

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号  
特表2025-512466  
(P2025-512466A)

(43)公表日 令和7年4月17日(2025.4.17)

| (51)国際特許分類 |                 | F I     |        | テーマコード (参考) |                    |
|------------|-----------------|---------|--------|-------------|--------------------|
| A 6 1 K    | 47/68 (2017.01) | A 6 1 K | 47/68  |             | 4 C 0 7 6          |
| A 6 1 K    | 39/395(2006.01) | A 6 1 K | 39/395 | L           | 4 C 0 8 5          |
| A 6 1 P    | 35/00 (2006.01) | A 6 1 K | 39/395 | N           | 4 H 0 4 5          |
| C 0 7 K    | 16/28 (2006.01) | A 6 1 P | 35/00  |             |                    |
| C 1 2 N    | 15/13 (2006.01) | C 0 7 K | 16/28  |             | Z N A              |
|            |                 | 審査請求    | 未請求    | 予備審査請求      | 未請求 (全164頁) 最終頁に続く |

|                   |                                                                                                                                                                  |         |                                                  |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|--------------------------------------------------|
| (21)出願番号          | 特願2024-560671(P2024-560671)                                                                                                                                      | (71)出願人 | 507081094                                        |
| (86)(22)出願日       | 令和5年4月11日(2023.4.11)                                                                                                                                             |         | ミネルバ バイオテクノロジーズ コーポレーション                         |
| (85)翻訳文提出日        | 令和6年12月16日(2024.12.16)                                                                                                                                           |         | 米国, エムイー 0 2 4 5 1, ウォルサム, 4 0 ベアー ヒル ロード        |
| (86)国際出願番号        | PCT/US2023/065637                                                                                                                                                |         | 110003797                                        |
| (87)国際公開番号        | WO2023/201234                                                                                                                                                    | (74)代理人 | 弁理士法人清原国際特許事務所                                   |
| (87)国際公開日         | 令和5年10月19日(2023.10.19)                                                                                                                                           |         | バムダッド, シンシア                                      |
| (31)優先権主張番号       | 63/330,277                                                                                                                                                       | (72)発明者 | アメリカ合衆国 0 2 4 5 1 マサチューセッツ州 ウォルサム ベアー・ヒル・ロード 4 0 |
| (32)優先日           | 令和4年4月12日(2022.4.12)                                                                                                                                             |         | スマッジ, ブノワ                                        |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 米国(US)                                                                                                                                                           |         | アメリカ合衆国 0 2 4 5 1 マサチューセッツ州 ウォルサム ベアー・ヒル・ロード 4 0 |
| (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 | (72)発明者 |                                                  |

最終頁に続く

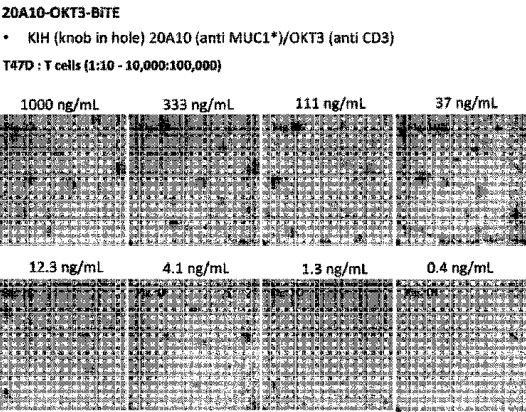
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗可変MUC1 \*抗体およびその使用

(57)【要約】

本明細書には、治療薬と、MUC1 \*への結合ドメインおよびCD3への結合ドメインを含む、多特異性抗体または抗体フラグメントとの標的化送達のための方法および組成物が記載される。また、本開示は、抗体を含む組成物、ならびにがんなどの疾患および障害を処置するための方法を提供する。

【選択図】なし

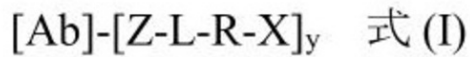


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) :

【化 1】



のコンジュゲートであって、

式中、

X は、トポイソメラーゼ I を阻害することができる化合物またはチューブリン形成を阻害することができる化合物から誘導される部分であり、

R は結合部分であり、

L は、N 末端に結合した Z および C 末端に結合した R を有する、ジペプチドまたはトリペプチドまたはテトラペプチド結合部分であり、

[Ab] は、3 つの重鎖 (HC) 相補性決定領域 (CDR) : MUC1\*HC-CDR1、MUC1\*HC-CDR2、および MUC1\*HC-CDR3 を含んだ抗 MUC1\*結合ドメインを含む抗体であり、MUC1\*結合ドメインの前記 MUC1\*HC-CDR1、前記 MUC1\*HC-CDR2、および前記 MUC1\*HC-CDR3 は、表 1 に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含み、

前記 MUC1\*結合ドメインは、3 つの軽鎖 (LC) 相補性決定領域 (CDR) : MUC1\*LC-CDR1、MUC1\*LC-CDR2、および MUC1\*LC-CDR3 を含み、前記 MUC1\*結合ドメインの前記 MUC1\*LC-CDR1、前記 MUC1\*LC-CDR2、および前記 MUC1\*LC-CDR3 は、表 1 に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含み、

Z は、システイン残基の硫黄原子と共有結合を形成することができるコンジュゲート部分であり、

y は、1 ~ 10 の整数である、コンジュゲート。

【請求項 2】

L が、バリンおよびシトルリンを含む、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

【請求項 3】

L が、グリシンおよびフェニルアラニンを含む、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

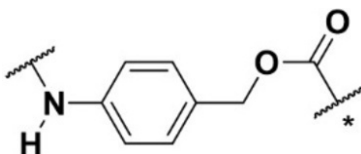
【請求項 4】

R がパラアミノベンジルを含む、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

【請求項 5】

R が、

【化 2】

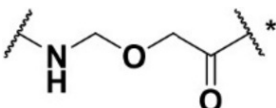


の構造を含んだ部分を含み、式中、\* は X 基の結合点を示す、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

【請求項 6】

R が、

【化 3】

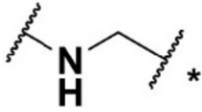


の構造を含んだ部分を含み、式中、\*はX基の結合点を示す、請求項1に記載のコンジュゲート。

【請求項7】

Rが、

【化4】

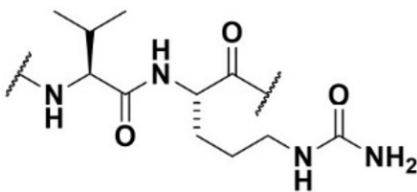


の構造を含んだ部分を含み、式中、\*はX基の結合点を示す、請求項1に記載のコンジュゲート。

【請求項8】

Lが、

【化5】

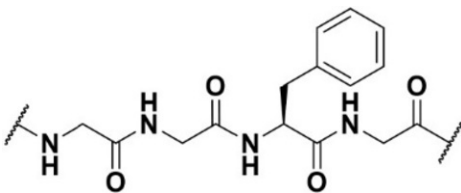


の構造を含んだジペプチド結合部分である、請求項1に記載のコンジュゲート。

【請求項9】

Lが、

【化6】



の構造を含んだテトラペプチド結合部分である、請求項1に記載のコンジュゲート。

【請求項10】

Xが、MMAEまたはMMAFである、請求項1に記載のコンジュゲート。

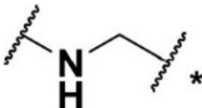
【請求項11】

Xが、エキサテカンまたはDxdである、請求項1に記載のコンジュゲート。

【請求項12】

Rが、

【化7】

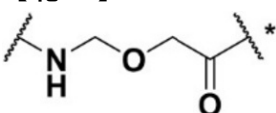


の構造を含んだ部分を含み、式中、\*はX基の結合点を示し、XはDxdである、請求項1に記載のコンジュゲート。

【請求項13】

Rが、

【化8】



の構造を含んだ部分を含み、式中、\*はX基の結合点を示し、Xはエキサテカンである、請求項1に記載のコンジュゲート。

【請求項14】

前記抗体が、アイソタイプIgG1またはIgG2である、請求項1に記載のコンジュゲート。

【請求項15】

前記抗体が、アイソタイプIgG2bである、請求項1に記載のコンジュゲート。

【請求項16】

前記抗MUC1\*結合ドメインが、配列番号38または44から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有する配列を含んだ重鎖を含む、請求項1に記載のコンジュゲート。

10

【請求項17】

前記抗MUC1\*結合ドメインが、配列番号39または45から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有する配列を含んだ重鎖可変ドメインを含む、請求項1に記載のコンジュゲート。

20

【請求項18】

前記抗MUC1\*結合ドメインが、配列番号41または47から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有する配列を含んだ軽鎖を含む、請求項1に記載のコンジュゲート。

【請求項19】

前記抗MUC1\*結合ドメインが、配列番号42または48から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有する配列を含んだ軽鎖可変ドメインを含む、請求項1に記載のコンジュゲート。

30

【請求項20】

前記抗MUC1\*結合ドメインが、配列番号129または130から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有する配列を含んだ単鎖可変フラグメント(s c F v)を含む、請求項1に記載のコンジュゲート。

【請求項21】

抗MUC1\*結合ドメインを含んだ抗体を含む抗体コンジュゲートであって、前記抗体が、マレイミド-システイン結合を介してペイロードにコンジュゲートされ、前記ペイロードが、リンカーおよび細胞毒性化合物を含み、前記細胞毒性化合物が、チューブリン阻害剤またはトポイソメラーゼI阻害剤を含む、抗体コンジュゲート。

40

【請求項22】

前記リンカーが、バリンを含む、請求項21に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項23】

前記リンカーが、シトルリンを含む、請求項21に記載の抗体コンジュゲート。

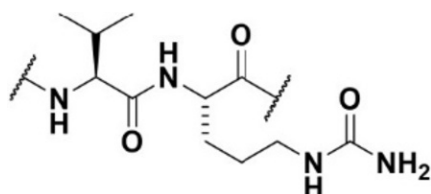
【請求項24】

前記リンカーが、バリンおよびシトルリンを含む、請求項21に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項25】

50

前記リンカーが、  
【化 9】



の構造を含んだジペプチド結合部分である、請求項 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 2 6】

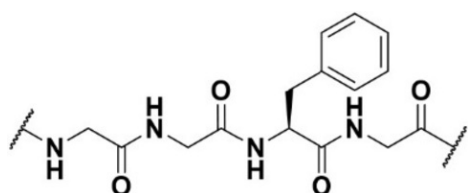
前記リンカーが、少なくとも 1 つのグリシンを含む、請求項 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 2 7】

前記リンカーが、少なくとも 1 つのグリシンおよびフェニルアラニンを含む、請求項 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 2 8】

前記リンカーが、  
【化 1 0】



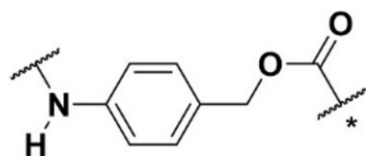
の構造を含む、請求項 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 2 9】

前記リンカーがパラアミノベンジルを含む、請求項 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 3 0】

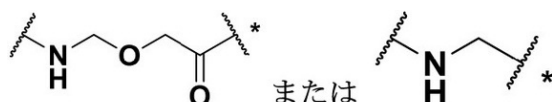
前記リンカーが、  
【化 1 1】



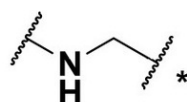
の構造の基を含み、式中、\* は細胞毒性基の結合点を示す、請求項 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 3 1】

前記リンカーが、  
【化 1 2】



または



の構造の基を含み、式中、\* は細胞毒性基の結合点を示す、請求項 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 3 2】

前記チューブリン阻害剤が MMA E または MMA F である、請求項 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

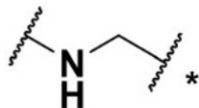
## 【請求項 3 3】

前記トポイソメラーゼ I 阻害剤が、エキサテカンもしくはデルクステカン、またはそれらの誘導体である、請求項 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【請求項 3 4】

前記リンカーが、

## 【化 1 3】



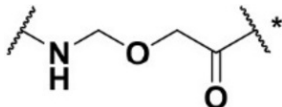
10

の構造を含んだ基を含み、式中、\*は細胞毒性基の結合点を示し、前記トポイソメラーゼ I 阻害剤が D x d である、請求項 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【請求項 3 5】

前記リンカーが、

## 【化 1 4】



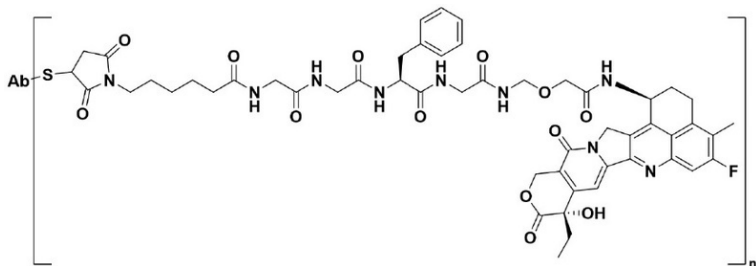
の構造を含んだ基を含み、式中、\*は細胞毒性基の結合点を示し、前記トポイソメラーゼ I 阻害剤がエキサテカンである、請求項 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

