該抗体またはイムノコンジュゲートもしくはADCの有効性を予測するための使用のためのキットなどの、部分からなるキット(kit-of-parts)であって、本発明1001～1112のいずれかの抗体と、該キットの使用説明書とを含む、キット。

[本発明1133]

本発明1001～1112のいずれかの5T4へと結合することができる抗原結合領域に結合する、抗イディオタイプ抗体。