20

## 【請求項 3 6】

以下に提供される構造：

## 【化 1 5】



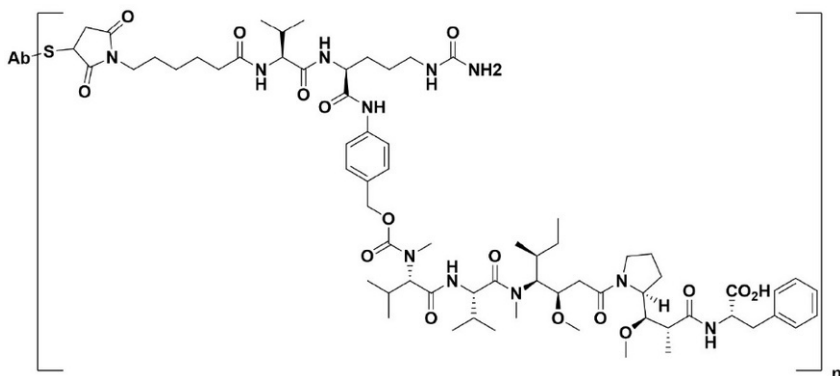
30

を含み、式中、nは1～10である、請求項 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【請求項 3 7】

以下に提供される構造：

## 【化 1 6】



40

を含み、式中、nは1～10である、請求項 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【請求項 3 8】

前記抗体のアイソタイプが I g G 1 または I g G 2 である、請求項 2 1 に記載の抗体コ

50

ンジュゲート。

【請求項 39】

前記抗体のアイソタイプが I g G 2 b である、請求項 21 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 40】

前記抗体が少なくとも 2 つのペイロードにコンジュゲートされる、請求項 21 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 41】

前記抗体が少なくとも 3 つのペイロードにコンジュゲートされる、請求項 21 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 42】

前記抗体が、少なくとも 4 つのペイロードにコンジュゲートされる、請求項 21 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 43】

前記抗体が少なくとも 5 つのペイロードにコンジュゲートされる、請求項 21 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 44】

前記抗体が少なくとも 6 つのペイロードにコンジュゲートされる、請求項 21 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 45】

前記抗体が少なくとも 7 つのペイロードにコンジュゲートされる、請求項 21 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 46】

前記抗体が少なくとも 8 つのペイロードにコンジュゲートされる、請求項 21 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 47】

前記抗 M U C 1 \* 結合ドメインが、3 つの軽鎖 ( L C ) 相補性決定領域 ( C D R ) : L C - C D R 1、L C - C D R 2、および L C - C D R 3 を含み、前記 M U C 1 \* 結合ドメインの前記 L C - C D R 1、前記 L C - C D R 2、および前記 L C - C D R 3 が、表 1 に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含み、前記 L C - C D R 1、前記 L C - C D R 2、および前記 L C - C D R 3 のうちの少なくとも 1 つが、0 ~ 2 個のアミノ酸修飾を含む、請求項 21 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 48】

前記抗 M U C 1 \* 結合ドメインが、3 つの重鎖 ( H C ) 相補性決定領域 ( C D R ) : H C - C D R 1、H C - C D R 2、および H C - C D R 3 を含み、前記 M U C 1 \* 結合ドメインの前記 H C - C D R 1、前記 H C - C D R 2、および前記 H C - C D R 3 が、表 1 に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含み、前記 H C - C D R 1、前記 H C - C D R 2、および前記 H C - C D R 3 のうちの少なくとも 1 つが、0 ~ 2 個のアミノ酸修飾を含む、請求項 21 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 49】

前記抗 M U C 1 \* 結合ドメインが、表 2 に示される配列に対して少なくとも約 80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % の同一性を有する配列を含んだ重鎖可変ドメインを含む、請求項 21 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 50】

前記抗 M U C 1 \* 結合ドメインが、表 2 に示される配列に対して少なくとも約 80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % の同一性を有する配列を含んだ軽鎖可変ドメインを含む、請求項 21 に記載の抗体コンジュゲ

10

20

30

40

50

ート。

【請求項 5 1】

前記抗 MUC 1 \* 結合ドメインが、表 3 に示される配列に対して少なくとも約 80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % の同一性を有する配列を含んだ単鎖可変フラグメント (s c F v) を含む、請求項 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 5 2】

MUC 1 \* 結合ドメインおよび CD 3 結合ドメインを含む抗体であって、  
前記 MUC 1 \* 結合ドメインが、3 つの重鎖 (H C) 相補性決定領域 (C D R) : MUC 1 \* H C - C D R 1、MUC 1 \* H C - C D R 2、および MUC 1 \* H C - C D R 3 を含み、前記 MUC 1 \* H C - C D R 1 が配列番号 1 のアミノ酸配列を含み、前記 MUC 1 \* H C - C D R 2 が配列番号 2 のアミノ酸配列を含み、前記 MUC 1 \* H C - C D R 3 が配列番号 3 のアミノ酸配列を含み、前記 MUC 1 \* 結合ドメインが、3 つの軽鎖 (L C) 相補性決定領域 (C D R) : MUC 1 \* L C - C D R 1、MUC 1 \* L C - C D R 2、および MUC 1 \* L C - C D R 3 を含み、前記 MUC 1 \* L C - C D R 1 が、配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含み、前記 MUC 1 \* L C - C D R 2 が、配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含み、前記 MUC 1 \* L C - C D R 3 が、配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含み、前記 CD 3 結合ドメインが、3 つの重鎖 (H C) 相補性決定領域 (C D R) : CD 3 H C - C D R 1、CD 3 H C - C D R 2、および CD 3 H C - C D R 3 を含み、前記 CD 3 結合ドメインの前記 CD 3 H C - C D R 1、前記 CD 3 H C - C D R 2、および前記 CD 3 H C - C D R 3 が、表 2 に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含み、前記 CD 3 結合ドメインが、3 つの軽鎖 (L C) 相補性決定領域 (C D R) : CD 3 L C - C D R 1、CD 3 L C - C D R 2、および CD 3 L C - C D R 3 を含み、前記 CD 3 結合ドメインの前記 CD 3 L C - C D R 1、前記 CD 3 L C - C D R 2、および前記 CD 3 L C - C D R 3 が、表 4 に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含む、抗体。

【請求項 5 3】

F c ドメインを含む、請求項 5 2 に記載の抗体。

【請求項 5 4】

F c ドメインがヘテロ二量体 F c ドメインである、請求項 5 2 に記載の抗体。

【請求項 5 5】

ヘテロ二量体 F c ドメインがノブ鎖およびホール鎖を含み、ノブインホール (K i H) 構造を形成する、請求項 5 2 に記載の抗体。

【請求項 5 6】

前記ノブ鎖が、配列番号 1 2 1、1 2 2、1 2 3、または 1 2 4 から選択される配列に対して少なくとも約 95 % の同一性を有する配列を含む、請求項 5 5 に記載の抗体。

【請求項 5 7】

前記ホール鎖が、配列番号 1 2 5、1 2 6、1 2 7、または 1 2 8 から選択される配列に対して少なくとも約 95 % の同一性を有する配列を含む、請求項 5 5 に記載の抗体。

【請求項 5 8】

前記 MUC 1 \* 結合ドメインが、表 2 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % の同一性を有する配列を含んだ重鎖可変ドメインを含む、請求項 5 2 に記載の抗体。

【請求項 5 9】

前記 MUC 1 \* 結合ドメインが、表 2 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % の同一性を有する配列を含んだ軽鎖可変ドメインを含む、請求項 5 2 に記載の抗体

。

## 【請求項 6 0】

前記 M U C 1 \* 結合ドメインが、表 3 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含んだ単鎖可変フラグメント ( s c F v ) を含む、請求項 5 2 に記載の抗体。

## 【請求項 6 1】

前記 C D 3 結合ドメインが、配列番号 2 6 または 3 1 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含んだ重鎖を含む、請求項 5 2 に記載の抗体。

10

## 【請求項 6 2】

前記 C D 3 結合ドメインが、配列番号 2 9 または 3 5 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含んだ軽鎖を含む、請求項 5 2 に記載の抗体。

## 【請求項 6 3】

前記 C D 3 結合ドメインが、配列番号 1 3 1 または 1 3 2 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含んだ単鎖可変フラグメント ( s c F v ) を含む、請求項 5 2 に記載の抗体。

20

## 【請求項 6 4】

配列番号 5 0、5 2、5 4、5 8、6 2、6 6、7 0、7 4、7 8、8 2、8 6、9 0、9 4、9 8、1 0 2、1 0 6、1 1 0、または 1 1 4 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含む、請求項 5 2 に記載の抗体。

30

## 【請求項 6 5】

請求項 1 ～ 6 4 のいずれか一項に記載の抗体または抗体コンジュゲートをがんの処置を必要とする対象に投与する工程を含む、がんを処置する方法。

## 【請求項 6 6】

前記がんが M U C 1 \* を発現する、請求項 6 5 に記載の方法。

## 【請求項 6 7】

前記がんが、乳がん、結腸がん、前立腺がん、膵がん、または肺がんである、請求項 6 5 に記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

40

## 【技術分野】

## 【0 0 0 1】

## 相互参照

本出願は、2 0 2 2 年 4 月 1 2 日出願の米国仮特許出願第 6 3 / 3 3 0 , 2 7 7 号の利益を主張し、当該仮特許出願は、参照によりその全体が本明細書に援用される。

## 【0 0 0 2】

## 配列表

本出願は、A S C I I フォーマットで電子的に提出された配列表を含み、当該配列表は、参照によりその全体が本明細書に援用される。2 0 2 3 年 4 月 4 日に作成された上記 A S C I I の写しは、5 6 6 9 9 - 7 5 1 . 6 0 1 \_ S L . x m l のファイル名であり、2

50

30キロバイトのサイズである。

【0003】

参照による援用

本明細書で言及されるすべての刊行物、特許、および特許出願は、各々の個別の刊行物、特許、または特許出願が参照によって援用されるとして具体的かつ個別に示された場合と同じ程度に、参照により本明細書に援用される。参照により援用される刊行物および特許または特許出願が、本明細書に含まれる開示に矛盾する限りにおいて、本明細書は、そのような矛盾のある題材に取って代わること、および／または、上記題材よりも優先することが意図されている。

【背景技術】

10

【0004】

本明細書には、MUC1\*結合ドメインおよびCD3結合ドメインを含む多特異性抗体が提供される。また本明細書には、治療薬（例えば、トポイソメラーゼI阻害剤、チューブリン形成阻害剤）由来の1つまたは複数の部分を含む、本明細書に記載の製剤の抗体コンジュゲートが提供され、当該コンジュゲートはさらに、目的の標的（例えば、MUC1\*を標的とする抗体）に結合する、抗体などのポリペプチドを含む。上記の多重特異性抗体および抗体-薬剤コンジュゲートは、疾患または障害、例えば、がんなどの増殖性疾患の処置に有用である。また本明細書には、これらの多重特異性抗体および抗体コンジュゲートを用いて疾患および障害を処置するための使用ならびに方法が提供される。

【発明の概要】

20

【0005】

本明細書には、式(I)：

【0006】

【化1】

[Ab]-[Z-L-R-X]<sub>y</sub> 式(I)

のコンジュゲートであって、式中、Xは、トポイソメラーゼIを阻害することができる化合物またはチューブリン形成を阻害することができる化合物から誘導される部分であり、Rは結合部分であり、Lは、N末端に結合したZおよびC末端に結合したRを有する、ジペプチドまたはトリペプチドまたはテトラペプチド結合部分であり、[Ab]は、3つの重鎖(HC)相補性決定領域(CDR)：MUC1\* HC-CDR1、MUC1\* HC-CDR2、およびMUC1\* HC-CDR3を含んだ抗MUC1\*結合ドメインを含む抗体であり、ここで、MUC1\*結合ドメインのMUC1\* HC-CDR1、MUC1\* HC-CDR2、およびMUC1\* HC-CDR3は、表1に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含み、MUC1\*結合ドメインは、3つの軽鎖(LC)相補性決定領域(CDR)：MUC1\* LC-CDR1、MUC1\* LC-CDR2、およびMUC1\* LC-CDR3を含み、MUC1\*結合ドメインのMUC1\* LC-CDR1、MUC1\* LC-CDR2、およびMUC1\* LC-CDR3は、表1に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含み、Zは、システイン残基の硫黄原子と共有結合を形成することができるコンジュゲート部分であり、yは1~10の整数である、コンジュゲートが開示される。

30

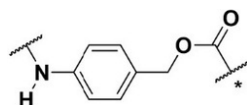
40

【0007】

Lは、バリンおよびシトルリンを含み得る。Lは、グリシンおよびフェニルアラニンを含み得る。Rは、パラ-アミノベンジルを含み得る。Rは、

【0008】

【化2】

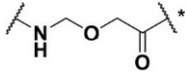


50

の構造を含んだ部分を含み得、式中、\*はX基の結合点を示す。Rは、

【0009】

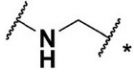
【化3】



を含んだ部分を含み得、式中、\*はX基の結合点を示す。Rは、

【0010】

【化4】



10

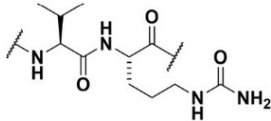
の構造を含んだ部分を含み得、式中、\*はX基の結合点を示す。

【0011】

Lは、

【0012】

【化5】

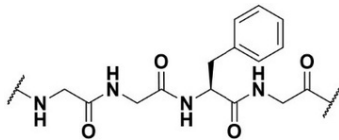


20

の構造を含んだジペプチド結合部分であり得る。Lは、

【0013】

【化6】



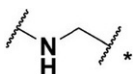
の構造を含んだテトラペプチド結合部分であり得る。

【0014】

Xは、MMAEまたはMMAFであり得る。Xは、エキサテカンまたはDxdであり得る。Rは、

【0015】

【化7】

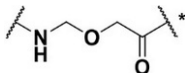


30

の構造を含んだ部分を含み得、式中、\*はX基の結合点を示し、XはDxdである。Rは、

【0016】

【化8】



40

の構造を含んだ部分を含み得、式中、\*はX基の結合点を示し、Xはエキサテカンである。

【0017】

抗体は、アイソタイプIgG1またはIgG2であり得る。抗体は、アイソタイプIgG2bであり得る。

50

## 【0018】

抗MUC1\*結合ドメインは、配列番号38または44から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有する配列を含んだ重鎖を含み得る。抗MUC1\*結合ドメインは、配列番号39または45から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有する配列を含んだ重鎖可変ドメインを含み得る。

## 【0019】

抗MUC1\*結合ドメインは、配列番号41または47から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有する配列を含んだ軽鎖を含み得る。抗MUC1\*結合ドメインは、配列番号42または48から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有する配列を含んだ軽鎖可変ドメインを含み得る。

## 【0020】

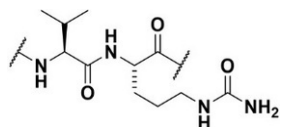
抗MUC1\*結合ドメインは、配列番号129または130から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有する配列を含んだ単鎖可変フラグメント（scFv）を含み得る。

## 【0021】

本明細書には、抗MUC1\*結合ドメインを含んだ抗体を含む抗体コンジュゲートであって、抗体が、マレイミド-システイン結合を介してペイロードにコンジュゲートされ、ペイロードが、リンカーおよび細胞毒性化合物を含み、細胞毒性化合物が、チューブリン阻害剤またはトポイソメラーゼI阻害剤を含む、抗体コンジュゲートが開示される。リンカーはバリンを含み得る。リンカーはシトルリンを含み得る。リンカーは、バリンおよびシトルリンを含み得る。リンカーは、

## 【0022】

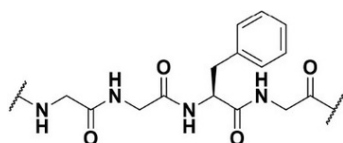
## 【化9】



の構造を含むジペプチド結合部分であり得る。リンカーは、少なくとも1つのグリシンを含み得る。リンカーは、少なくとも1つのグリシンおよびフェニルアラニンを含み得る。リンカーは、

## 【0023】

## 【化10】



の構造を含み得る。リンカーは、パラ-アミノベンジルを含み得る。リンカーは、

## 【0024】

10

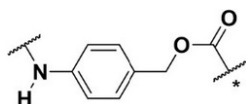
20

30

40

50

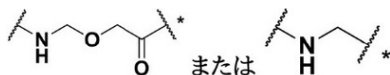
## 【化 1 1】



の構造の基を含み、式中、\*は細胞毒性基の結合点を示す。リンカーは、

## 【0 0 2 5】

## 【化 1 2】

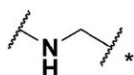


10

の構造の基を含み得、式中、\*は細胞毒性基の結合点を示す。チューブリン阻害剤は、MMAEまたはMMAFであり得る。トポイソメラーゼⅠ阻害剤は、エキサテカンもしくはデルクステカンの誘導体であり得る。リンカーは、

## 【0 0 2 6】

## 【化 1 3】

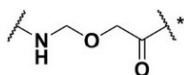


の構造を含んだ基を含み得、式中、\*は細胞毒性基の結合点を示し、トポイソメラーゼⅠ阻害剤はDxdである。リンカーは、

20

## 【0 0 2 7】

## 【化 1 4】



の構造を含んだ基を含み得、式中、\*は細胞毒性基の結合点を示し、トポイソメラーゼⅠ阻害剤はエキサテカンである。

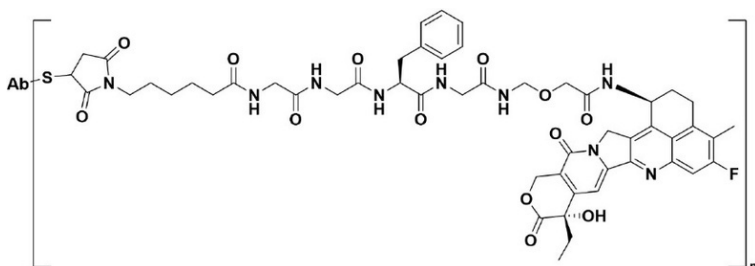
## 【0 0 2 8】

抗体コンジュゲートは、以下に提供される構造：

30

## 【0 0 2 9】

## 【化 1 5】



40

を含み得、式中、nは1～10である。

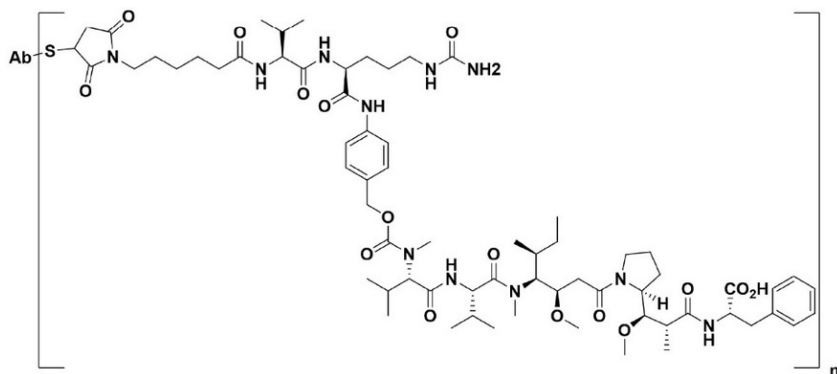
## 【0 0 3 0】

抗体コンジュゲートは、以下に提供される構造：

## 【0 0 3 1】

50

## 10



20

## 30

40

## 50

本明細書には、MUC1＊結合ドメインおよびCD3結合ドメインを含む抗体であって、抗MUC1＊結合ドメインは、3つの重鎖（HC）相補性決定領域（CDR）：MUC1＊ HC－CDR1、MUC1＊ HC－CDR2、およびMUC1＊HC－CDR3を含み得、MUC1＊ HC－CDR1が、配列番号1のアミノ酸配列を含み得、MUC1＊ HC－CDR2が、配列番号2のアミノ酸配列を含み得、MUC1＊ HC－CDR3が、配列番号3のアミノ酸配列を含み得、MUC1＊結合ドメインが、3つの軽鎖（LC）相補性決定領域（CDR）：MUC1＊ LC－CDR1、MUC1＊ LC－C

D R 2、および M U C 1 \* L C - C D R 3 を含み得、前 M U C 1 \* L C - C D R 1 が、配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含み得、M U C 1 \* L C - C D R 2 が、配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含み得、M U C 1 \* L C - C D R 3、配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含み得、C D 3 結合ドメインが、3 つの重鎖 (H C) 相補性決定領域 (C D R) : C D 3 H C - C D R 1、C D 3 H C - C D R 2、および C D 3 H C - C D R 3 を含み得、C D 3 結合ドメインの C D 3 H C - C D R 1、C D 3 H C - C D R 2、および C D 3 H C - C D R 3 が、表 2 に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含み得、C D 3 結合ドメインが、3 つの軽鎖 (L C) 相補性決定領域 (C D R) : C D 3 L C - C D R 1、C D 3 L C - C D R 2、および C D 3 L C - C D R 3 を含み得、C D 3 結合ドメインの C D 3 L C - C D R 1、C D 3 L C - C D R 2、および C D 3 L C - C D R 3 が、表 4 に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含み得る、抗体が開示される。

10

#### 【0034】

抗体は F c ドメインを含み得る。F c ドメインは、ヘテロ二量体 F c ドメインであり得る。ヘテロ二量体 F c ドメインは、ノブ鎖およびホール鎖を含み、ノブインホール (K i H) 構造を形成し得る。ノブ鎖は、配列番号 1 2 1、1 2 2、1 2 3、または 1 2 4 から選択される配列に対して少なくとも約 9 5 % の同一性を有する配列を含み得る。ホール鎖は、配列番号 1 2 5、1 2 6、1 2 7、または 1 2 8 から選択される配列に対して少なくとも約 9 5 % の同一性を有する配列を含み得る。M U C 1 \* 結合ドメインは、表 2 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含んだ重鎖可変ドメインを含み得る。M U C 1 \* 結合ドメインは、表 2 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含んだ軽鎖可変ドメインを含み得る。M U C 1 \* 結合ドメインは、表 3 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含んだ単鎖可変フラグメント (s c F v) を含み得る。C D 3 結合ドメインは、配列番号 2 6 または 3 1 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含んだ重鎖を含み得る。C D 3 結合ドメインは、配列番号 2 9 または 3 5 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含んだ軽鎖を含み得る。C D 3 結合ドメインは、配列番号 1 3 1 または 1 3 2 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含んだ単鎖可変フラグメント (s c F v) を含み得る。抗体は、配列番号 5 0、5 2、5 4、5 8、6 2、6 6、7 0、7 4、7 8、8 2、8 6、9 0、9 4、9 8、1 0 2、1 0 6、1 1 0、または 1 1 4 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含み得る。

20

30

40

#### 【0035】

本明細書には、がんの処置を必要とする対象に請求項 1 ~ 6 4 のいずれか一項に記載の抗体を投与する工程を含む、がんを処置する方法が提供される。一部の実施形態では、がんは M U C 1 \* を発現する。がんは、乳がん、結腸がん、前立腺がん、膵がん、または肺

50

がんであり得る。

【図面の簡単な説明】

【0036】

【図1-1】様々な濃度の二重特異性抗体20A10-OKT3-BiTEを添加したヒトT細胞と培養したMUC1\*陽性乳がん細胞である、T47Dの写真を示す図である。20A10はヒト化抗MUC1\*抗体であり、OKT3はヒトT細胞上に存在するCD3に結合する抗体である。図に見られるように、二重特異性抗体の添加は、T細胞とがん細胞との結合を媒介し、図ではT細胞のクラスターリングとして示されており、これは、T細胞CD3とがん細胞MUC1\*との間の二重特異性ブリッジにより誘導される活性化のしるしである。図1Aでは、二重特異性抗体の濃度は1,000ng/mLである。図1Bでは、濃度は333ng/mLである。図1Cでは、濃度は111ng/mLである。図1Dでは、濃度は37ng/mLである。図1Eでは、濃度は12.3ng/mLである。図1Fでは、濃度は4.1ng/mLである。図1Gでは、濃度は1.3ng/mLである。図1Hでは、濃度は0.4ng/mLである。

10

【図1-2】様々な濃度の二重特異性抗体20A10-OKT3-BiTEを添加したヒトT細胞と培養したMUC1\*陽性乳がん細胞である、T47Dの写真を示す図である。20A10はヒト化抗MUC1\*抗体であり、OKT3はヒトT細胞上に存在するCD3に結合する抗体である。図に見られるように、二重特異性抗体の添加は、T細胞とがん細胞との結合を媒介し、図ではT細胞のクラスターリングとして示されており、これは、T細胞CD3とがん細胞MUC1\*との間の二重特異性ブリッジにより誘導される活性化のしるしである。図1Iでは、濃度は0.15ng/mLである。図1Jでは、濃度は0.05ng/mLである。図1Kは、T細胞およびがん細胞の両方が存在するが、二重特異性抗体は添加されていない対照ウェルである。図1Lは、がん細胞のみが存在する対照ウェルである。

20

【図1-3】様々な濃度の二重特異性抗体20A10-OKT3-BiTEを添加したヒトT細胞と培養したMUC1\*陽性乳がん細胞である、T47Dの写真を示す図である。20A10はヒト化抗MUC1\*抗体であり、OKT3はヒトT細胞上に存在するCD3に結合する抗体である。図に見られるように、二重特異性抗体の添加は、T細胞とがん細胞との結合を媒介し、図ではT細胞のクラスターリングとして示されており、これは、T細胞CD3とがん細胞MUC1\*との間の二重特異性ブリッジにより誘導される活性化のしるしである。図1Mは、LDH細胞細胞毒性アッセイがどのように機能するかを描写する漫画を示す図であり、A490における測定値が高いほど、細胞死滅効果が高いことを示している。図1Nは、20A10-OKT3、抗MUC1\*/抗CD3二重特異性抗体の濃度の関数としての細胞死滅のグラフを示す。

30

【図1-4】様々な濃度の二重特異性抗体20A10-OKT3-BiTEを添加したヒトT細胞と培養したMUC1\*陽性乳がん細胞である、T47Dの写真を示す図である。20A10はヒト化抗MUC1\*抗体であり、OKT3はヒトT細胞上に存在するCD3に結合する抗体である。図に見られるように、二重特異性抗体の添加は、T細胞とがん細胞との結合を媒介し、図ではT細胞のクラスターリングとして示されており、これは、T細胞CD3とがん細胞MUC1\*との間の二重特異性ブリッジにより誘導される活性化のしるしである。図1Oは、添加された抗MUC1\*/抗CD3二重特異性抗体の関数としてT細胞により分泌される分泌インターフェロン $\gamma$ のグラフを示し、ここで、抗MUC1\*抗体は20A10であり、抗CD3抗体はOKT3である。

40

【図1-5】様々な濃度の二重特異性抗体20A10-OKT3-BiTEを添加したヒトT細胞と培養したMUC1\*陽性乳がん細胞である、T47Dの写真を示す図である。20A10はヒト化抗MUC1\*抗体であり、OKT3はヒトT細胞上に存在するCD3に結合する抗体である。図に見られるように、二重特異性抗体の添加は、T細胞とがん細胞との結合を媒介し、図ではT細胞のクラスターリングとして示されており、これは、T細胞CD3とがん細胞MUC1\*との間の二重特異性ブリッジにより誘導される活性化のしるしである。図1Pは、添加された抗MUC1\*/抗CD3二重特異性抗体の関数として

50

T細胞により分泌される分泌TNF $\alpha$ のグラフを示し、ここで、抗MUC1\*抗体は20A10であり、抗CD3抗体はOKT3である。

【図2-1】様々な濃度の二重特異性抗体20A10-12F6-BiT Eを添加したヒトT細胞と培養したMUC1\*陽性乳がん細胞である、T47Dの写真を示す図である。20A10はヒト化抗MUC1\*抗体であり、12F6はヒトT細胞上に存在するCD3に結合する抗体である。図に見られるように、二重特異性抗体の添加は、T細胞とがん細胞との結合を媒介し、図ではT細胞のクラスターリングとして示されており、これは、T細胞CD3とがん細胞MUC1\*との間の二重特異性ブリッジにより誘導される活性化のしるしである。図2Aでは、二重特異性抗体の濃度は1,000 ng/mLである。図2Bでは、濃度は333 ng/mLである。図2Cでは、濃度は111 ng/mLである。図2Dでは、濃度は37 ng/mLである。図2Eでは、濃度は12.3 ng/mLである。図2Fでは、濃度は4.1 ng/mLである。図2Gでは、濃度は1.3 ng/mLである。図2Hでは、濃度は0.4 ng/mLである。

【図2-2】様々な濃度の二重特異性抗体20A10-12F6-BiT Eを添加したヒトT細胞と培養したMUC1\*陽性乳がん細胞である、T47Dの写真を示す図である。20A10はヒト化抗MUC1\*抗体であり、12F6はヒトT細胞上に存在するCD3に結合する抗体である。図に見られるように、二重特異性抗体の添加は、T細胞とがん細胞との結合を媒介し、図ではT細胞のクラスターリングとして示されており、これは、T細胞CD3とがん細胞MUC1\*との間の二重特異性ブリッジにより誘導される活性化のしるしである。図2Iでは、濃度は0.15 ng/mLである。図2Jでは、濃度は0.05 ng/mLである。図2Kは、T細胞およびがん細胞の両方が存在するが、二重特異性抗体は添加されていない対照ウェルである。図2Lは、がん細胞のみが存在する対照ウェルである。

【図2-3】様々な濃度の二重特異性抗体20A10-12F6-BiT Eを添加したヒトT細胞と培養したMUC1\*陽性乳がん細胞である、T47Dの写真を示す図である。20A10はヒト化抗MUC1\*抗体であり、12F6はヒトT細胞上に存在するCD3に結合する抗体である。図に見られるように、二重特異性抗体の添加は、T細胞とがん細胞との結合を媒介し、図ではT細胞のクラスターリングとして示されており、これは、T細胞CD3とがん細胞MUC1\*との間の二重特異性ブリッジにより誘導される活性化のしるしである。図2Mは、LDH細胞毒性アッセイがどのように機能するかを描写する漫画を示す図であり、A490における測定値が高いほど、細胞死滅効果が高いことを示している。図2Nは、20A10-OKT3、抗MUC1\*/抗CD3二重特異性抗体の濃度の関数としての細胞死滅のグラフを示す。

【図2-4】様々な濃度の二重特異性抗体20A10-12F6-BiT Eを添加したヒトT細胞と培養したMUC1\*陽性乳がん細胞である、T47Dの写真を示す図である。20A10はヒト化抗MUC1\*抗体であり、12F6はヒトT細胞上に存在するCD3に結合する抗体である。図に見られるように、二重特異性抗体の添加は、T細胞とがん細胞との結合を媒介し、図ではT細胞のクラスターリングとして示されており、これは、T細胞CD3とがん細胞MUC1\*との間の二重特異性ブリッジにより誘導される活性化のしるしである。図2Oは、添加された抗MUC1\*/抗CD3二重特異性抗体の関数としてT細胞により分泌される分泌インターフェロン $\gamma$ のグラフを示し、ここで、抗MUC1\*抗体は20A10であり、抗CD3抗体は12F6である。

【図2-5】様々な濃度の二重特異性抗体20A10-12F6-BiT Eを添加したヒトT細胞と培養したMUC1\*陽性乳がん細胞である、T47Dの写真を示す図である。20A10はヒト化抗MUC1\*抗体であり、12F6はヒトT細胞上に存在するCD3に結合する抗体である。図に見られるように、二重特異性抗体の添加は、T細胞とがん細胞との結合を媒介し、図ではT細胞のクラスターリングとして示されており、これは、T細胞CD3とがん細胞MUC1\*との間の二重特異性ブリッジにより誘導される活性化のしるしである。図2Pは、添加された抗MUC1\*/抗CD3二重特異性抗体の関数としてT細胞により分泌される分泌TNF $\alpha$ のグラフを示し、ここで、抗MUC1\*抗体は20

A 1 0であり、抗C D 3抗体は1 2 F 6である。

【図3-1】様々な濃度の二重特異性抗体2 0 A 1 0-O K T 3-B i T Eを添加したヒトT細胞と培養したH C T-M U C 1\*形質導入がん細胞の写真を示す図である。2 0 A 1 0はヒト化抗M U C 1\*抗体であり、O K T 3はヒトT細胞上に存在するC D 3に結合する抗体である。図に見られるように、二重特異性抗体の添加は、T細胞とがん細胞との結合を媒介し、図では細胞のクラスターリングとして示されている。図3 Aでは、二重特異性抗体の濃度は1, 0 0 0 n g / m Lである。図3 Bでは、濃度は3 3 3 n g / m Lである。図3 Cでは、濃度は1 1 1 n g / m Lである。図3 Dでは、濃度は3 7 n g / m Lである。図3 Eでは、濃度は1 2. 3 n g / m Lである。図3 Fでは、濃度は4. 1 n g / m Lである。図3 Gでは、濃度は1. 3 n g / m Lである。図3 Hでは、濃度は0. 4 n g / m Lである。

10

【図3-2】様々な濃度の二重特異性抗体2 0 A 1 0-O K T 3-B i T Eを添加したヒトT細胞と培養したH C T-M U C 1\*形質導入がん細胞の写真を示す図である。2 0 A 1 0はヒト化抗M U C 1\*抗体であり、O K T 3はヒトT細胞上に存在するC D 3に結合する抗体である。図に見られるように、二重特異性抗体の添加は、T細胞とがん細胞との結合を媒介し、図では細胞のクラスターリングとして示されている。図3 Iでは、濃度は0. 1 5 n g / m Lである。図3 Jでは、濃度は0. 0 5 n g / m Lである。図3 Kは、T細胞およびがん細胞の両方が存在するが、二重特異性抗体は添加されていない対照ウェルである。図3 Lは、がん細胞のみが存在する対照ウェルである。

【図4-1】様々な濃度の二重特異性抗体2 0 A 1 0-1 2 F 6-B i T Eを添加したヒトT細胞と培養したH C T-M U C 1\*形質導入がん細胞の写真を示す。2 0 A 1 0はヒト化抗M U C 1\*抗体であり、1 2 F 6はヒトT細胞上に存在するC D 3に結合する抗体である。図に見られるように、二重特異性抗体の添加は、T細胞とがん細胞との結合を媒介し、図では細胞のクラスターリングとして示されている。図4 Aでは、二重特異性抗体の濃度は1, 0 0 0 n g / m Lである。図4 Bでは、濃度は3 3 3 n g / m Lである。図4 Cでは、濃度は1 1 1 n g / m Lである。図4 Dでは、濃度は3 7 n g / m Lである。図4 Eでは、濃度は1 2. 3 n g / m Lである。図4 Fでは、濃度は4. 1 n g / m Lである。図4 Gでは、濃度は1. 3 n g / m Lである。図4 Hでは、濃度は0. 4 n g / m Lである。

20

【図4-2】様々な濃度の二重特異性抗体2 0 A 1 0-1 2 F 6-B i T Eを添加したヒトT細胞と培養したH C T-M U C 1\*形質導入がん細胞の写真を示す。2 0 A 1 0はヒト化抗M U C 1\*抗体であり、1 2 F 6はヒトT細胞上に存在するC D 3に結合する抗体である。図に見られるように、二重特異性抗体の添加は、T細胞とがん細胞との結合を媒介し、図では細胞のクラスターリングとして示されている。図4 Iでは、濃度は0. 1 5 n g / m Lである。図4 Jでは、濃度は0. 0 5 n g / m Lである。図4 Kは、T細胞およびがん細胞の両方が存在するが、二重特異性抗体は添加されていない対照ウェルである。図4 Lは、二重特異性抗体はがん細胞に添加されているが、T細胞が存在しない対照ウェルである。

30

【図5】M U C 1およびM U C 1\*に対して陰性であるH C T-W Tがん細胞の写真を示す図である。がん細胞は、M M N C 2-A D Cとともに7 2時間インキュベートした。この特定の場合において、毒性M M A E（モノメチルアウリスチン）を、M U C 1\*に結合する脱グリコシル化M N C 2に共有結合させた。図に見られるように、M N C 2-A D Cの添加は、これらのH C T、M U C 1陰性細胞の生存性に影響を与えなかった。図5 Aでは、M N C 2-A D Cの濃度は1 0 0 n Mである。図5 Bでは、M N C 2-A D Cの濃度は1 0 n Mである。図5 Cでは、M N C 2-A D Cの濃度は0. 1 n Mである。図5 Dでは、M N C 2-A D Cの濃度は0. 0 1 n Mである。図5 Eでは、M N C 2-A D Cの濃度は0. 0 0 1 n Mである。図5 Fでは、M N C 2-A D Cの濃度は0 n Mである。

40

【図6】H C T-M U C 1\*がん細胞の写真を示す図である。これらのH C T細胞は、抗体M N C 2の標的であるM U C 1\*を発現するよう形質導入された。がん細胞は、M M N C 2-A D Cとともに7 2時間インキュベートした。この特定の場合において、毒性M M

50

A E (モノメチルアウリスタチン) を、MUC1\*に結合する脱グリコシル化MNC2に共有結合させた。図に見られるように、MNC2-ADCを本明細書で試験した最高濃度の100nMで添加すると、細胞死の指標である細胞凝集 (cell clumping) を誘発した。図6Aでは、MNC2-ADCの濃度は100nMである。図6Bでは、MNC2-ADCの濃度は10nMである。図6Cでは、MNC2-ADCの濃度は1.0nMである。図6Dでは、MNC2-ADCの濃度は0.1nMである。図6Eでは、MNC2-ADCの濃度は0.01nMである。図6Fでは、MNC2-ADCの濃度は0.001nMである。図6Gでは、MNC2-ADCの濃度は0nMである。

【図7】MUC1およびMUC1\*に対して陰性であるK562-WTがん細胞の写真を示す。がん細胞は、MMNC2-ADCとともに72時間インキュベートした。この特定の場 10  
合において、毒性MMAE (モノメチルアウリスタチン) を、MUC1\*に結合する脱グリコシル化MNC2に共有結合させた。図に見られるように、MNC2-ADCの添加は、これらのMUC1陰性細胞の生存性に影響を与えなかった。図7Aでは、MNC2-ADCの濃度は100nMである。図7Bでは、MNC2-ADCの濃度は10nMである。図7Cでは、MNC2-ADCの濃度は1.0nMである。図7Dでは、MNC2-ADCの濃度は0.1nMである。図7Eでは、MNC2-ADCの濃度は0.01nMである。図7Fでは、MNC2-ADCの濃度は0.001である。図7Gでは、MNC2-ADCの濃度は0nMである。

【図8】K562-MUC1\*細胞の写真を示す図である。これらのMUC1\*陰性細胞は、MUC1\*を発現するよう形質導入された。がん細胞は、MMNC2-ADCとともに72時間インキュベートした。この特定の場 20  
合において、毒性MMAE (モノメチルアウリスタチン) を、MUC1\*に結合する脱グリコシル化MNC2に共有結合させた。図に見られるように、MNC2-ADCを、本明細書で試験したより高濃度の10nMおよび100nMで添加すると、細胞死の指標である細胞凝集 (cell clumping) を誘発した。図8Aでは、MNC2-ADCの濃度は100nMである。図8Bでは、MNC2-ADCの濃度は10nMである。図8Cでは、MNC2-ADCの濃度は1.0nMである。図8Dでは、MNC2-ADCの濃度は0.1nMである。図8Eでは、MNC2-ADCの濃度は0.01nMである。図8Fでは、MNC2-ADCの濃度は0.001nMである。図8Gでは、MNC2-ADCの濃度は0nMである。

【図9A】細胞生存アッセイのグラフを示す図であり、細胞死の測定にはPrestoBlueを用いた。グラフは、MNC2-ADCのK562-WT細胞に対する効果をK562-MUC1\*細胞に対する効果と比較した、MNC2-ADC濃度の関数としての細胞生存性を示している。図に見られるように、MNC2-ADC抗体は、10nMおよび100nMの濃度でMUC1\*発現細胞の死のみを誘発した。 30

【図9B】細胞生存アッセイのグラフを示す図であり、細胞死の測定にはPrestoBlueを用いた。図9Bは、MNC2-ADCのHCT-WT細胞に対する効果をHCT-MUC1\*細胞に対する効果と比較した、MNC2-ADC濃度の関数としての細胞生存性を示す。図に見られるように、MNC2-ADC抗体は、高濃度でMUC1\*発現細胞の死のみを誘発した。

【図10】MNC2が結合しない完全長MUC1、およびMNC2が結合するMUC1\*の両方を発現するT47D-wt乳がん細胞の写真を示す図である。がん細胞は、MMNC2-ADCとともに72時間インキュベートした。この特定の場 40  
合において、毒性MMAE (モノメチルアウリスタチン) を、MUC1\*に結合する脱グリコシル化MNC2に共有結合させた。図10Aでは、MNC2-ADCの濃度は100nMである。図10Bでは、MNC2-ADCの濃度は10nMである。図10Cでは、MNC2-ADCの濃度は1.0nMである。図10Dでは、MNC2-ADCの濃度は0.1nMである。図10Eでは、MNC2-ADCの濃度は0.01nMである。図10Fでは、MNC2-ADCの濃度は0.001である。図10Gでは、MNC2-ADCの濃度は0nMである。

【図11】さらに多くのMUC1\*を発現するよう形質導入されたT47D-MUC1\* 50

細胞の写真を示す図である。がん細胞は、MMNC2-ADCとともに72時間インキュベートした。この特定の場合において、毒性MMAE（モノメチルアウリスタチン）を、MUC1\*に結合する脱グリコシル化MNC2に共有結合させた。図に見られるように、MNC2-ADCを、本明細書で試験したより高濃度の10nMおよび100nMで添加すると、細胞死の指標である細胞凝集（cell clumping）を誘発した。図11Aでは、MNC2-ADCの濃度は100nMである。図11Bでは、MNC2-ADCの濃度は10nMである。図11Cでは、MNC2-ADCの濃度は1.0nMである。図11Dでは、MNC2-ADCの濃度は0.1nMである。図11Eでは、MNC2-ADCの濃度は0.01nMである。図11Fでは、MNC2-ADCの濃度は0.001である。図11Gでは、MNC2-ADCの濃度は0nMである。

10

【図12】細胞生存アッセイのグラフを示す図であり、死細胞の検出にはPrestoBlueを用いた。グラフは、MNC2-ADCのT47D-WT細胞に対する効果をT47D-MUC1\*細胞に対する効果と比較した、MNC2-ADC濃度の関数としての細胞生存性を示している。図に見られるように、MNC2-ADC抗体は、10nMおよび100nMの濃度でMUC1\*発現細胞の死を誘発した。

【図13】MNC2が結合しない完全長MUC1、およびMNC2が結合するMUC1\*の両方を発現するT47D-wt乳がん細胞の写真を示す図である。がん細胞は、MMNC2-ADCとともに72時間インキュベートした。この特定の場合において、毒性MMAE（モノメチルアウリスタチン）を、MUC1\*に結合する脱グリコシル化MNC2に共有結合させた。見られるように、MNC2-ADC抗体は、1000nMの最高濃度のMNC2-ADCで、T47D-WT細胞の死を誘発した。図13Aでは、MNC2-ADCの濃度は0nMである。図13Bでは、MNC2-ADCの濃度は0.1nMである。図13Cでは、MNC2-ADCの濃度は0.39nMである。図13Dでは、MNC2-ADCの濃度は1.0nMである。図13Eでは、MNC2-ADCの濃度は3.9nMである。図13Fでは、MNC2-ADCの濃度は10nMである。図13Gでは、MNC2-ADCの濃度は39nMである。図13Hでは、MNC2-ADCの濃度は100nMである。図13Iでは、MNC2-ADCの濃度は393nMである。図13Jでは、MNC2-ADCの濃度は1000nMである。

20

【図14】さらに多くのMUC1\*を発現するよう形質導入されたT47D-MUC1\*細胞の写真を示す図である。がん細胞は、MMNC2-ADCとともに72時間インキュベートした。この特定の場合において、毒性MMAE（モノメチルアウリスタチン）を、MUC1\*に結合する脱グリコシル化MNC2に共有結合させた。図に見られるように、MNC2-ADCを、本明細書で試験したより高濃度の10nM、39nM、100nM、393nM、および1000nMで添加すると、細胞死の指標である細胞凝集（cell clumping）を誘発した。図14Aでは、MNC2-ADCの濃度は0nMである。図14Bでは、MNC2-ADCの濃度は0.1nMである。図14Cでは、MNC2-ADCの濃度は0.39nMである。図14Dでは、MNC2-ADCの濃度は1.0nMである。図14Eでは、MNC2-ADCの濃度は3.9nMである。図14Fでは、MNC2-ADCの濃度は10nMである。図14Gでは、MNC2-ADCの濃度は39nMである。図14Hでは、MNC2-ADCの濃度は100nMである。図14Iでは、MNC2-ADCの濃度は393nMである。図14Jでは、MNC2-ADCの濃度は1000nMである。

30

40

【図15】細胞生存アッセイのグラフを示す図であり、細胞死の測定にはPrestoBlueを用いた。グラフは、MNC2-ADCのT47D-WT細胞に対する効果をT47D-MUC1\*細胞に対する効果と比較した、MNC2-ADC濃度の関数としての細胞生存性を示している。見られるように、MNC2-ADC抗体は、最高濃度の1000nMのMNC2-ADCで、T47D-WT細胞の死を誘発した一方で、T47D-MUC1\*細胞は、10nM、39nM、100nM、393nM、および1000nMの濃度で死滅した。

【図16】様々な濃度のMNC2-ADCを添加したがん細胞の拡大写真を示す図である

50

。ここで、抗体とコンジュゲートされる毒素はMMAEである。図16Aは、MNC2-ADCを500 ng/mL~0.1 ng/mLに及ぶ濃度で添加した、乳がん細胞T47D野生型の写真を示す。対照としては、MNC2-ADCを添加しなかった。MNC2-ADCをがん細胞に添加して72時間後に写真を撮影した。図16Bは、細胞が、自然に発現するよりもさらに多くのMUC1\*で安定してトランスフェクトされていることを表す、乳がん細胞T47D-MUC1\*の写真であり、MNC2-ADCを、500 ng/mL~0.1 ng/mLに及ぶ濃度で添加した。対照としては、MNC2-ADCを添加しなかった。MNC2-ADCをがん細胞に添加して72時間後に写真を撮影した。図16Cは、MNC2-ADCを500 ng/mL~0.1 ng/mLに及ぶ濃度で添加した乳がん細胞T47D野生型の写真を示す。対照としては、MNC2-ADCを添加しなかった。この場合、MNC2-ADCを16時間後に除去し、培地を交換した。MNC2-ADCをがん細胞に最初に添加して72時間後に写真を撮影した。図16Dは、細胞が、自然に発現するよりもさらに多くのMUC1\*で安定してトランスフェクトされていることを表す、乳がん細胞T47D-MUC1\*の写真であり、MNC2-ADCを、500 ng/mL~0.1 ng/mLに及ぶ濃度で添加した。対照としては、MNC2-ADCを添加しなかった。この場合、MNC2-ADCを16時間後に除去し、培地を交換した。MNC2-ADCをがん細胞に最初に添加して72時間後に写真を撮影した。図16Eは、1 μMのタキソールを72時間添加したT47D-wt細胞の拡大写真を示す。図16Fは、1 μMのタキソールを72時間添加したT47D-MUC1\*細胞の拡大写真を示す。

10

20

【図17】72時間または16時間のいずれかにわたり細胞培養培地に添加されたMNC2-ADC MMAEの濃度の関数としてのがん細胞死滅のグラフを示す図である。後者の場合、16時間後に、培地をMNC2-ADCを含まない培地に交換し、がん細胞にMNC2-ADCを最初に添加してから72時間まで実験を継続させる。細胞生存性を、Presto Blueを用いて測定する。細胞死は、1 μMの最終濃度まで添加されたタキソールに対して正規化し、72時間での生存細胞パーセントは、0%生存率に対して正規化する。

【図18】様々な濃度の20A10-ADCを添加したがん細胞の拡大写真を示す図である。ここで、抗体とコンジュゲートされる毒素はMMAEである。図18Aは、20A10-ADCを500 ng/mL~0.1 ng/mLに及ぶ濃度で添加した乳がん細胞T47D野生型の写真を示す。対照としては、20A10-ADCを添加しなかった。20A10-ADCをがん細胞に添加して72時間後に写真を撮影した。図18Bは、細胞が、自然に発現するよりもさらに多くのMUC1\*で安定してトランスフェクトされていることを表す、乳がん細胞T47D-MUC1\*の写真であり、20A10-ADCを、500 ng/mL~0.1 ng/mLに及ぶ濃度で添加した。対照としては、20A10-ADCを添加しなかった。20A10-ADCをがん細胞に添加して72時間後に写真を撮影した。図18Cは、20A10-ADCを500 ng/mL~0.1 ng/mLに及ぶ濃度で添加した乳がん細胞T47D野生型の写真を示す。対照としては、20A10-ADCを添加しなかった。この場合、20A10-ADCを16時間後に除去し、培地を交換した。20A10-ADCをがん細胞に最初に添加して72時間後に写真を撮影した。図18Dは、細胞が、自然に発現するよりもさらに多くのMUC1\*で安定してトランスフェクトされていることを表す、乳がん細胞T47D-MUC1\*の写真であり、20A10-ADCを、500 ng/mL~0.1 ng/mLに及ぶ濃度で添加した。対照としては、20A10-ADCを添加しなかった。この場合、20A10-ADCを16時間後に除去し、培地を交換した。20A10-ADCをがん細胞に最初に添加して72時間後に写真を撮影した。図18Eは、1 μMのタキソールを72時間添加したT47D-wt細胞の拡大写真を示す。図18Fは、1 μMのタキソールを72時間添加したT47D-MUC1\*細胞の拡大写真を示す。

30

40

【図19】72時間または16時間のいずれかにわたり細胞培養培地に添加された20A10-ADC MMAEの濃度の関数としてのがん細胞死滅のグラフを示す図である。後

50

者の場合、16時間後に、培地を20A10-ADCを含まない培地に交換し、がん細胞に20A10-ADCを最初に添加してから72時間まで実験を継続させる。細胞生存性を、Presto Blueを用いて測定する。細胞死は、1  $\mu$ Mの最終濃度まで添加されたタキソールに対して正規化し、72時間での生存細胞パーセントは、0%生存率に対して正規化する。

【図20】IC50を測定するためのフィッティングデータのグラフおよび表形式のデータを示す図である。図20Aは、MNC2-ADCまたは20A10-ADCのいずれかによって媒介されるがん細胞死滅のIC50フィッティングデータのグラフを示す図であり、ここで、がん細胞はT47D-wtまたはT47D-MUC1\*のいずれかであり、ADCは標的がん細胞とともに16時間または72時間のいずれかにわたってインキュベートする。図20Bは、各細胞の型およびインキュベーション条件に対する各ADCのIC50を一覧にした表を示す。

10

【図21】ホールフォーマットにおけるMN20A10-OKT3のノブを示す図である。図21Aは、様々な濃度の二重特異性抗体20A10-OKT3-BITEを添加したヒトT細胞と培養したMUC1\*陽性乳がん細胞である、T47Dの写真を示す。20A10はヒト化抗MUC1\*抗体であり、OKT3はヒトT細胞上に存在するCD3に結合する抗体である。図に見られるように、二重特異性抗体の添加は、T細胞とがん細胞との結合を媒介し、図ではT細胞のクラスターリングとして示されており、これは、T細胞CD3とがん細胞MUC1\*との間の二重特異性ブリッジにより誘導される活性化のしるしである。図21Bは、添加された抗MUC1\*/抗CD3二重特異性抗体の関数としてT細胞により分泌される分泌インターフェロン $\gamma$ のグラフを示し、ここで、抗MUC1\*抗体は20A10であり、抗CD3抗体はOKT3である。図21Cは、20A10-OKT3、抗MUC1\*/抗CD3二重特異性抗体の濃度の関数としての細胞死滅のグラフを示す。

20

【図22】様々な二重特異性フォーマットにおけるMN20A10-OKT3またはMN20A10-12F6を示す図である。図は、異なるフォーマットの二重特異性抗体によるT47D-wtまたはT47D-MUC1\*の死滅曲線を示す。図22Bは、12F6-MN20A10二重特異性の存在下でのT細胞媒介がん細胞死滅のグラフを示す。図22Aは、図22Bで用いられる12F6-MN20A10N二重特異性フォーマットの漫画である。図22Dは、MN20A10-12F6 KIH二重特異性の存在下でのT細胞媒介がん細胞死滅のグラフを示す。図22Cは、図22Dで用いられるKIH二重特異性フォーマットの漫画である。図22Fは、OKT3-MN20A10二重特異性の存在下でのT細胞媒介がん細胞死滅のグラフを示す。図22Eは、図22Fで用いられるOKT3-MN20A10二重特異性フォーマットの漫画である。図22Hは、MN20A10-12F6化学結合二重特異性の存在下でのT細胞媒介がん細胞死滅のグラフを示す。図22Gは、図22Hで用いられるMN20A10-12F6二重特異性フォーマットの漫画である。

30

【図23】様々な二重特異性フォーマットにおけるMN20A10-OKT3またはMN20A10-12F6のIC50を示す図である。

【図24】様々な二重特異性フォーマットにおけるMN20A10-OKT3またはMN20A10-12F6のIC50を示す図である。

40

【図25】細胞の核がDAPIで青色に染色され、MNC2抗体が赤色の蛍光を発する、抗MUC1\*抗体MNC2で染色されたヒトがん細胞の拡大写真を示す図である。図25Aは、時間ゼロにおいて、抗体が細胞の表面に結合していることを示す。図25Bは、45分後、抗体が内在化され、細胞質全体にわたって見られることを示す。抗体内在化はADCが機能するために必要である。

【図26】抗体にコンジュゲートして、ADCとしても既知の抗体-薬剤コンジュゲートを形成することができる毒性ペイロードMMAEを含む化学物質の化学構造を示す図である。MCは、抗体上のシステインへの結合を促進するマレイミドカプロイル(MC)部分を表す。VCは、バリニン-シトルリン(VC)部分、またPABはパラ-アミノベンジル

50

(P A B) 部分を表し、いずれもリソソーム酵素であるカテプシン B によるがん細胞内での酵素的切断を促進する。M M A E はモノメチルアウリスタチン E (M M A E) 部分を示し、これはチューブリンの重合をブロックすることにより細胞分裂を阻害する毒性ペイロードであり、細胞内在化および／または非毒性部分の切断後の毒性ペイロードである。

【図 2 7】抗体にコンジュゲートして、A D C としても既知の抗体-薬剤コンジュゲートを形成することができる毒性ペイロード M M A F を含む化学物質の化学構造を示す図である。M C は、抗体上のシステインへの結合を促進するマレイミドカプロイル (M C) 部分を表す。V C は、バリニン-シトルリン (V C) 部分、また P A B はパラ-アミノベンジル (P A B) 部分を表し、いずれもリソソーム酵素であるカテプシン B によるがん細胞内での毒性ペイロードの酵素的切断を促進する。M M A F は、細胞内在化および／または非毒性部分の切断後の毒性ペイロードであるモノメチルアウリスタチン E (M M A F) 部分を表す。M M A F ペイロードはカルボン酸を含むため、ペイロードが抗体から切断された後に細胞膜を出ることは不可能ではないにせよ困難である。したがって、M M A F が強力なチューブリン阻害を示すのは、ペイロードが内在化された後である。

10

【図 2 8】抗体にコンジュゲートする準備のできた、デルクステカンと称される反応性立体配置 (r e a c t i v e c o n f i g u r a t i o n) に組み込まれたエキサテカン誘導体、D x d の化学構造を示す図である。M C は、抗体上のシステインへの結合を促進するマレイミドカプロイル (M C) 部分を表す。G G F G は、柔軟なリンカーを提供するグリシン-グリシン-フェニルアラニン-グリシン (G G F G) 部分を表す。カブラーは、エーテル-ジアミドカブラーを介してリンカーとペイロードとを架橋するカブラー (H N - C H 2 - O - C H 2 - C O) 部分を表す。エキサテカンは、細胞内在化および／または非毒性部分の切断後の毒性ペイロードである、D x d 部分を表す。

20

【図 2 9】抗体へのコンジュゲートを促進する、異なる化学物質に組み込まれたエキサテカン誘導体の化学構造を示す図である。M C は、抗体上のシステインへの結合を促進するマレイミドカプロイル (M C) 部分を表す。V C は、バリニン-シトルリン (V C) 部分、また P A B はパラ-アミノベンジル (P A B) 部分を表し、いずれもリソソーム酵素であるカテプシン B によるがん細胞内での毒性ペイロードの酵素的切断を促進する。エキサテカンは、細胞内在化および／または非毒性部分の切断後の毒性ペイロードである、エキサテカン部分を表す。

【図 3 0】M M A E に結合した M N C 2 の疎水性相互作用クロマトグラフィ (H I C) のクロマトグラムを示す図である。M N C 2 のような I g G 1 抗体は、遊離チオールを介して毒素またはプロ毒素にコンジュゲートすることができる遊離チオールを有する最大 8 個のシステインを有する。したがって、最大 8 個の毒素またはペイロードを各抗体に結合させることができる。M N C 2 の H I C クロマトグラムの分析したところ、平均薬剤-抗体比 (D A R) は 4 . 1 0 であった。

30

【図 3 1】M M A F に結合した M N C 2 の疎水性相互作用クロマトグラフィ (H I C) のクロマトグラムを示す図である。M N C 2 - M M A F の平均 D A R は、3 . 6 5 と測定された。

【図 3 2 A】デルクステカンまたはエキサテカンに結合した M N C 2 の疎水性相互作用クロマトグラフィ (H I C) のクロマトグラムを示す図である。図 3 2 A は、デルクステカンに結合した M N C 2 の疎水性相互作用クロマトグラフィ (H I C) のクロマトグラムを示す。M N C 2 - デルクステカンの D A R は 7 . 7 と測定された。

40

【図 3 2 B】デルクステカンまたはエキサテカンに結合した M N C 2 の疎水性相互作用クロマトグラフィ (H I C) のクロマトグラムを示す。図 3 2 B は、エキサテカンに結合した M N C 2 の疎水性相互作用クロマトグラフィ (H I C) のクロマトグラムを示す。M N C 2 - エキサテカンの D A R は、8 . 2 と測定された。

【図 3 3】M M A E に結合した M N 2 0 A 1 0 の疎水性相互作用クロマトグラフィ (H I C) のクロマトグラムを示す図である。M N 2 0 A 1 0 - M M A E の平均 D A R は 2 . 9 6 であった。

【図 3 4】M M A F に結合した M N 2 0 A 1 0 の疎水性相互作用クロマトグラフィ (H I

50

C) のクロマトグラムを示す図である。MN20A10-MMAFの平均DARは3.79であった。

【図35】デルクステカンに結合したMN20A10の疎水性相互作用クロマトグラフィ(HIC)のクロマトグラムを示す図である。MN20A10-デルクステカンの平均DARは4.6であった。

【図36】MMAEの結合前、そして結合後にMNC2のがん細胞を認識する能力を測定するフローサイトメトリーのグラフを示す図である。図36Aは、MMAEとのコンジュゲート前およびコンジュゲート後に、MNC2により認識されるT47D乳がん細胞の割合を示す。図36Bは、MMAEへのコンジュゲート後にMNC2により認識されるT47D乳がん細胞の割合を示す。図36Cは、MMAEとのコンジュゲート前およびコンジュゲート後に、MNC2により認識されるHCT-116、MUC1陰性細胞の割合を示す。図36Dは、MMAEとのコンジュゲート後に、MNC2により認識されるNCI-H1975肺がん細胞の割合を示す。

【図37】MMAEの結合前、そして結合後にMN20A10のがん細胞を認識する能力を測定するフローサイトメトリーのグラフを示す。図37Aは、MMAEとのコンジュゲートの前後に、MN20A10により認識されるT47D乳がん細胞の割合を示す。図37Bは、MMAEへのコンジュゲート後にMN20A10により認識されるT47D乳がん細胞の割合を示す。図37Cは、MMAEとのコンジュゲート前に、MN20A10により認識されるHCT-116、MUC1陰性がん細胞の割合を示す。図37Dは、MMAEとのコンジュゲート後に、MN20A10により認識されるNCI-H1975肺がん細胞の割合を示す。

【図38-1】プレートリーダーアッセイのグラフを示す図であり、標的がん細胞の生存性は、添加したMNC2-ADCの濃度の関数として測定され、生存性はPrestoBlueを用いて測定される。実験を72時間継続させた後、測定を行った。図38Aは、MNC2-MMAEまたはMNC2-MMAFのいずれかの添加後のT47D野生型乳癌細胞の生存性を示す。図38Bは、MNC2-MMAEまたはMNC2-MMAFのいずれかを添加した後の、T47D-MUC1\*と称される、より多くのMUC1\*を発現するように操作されたT47D乳がん細胞の生存性を示す。図38Cは、MNC2-MMAEまたはMNC2-MMAFのいずれかを添加した後のHPAF-II野生型膵がん細胞の生存性を示す。図38Dは、MNC2-MMAEまたはMNC2-MMAFのいずれかを添加した後の、HPAF-II-MUC1\*と称される、より多くのMUC1\*を発現するように操作されたHPAF-II膵がん細胞の生存性を示す。

【図38-2】プレートリーダーアッセイのグラフを示す図であり、標的がん細胞の生存性は、添加したMNC2-ADCの濃度の関数として測定され、生存性はPrestoBlueを用いて測定される。実験を72時間継続させた後、測定を行った。図38Eは、低レベルの標的抗原、MUC1\*を発現する乳がん細胞または膵臓細胞のいずれかに添加されたMNC2-MMAEまたはMNC2-MMAFの死滅化能力について計算されたIC50の表を示す。図38Fは、高レベルの標的抗原、MUC1\*を発現する乳がん細胞または膵臓細胞のいずれかに添加されたMNC2-MMAEまたはMNC2-MMAFの死滅化能力について計算されたIC50の表を示す。

【図39-1】プレートリーダーアッセイのグラフを示す図であり、標的がん細胞の生存性は、添加したMN20A10-ADCの濃度の関数として測定され、生存性はPrestoBlueを用いて測定される。実験を72時間継続させた後、測定を行った。図39Aは、MN20A10-MMAEまたはMN20A10-MMAFのいずれかを添加した後のT47D野生型乳がん細胞の生存性を示す。図39Bは、MN20A10-MMAEまたはMN20A10-MMAFのいずれかを添加した後の、T47D-MUC1\*と称される、より多くのMUC1\*を発現するように操作されたT47D乳がん細胞の生存性を示す。図39Cは、MN20A10-MMAEまたはMN20A10-MMAFのいずれかを添加した後のHPAF-II野生型膵がん細胞の生存性を示す。図39Dは、MN20A10-MMAEまたはMN20A10-MMAFのいずれかを添加した後の、HP

A F I I - M U C 1 \* と称される、より多くの M U C 1 \* を発現するように操作された H P A F I I 膵がん細胞の生存性を示す。

【図 3 9 - 2】プレートリーダーアッセイのグラフを示す図であり、標的がん細胞の生存性は、添加した M N 2 0 A 1 0 - A D C の濃度の関数として測定され、生存性は P r e s t o B l u e を用いて測定される。実験を 7 2 時間継続させた後、測定を行った図 3 9 E は、低～中レベルの標的抗原、M U C 1 \* を発現する乳がん細胞または膵臓細胞のいずれかに添加された M N 2 0 A 1 0 - M M A E または M N 2 0 A 1 0 - M M A F の死滅化能力について計算された I C 5 0 の表を示す。図 3 9 F は、高レベルの標的抗原、M U C 1 \* を発現する乳がん細胞または膵臓細胞のいずれかに添加された M N 2 0 A 1 0 - M M A E または M N 2 0 A 1 0 - M M A F の死滅化能力について計算された I C 5 0 の表を示す。

【図 4 0】プレートリーダーアッセイのグラフを示す図であり、標的がん細胞の生存性は、添加した M N C 2 - A D C または M N 2 0 A 1 0 - A D C の濃度の関数として測定され、生存性は P r e s t o B l u e を用いて測定される。実験を 7 2 時間または 1 2 0 時間継続させた後、M M A E またはデルクステカンコンジュゲートについて、それぞれ測定を行った。図 4 0 A は、M N C 2 - M M A E、M N C 2 - デルクステカン、M N 2 0 A 1 0 - M M A E、または M N 2 0 A 1 0 - デルクステカンのいずれかを添加した後の T 4 7 D 野生型乳がん細胞の生存性を示す。図 4 0 B は、M N C 2 - M M A E、M N C 2 - デルクステカン、M N 2 0 A 1 0 - M M A E、または M N 2 0 A 1 0 - デルクステカンのいずれかを添加した後の、T 4 7 D - M U C 1 \* と称される、より多くの M U C 1 \* を発現するように操作された T 4 7 D 乳がん細胞の生存性を示す。図 4 0 C は、中～低度の M U C 1 \* を発現する T 4 7 D 乳がん細胞または高度の M U C 1 \* を発現する T 4 7 D - M U C 1 \* 乳がん細胞のいずれかに添加した、M N C 2 - M M A E、M N C 2 - デルクステカン、M N 2 0 A 1 0 - M M A E、または M N 2 0 A 1 0 - デルクステカンの死滅化能力について計算した I C 5 0 の表を示す。

【図 4 1】プレートリーダーアッセイのグラフを示す図であり、標的がん細胞の生存性は、添加した M N C 2 - A D C または M N 2 0 A 1 0 - A D C の濃度の関数として P r e s t o B l u e を用いて測定される。実験を 7 2 時間継続させた後、測定を行った。図 4 1 A は、M N C 2 - M M A E または M N 2 0 A 1 0 - M M A E のいずれかを添加した後の D U 1 4 5 野生型ホルモン不応性前立腺がん細胞の生存性を示す。図 4 1 B は、これらの前立腺がん細胞における、M N C 2 - M M A E および M N 2 0 A 1 0 - M M A E の死滅化能力について計算された I C 5 0 の表を示す。

【図 4 2】プレートリーダーアッセイのグラフを示す図であり、標的がん細胞の生存性は、添加した M N C 2 - A D C または M N 2 0 A 1 0 - A D C の濃度の関数として P r e s t o B l u e を用いて測定される。実験を 7 2 時間継続させた後、測定を行った。図 4 2 A は、M N C 2 - M M A E または M N 2 0 A 1 0 - M M A E のいずれかを添加した後の N C I - H 1 9 7 5 非小細胞肺がん細胞の生存性を示す。図 4 2 B は、これらの肺がん細胞についての M N C 2 - M M A E および M N 2 0 A 1 0 - M M A E の死滅化能力について計算された I C 5 0 の表を示す。

【図 4 3】プレートリーダーアッセイのグラフを示す図であり、標的がん細胞の生存性は、M N C 2 - M M A E または M N 2 0 A 1 0 - M M A E を添加した後に測定されている。実験を 7 2 時間継続させた後、測定を行った。図 4 3 A は、M N C 2 - M M A E または M N 2 0 A 1 0 - M M A E のいずれかを添加した後の T 4 7 D 野生型乳がん細胞の生存性を示す。図 4 3 B は、M N C 2 - M M A E または M N 2 0 A 1 0 - M M A E のいずれかを添加した後の、T 4 7 D - M U C 1 \* と称される、より多くの M U C 1 \* を発現するように操作された T 4 7 D 乳がん細胞の生存性を示す。

【図 4 4】プレートリーダーアッセイのグラフを示し、M N 2 0 A 1 0 - M M A E またはアイソタイプ対照抗体である I g G 2 b - M M A E のいずれかで処置した後に、M U C 1 \* を発現するがん細胞、H C T - M U C 1 \* の生存性が、M U C 1 \* 陰性がん細胞、H C T - 1 1 6 - w t と比較されている。実験を 7 2 時間継続させた後、フローサイトメトリ測定を行った。

10

20

30

40

50

【図 4 5】プレートリーダーアッセイのグラフを示す図であり、MUC1\*発現がん細胞の生存率は、非コンジュゲートMN20A10またはMN20A10-MMAEのいずれかを添加した後に測定されている。図 4 5 Aは、NCI H1975 非小細胞肺癌細胞に対するMN20A10-MMAEの死滅効果を示す。図 4 5 Bは、DU145 ホルモン不応性前立腺がん細胞に対するMN20A10-MMAEの死滅効果を示す。図 4 5 Cは、より多くのMUC1\*を発現するように操作された野生型HPAF II 膵がん細胞またはHPAFI-MUC1\*がん細胞に対するMN20A10-MMAEの死滅効果を示す。図 4 5 Dは、IC50の表を示す。

【図 4 6-1】MNC2-MMAEまたはMNC2-デルクステカンのいずれかとインキュベートしたT47D-MUC1\*乳がん細胞の、拡大して撮影された写真を示す図である。図 4 6 Aは、倍率4倍で撮影された写真であり、120時間後の乳がん細胞に対する、500 nMのMNC2-MMAEの死滅効果を示す。図 4 6 Bは、倍率4倍で撮影された写真であり、120時間後の乳がん細胞に対する、6.2 nMのMNC2-MMAEの死滅効果を示す。図 4 6 Cは、対照として未処置のT47D乳がん細胞を倍率4倍で撮影した写真である。図 4 6 Dは、120時間後の乳がん細胞に対する、500 nMのMNC2-デルクステカンの死滅効果を示す。図 4 6 Eは、120時間後の乳がん細胞に対する、6.2 nMのMNC2-デルクステカンの死滅効果を示す。図 4 6 Fは、対照として未処置のT47D乳がん細胞を示す。

【図 4 6-2】MNC2-MMAEまたはMNC2-デルクステカンのいずれかとインキュベートしたT47D-MUC1\*乳がん細胞の、拡大して撮影された写真を示す図である。図 4 6 Gは、倍率20倍で撮影された写真であり、120時間後の乳がん細胞に対する、6.2 nMのMNC2-MMAEの死滅効果を示す。図 4 6 Hは、倍率20倍で撮影された写真であり、対照として未処置の乳がん細胞を示す。図 4 6 Iは、倍率20倍で撮影された写真であり、120時間後の乳がん細胞に対する、6.2 nMのMNC2-デルクステカンの死滅効果を示す。図 4 6 Jは、倍率20倍で撮影された写真であり、対照として未処置の乳がん細胞を示す。死滅効果は、細胞数の大幅な減少、小円化（rounding up）形態への細胞形態の変化、および細胞の浮き上がりとして容易に認識され得る。対照的に、対照ウェルは、平たく広がった形態を有するコンパクトな細胞の融合性単層を示し、浮遊死細胞は見られなかった。

【図 4 7】MNC2-MMAEまたはMNC2-デルクステカンのいずれかとインキュベートしたDU145 前立腺がん細胞の、倍率4倍で撮影された120時間後の写真を示す図である。図 4 7 Aは、500 nMのMNC2-MMAEの死滅効果を示す拡大写真である。図 4 7 Bは、正常な形態およびコンフルエント状態を有する未処置細胞を示す拡大写真である。図 4 7 Cは、500 nMのMNC2-デルクステカンの死滅効果を示す拡大写真である。図 4 7 Dは、正常な形態およびコンフルエント状態を有する未処置細胞を示す拡大写真である。

【図 4 8-1】MN20A10-MMAEまたはMN20A10-デルクステカンのいずれかとインキュベートしたT47D-MUC1\*乳がん細胞の、拡大して撮影された写真を示す図である。図 4 8 Aは、倍率4倍で撮影された写真であり、120時間後の乳がん細胞に対する、500 nMのMN20A10-MMAEの死滅効果を示す。図 4 8 Bは、倍率4倍で撮影された写真であり、120時間後の乳がん細胞に対する、56 nMのMN20A10-MMAEの死滅効果を示す。図 4 8 Cは、倍率4倍で撮影された写真であり、対照として未処置のT47D乳がん細胞を示す。図 4 8 Dは、120時間後の乳がん細胞に対する、500 nMのMN20A10-デルクステカンの死滅効果を示す。図 4 8 Eは、120時間後の乳がん細胞に対する、56 nMのMN20A10-デルクステカンの死滅効果を示す。図 4 8 Fは、対照として未処置のT47D乳がん細胞を示す。

【図 4 8-2】MN20A10-MMAEまたはMN20A10-デルクステカンのいずれかとインキュベートしたT47D-MUC1\*乳がん細胞の、拡大して撮影された写真を示す図である。図 4 8 Gは、倍率20倍で撮影された写真であり、120時間後の乳がん細胞に対する、56 nMのMN20A10-MMAEの死滅効果を示す。図 4 8 Hは、

倍率20倍で撮影された写真であり、対照として未処置の乳がん細胞を示す。図48Iは、倍率20倍で撮影された写真であり、120時間後の乳がん細胞に対する、56nMのMN20A10-デルクステカンの死滅効果を示す。図48Jは、倍率20倍で撮影された写真であり、対照として未処置の乳がん細胞を示す。

【図48-3】MN20A10-MMAEまたはMN20A10-デルクステカンのいずれかとインキュベートしたT47D-MUC1\*乳がん細胞の、拡大して撮影された写真を示す図である。図48Kは、倍率20倍で撮影された写真であり、500nMのMN20A10-MMAE、DAR5.8で処置したDU145前立腺がん細胞を示す。処置された細胞は、集合細胞および死細胞を示す。図48Lは、倍率20倍で撮影された写真であり、未処置の対照DU145前立腺がん細胞を示す。図48Mは、倍率20倍で撮影された写真であり、500nMのMN20A10-デルクステカン、DAR4.6で処置したDU145前立腺がん細胞を示す。処置された細胞は、集合細胞および死細胞を示す。図48Nは、倍率20倍で撮影された写真であり、未処置の対照DU145前立腺がん細胞を示す。

【図49-1】xCELLigence機器で実施されたリアルタイム死滅アッセイからのトレースを示す図である。本アッセイでは、インピーダンスをリアルタイムで測定する。付着したがん細胞が死滅して電極表面から剥がれ落ちると、インピーダンス（絶縁性）が低下する。T47D野生型乳がん細胞をウェルあたり5,000細胞で多電極ウェルプレートにプレーティングし、24時間接着および増殖させた後、ADCを添加した。次いで、MNC2-MMAE、DAR4.1、MN20A10-MMAE、DAR5.8、MNC2-MMAF、DAR3.7、MN20A10-MMAF、DAR3.8、MNC2-デルクステカン、DAR7.2、またはMN20A10-デルクステカン、DAR4.6のいずれかをがん細胞に添加した。図49Aは、500nM、167nM、または2nMの最終濃度で添加したMNC2-MMAEを示し、ADC添加後40時間で実験の読出しを行う。タキソールおよびトリトン陽性死滅対照（positive killing control）として添加した。図49Bは、167nM、56nM、または2nMの最終濃度で添加したMN20A10-MMAEを示し、ADC添加後40時間で実験の読出しを行う。図49Cは、500nM、167nM、または2nMの最終濃度で添加したMNC2-MMAFを示し、ADC添加後40時間で実験の読出しを行う。タキソールおよびトリトン陽性死滅対照（positive killing control）として添加した。図49Dは、500nM、167nM、または2nMの最終濃度で添加したMN20A10-MMAFを示し、ADC添加後40時間で実験の読出しを行う。

【図49-2】xCELLigence機器で実施されたリアルタイム死滅アッセイからのトレースを示す。本アッセイでは、インピーダンスをリアルタイムで測定する。付着したがん細胞が死滅して電極表面から剥がれ落ちると、インピーダンス（絶縁性）が低下する。T47D野生型乳がん細胞をウェルあたり5,000細胞で多電極ウェルプレートにプレーティングし、24時間接着および増殖させた後、ADCを添加した。次いで、MNC2-MMAE、DAR4.1、MN20A10-MMAE、DAR5.8、MNC2-MMAF、DAR3.7、MN20A10-MMAF、DAR3.8、MNC2-デルクステカン、DAR7.2、またはMN20A10-デルクステカン、DAR4.6のいずれかをがん細胞に添加した。図49Eは、500nM、167nM、または2nMの最終濃度で添加したMNC2-MMAEを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、167nMのMNC2-MMAE濃度で死滅した。図49Fは、500nM、167nM、または2nMの最終濃度で添加したMNC2-MMAFを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、167nMのMNC2-MMAF濃度で死滅した。図49Gは、500nM、167nMまたは2nMの最終濃度で添加したMNC2-デルクステカンを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、有意な腫瘍細胞の死滅は、MNC2-MMAEまたはMNC2-MMAFよりも後に起

こるが、100時間までに、167 nMのMNC2-デルクステカン濃度でほぼ同じレベルの死滅に達する。図49Hは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-MMAEを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、56 nMのMN20A10-MMAE濃度で死滅した。図49Iは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-MMAFを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、167 nMのMN20A10-MMAF濃度で死滅した。図49Jは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-デルクステカンを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、腫瘍細胞の死滅はMN20A10-MMAEまたはMN20A10-MMAFよりも後に起こるが、120時間までに、167 nMのMN20A10-デルクステカン濃度で有意な死滅が認められる。

10

【図50-1】xCELLigence機器で実施されたリアルタイム死滅アッセイからのトレースを示す図である。本アッセイでは、インピーダンスをリアルタイムで測定する。付着したがん細胞が死滅して電極表面から剥がれ落ちると、インピーダンス（絶縁性）が低下する。MUC1\*をより多く発現するように操作されたT47D-MUC1\*乳がん細胞を、ウェルあたり5,000細胞で多電極ウェルプレートにプレーティングし、24時間接着および増殖させた後、ADCを添加した。次いで、MNC2-MMAE、DAR4.1、MN20A10-MMAE、DAR5.8、MNC2-MMAF、DAR3.7、MN20A10-MMAF、DAR3.8、MNC2-デルクステカン、DAR7.2、またはMN20A10-デルクステカン、DAR4.6のいずれかをがん細胞に添加した。図50Aは、19 nM、6 nM、または0.69 nMの最終濃度で添加したMNC2-MMAEを示し、ADC添加後40時間で実験の読出しを行う。見られるように、本質的にすべての腫瘍細胞が19 nMで死滅する。タキソールおよびトリトンを陽性死滅対照として添加した。図50Bは、19 nM、6 nM、または2 nMの最終濃度で添加したMN20A10-MMAEを示し、ADC添加後40時間で実験の読出しを行う。見られるように、本質的にすべての腫瘍細胞が19 nMで死滅する。図50Cは、6 nM、2 nM、または0.69 nMの最終濃度で添加したMNC2-MMAFを示し、ADC添加後40時間で実験の読出しを行う。見られるように、本質的にすべての腫瘍細胞が6 nMで死滅する。タキソールおよびトリトンを陽性死滅対照として添加した。図50Dは、56 nM、19 nM、または2 nMの最終濃度で添加したMN20A10-MMAFを示し、ADC添加後40時間で実験の読出しを行う。見られるように、本質的にすべての腫瘍細胞が56 nMで死滅する。

20

30

【図50-2】xCELLigence機器で実施されたリアルタイム死滅アッセイからのトレースを示す図である。本アッセイでは、インピーダンスをリアルタイムで測定する。付着したがん細胞が死滅して電極表面から剥がれ落ちると、インピーダンス（絶縁性）が低下する。MUC1\*をより多く発現するように操作されたT47D-MUC1\*乳がん細胞を、ウェルあたり5,000細胞で多電極ウェルプレートにプレーティングし、24時間接着および増殖させた後、ADCを添加した。次いで、MNC2-MMAE、DAR4.1、MN20A10-MMAE、DAR5.8、MNC2-MMAF、DAR3.7、MN20A10-MMAF、DAR3.8、MNC2-デルクステカン、DAR7.2、またはMN20A10-デルクステカン、DAR4.6のいずれかをがん細胞に添加した。図50Eは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-MMAEを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべてのT47D-MUC1\*腫瘍細胞が、6 nMのMNC2-MMAE濃度で死滅した。図50Fは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-MMAFを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべてのT47D-MUC1\*腫瘍細胞が、2 nMのMNC2-MMAF濃度で死滅した。図50Gは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-デルクステカンを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、有意なT47D-MUC1\*腫瘍細胞の死滅は、MNC2-MMAEまたはMNC2-MMAFよりも後に起こるが、120時間までに、6 nMの

40

50

MNC2-デルクステカン濃度でほぼ同じレベルの死滅に達する。図50Hは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-MMAEを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、19nMのMN20A10-MMAE濃度で死滅した。図50Iは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-MMAFを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、19nMのMN20A10-MMAF濃度で死滅した。図50Jは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-デルクステカンを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、T47D-MUC1\*腫瘍細胞の死滅はMN20A10-MMAEまたはMN20A10-MMAFよりも後に起こるが、120時間までに、本質的にすべての腫瘍細胞が167nMのMN20A10-デルクステカン濃度で死滅した。

10

【図51-1】xCELLigence機器で実施されたリアルタイム死滅アッセイからのトレースを示す図である。本アッセイでは、インピーダンスをリアルタイムで測定する。付着したがん細胞が死滅して電極表面から剥がれ落ちると、インピーダンス（絶縁性）が低下する。NCI-H1975肺がん細胞を、多電極ウェルプレート上に5,000細胞/ウェルでプレーティングし、24時間接着および増殖させた後、ADCを添加した。次いで、MNC2-MMAE、DAR4.1、MN20A10-MMAE、DAR5.8、MNC2-MMAF、DAR3.7、MN20A10-MMAF、DAR3.8、MNC2-デルクステカン、DAR7.2、またはMN20A10-デルクステカン、DAR4.6のいずれかをがん細胞に添加した。図51Aは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-MMAEを示し、40時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、167nMのMNC2-MMAF濃度で死滅した。タキソールおよびトリトンを陽性死滅対照として添加した。図51Bは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-MMAEを示し、40時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、167nMのMNC2-MMAF濃度で死滅した。図51Cは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-MMAFを示し、40時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、167nMのMNC2-MMAF濃度で死滅した。タキソールおよびトリトンを陽性死滅対照として添加した。図51Dは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-MMAFを示し、40時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、167nMのMNC2-MMAF濃度で死滅した。

20

30

【図51-2】xCELLigence機器で実施されたリアルタイム死滅アッセイからのトレースを示す図である。本アッセイでは、インピーダンスをリアルタイムで測定する。付着したがん細胞が死滅して電極表面から剥がれ落ちると、インピーダンス（絶縁性）が低下する。NCI-H1975肺がん細胞を、多電極ウェルプレート上に5,000細胞/ウェルでプレーティングし、24時間接着および増殖させた後、ADCを添加した。次いで、MNC2-MMAE、DAR4.1、MN20A10-MMAE、DAR5.8、MNC2-MMAF、DAR3.7、MN20A10-MMAF、DAR3.8、MNC2-デルクステカン、DAR7.2、またはMN20A10-デルクステカン、DAR4.6のいずれかをがん細胞に添加した。図51Eは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-MMAEを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての肺腫瘍細胞が、167nMのMNC2-MMAE濃度で死滅した。図51Fは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-MMAFを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、56nMのMNC2-MMAF濃度で死滅した。図51Gは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-デルクステカンを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。図51Hは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-MMAEを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、56nM~19nMのMN20A10-MMAE濃度で死滅した。図51Iは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-MMAFを示し、A

40

50

C添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、56 nMのMN20A10-MMAF濃度で死滅した。

【図52-1】xCELLigence機器で実施されたリアルタイム死滅アッセイからのトレースを示す図である。本アッセイでは、インピーダンスをリアルタイムで測定する。付着したがん細胞が死滅して電極表面から剥がれ落ちると、インピーダンス（絶縁性）が低下する。HPAF II野生型（WT）膵がん細胞を、多電極ウェルプレート上に5,000細胞／ウェルでプレーティングし、24時間接着および増殖させた後、ADCを添加した。次いで、MNC2-MMAE、DAR4.1、MN20A10-MMAE、DAR5.8、MNC2-MMAF、DAR3.7、MN20A10-MMAF、DAR3.8、MNC2-デルクステカン、DAR7.2、またはMN20A10-デルクステカン、DAR4.6のいずれかをがん細胞に添加した。図52Aは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-MMAEを示し、40時間で実験の読出しを行う。タキソールおよびトリトンを陽性死滅対照として添加した。図52Bは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-MMAEを示し、40時間で実験の読出しを行う。図52Cは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-MMAFを示し、40時間で実験の読出しを行う。タキソールおよびトリトンを陽性死滅対照として添加した。図52Dは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-MMAFを示し、40時間で実験の読出しを行う。

【図52-2】xCELLigence機器で実施されたリアルタイム死滅アッセイからのトレースを示す図である。本アッセイでは、インピーダンスをリアルタイムで測定する。付着したがん細胞が死滅して電極表面から剥がれ落ちると、インピーダンス（絶縁性）が低下する。HPAF II野生型（WT）膵がん細胞を、多電極ウェルプレート上に5,000細胞／ウェルでプレーティングし、24時間接着および増殖させた後、ADCを添加した。次いで、MNC2-MMAE、DAR4.1、MN20A10-MMAE、DAR5.8、MNC2-MMAF、DAR3.7、MN20A10-MMAF、DAR3.8、MNC2-デルクステカン、DAR7.2、またはMN20A10-デルクステカン、DAR4.6のいずれかをがん細胞に添加した。図52Eは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-MMAEを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての膵臓腫瘍細胞が、56 nMのMNC2-MMAE濃度で死滅した。図52Fは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-MMAFを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、56 nMのMNC2-MMAF濃度で死滅した。図52Gは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-デルクステカンを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。有意な死滅は、約56 nMの濃度で、120時間で測定される。図52Hは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-MMAEを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、56 nM～19 nMのMN20A10-MMAE濃度で死滅した。図52Iは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-MMAFを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、56 nMのMN20A10-MMAF濃度で死滅した。

【図53-1】xCELLigence機器で実施されたリアルタイム死滅アッセイからのトレースを示す図である。本アッセイでは、インピーダンスをリアルタイムで測定する。付着したがん細胞が死滅して電極表面から剥がれ落ちると、インピーダンス（絶縁性）が低下する。より多くのMUC1\*を発現するように操作されたHPAF II-MUC1\*膵がん細胞を、多電極ウェルプレート上に5,000細胞／ウェルでプレーティングし、24時間接着および増殖させた後、ADCを添加した。次いで、MNC2-MMAE、DAR4.1、MN20A10-MMAE、DAR5.8、MNC2-MMAF、DAR3.7、MN20A10-MMAF、DAR3.8、MNC2-デルクステカン、DAR7.2、またはMN20A10-デルクステカン、DAR4.6のいずれかをがん細胞に添加した。図53Aは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-MMAEを示

し、40時間で実験の読出しを行う。タキソールおよびトリトンを陽性死滅対照として添加した。図53Bは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-MMAEを示し、40時間で実験の読出しを行う。図53Cは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-MMAFを示し、40時間で実験の読出しを行う。タキソールおよびトリトンを陽性死滅対照として添加した。図53Dは、様々な濃度にわたって添加されたMN20A10-MMAFを示し、40時間で実験の読出しを行う。

【図53-2】xCELLigence機器で実施されたリアルタイム死滅アッセイからのトレースを示す図である。本アッセイでは、インピーダンスをリアルタイムで測定する。付着したがん細胞が死滅して電極表面から剥がれ落ちると、インピーダンス（絶縁性）が低下する。より多くのMUC1\*を発現するように操作されたHPAF IE-MUC1\*膵がん細胞を、多電極ウェルプレート上に5,000細胞/ウェルでプレーティングし、接着させ、24時間接着および増殖させた後、ADCを添加した。次いで、MNC2-MMAE、DAR4.1、MN20A10-MMAE、DAR5.8、MNC2-MMAF、DAR3.7、MN20A10-MMAF、DAR3.8、MNC2-デルクステカン、DAR7.2、またはMN20A10-デルクステカン、DAR4.6のいずれかをがん細胞に添加した。図53Eは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-MMAEを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、56nMのMNC2-MMAE濃度で死滅した。図53Fは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-MMAFを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、56nMのMNC2-MMAF濃度で死滅した。図53Gは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMNC2-デルクステカンを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。図に見られるように、120時間後までに、167nMの濃度でほぼすべての膵がん細胞が死滅する。図53Hは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-MMAEを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、56nM~19nMのMN20A10-MMAE濃度で死滅した。図53Iは、様々な濃度範囲にわたって添加されたMN20A10-MMAFを示し、ADC添加後120時間で実験の読出しを行う。示されるように、本質的にすべての腫瘍細胞が、56nMのMN20A10-MMAF濃度で死滅した。

【図54】xCELLigence機器で実施されたリアルタイム死滅アッセイからのトレースを示す図である。本アッセイでは、インピーダンスをリアルタイムで測定する。付着したがん細胞が死滅して電極表面から剥がれ落ちると、インピーダンス（絶縁性）が低下する。ここで、低~中レベルのMUC1\*を発現するT47D-wt乳がん細胞を、多電極96ウェルプレート上に1ウェルあたり5,000細胞でプレーティングし、24時間接着および増殖させた後、ADCを添加した。次いで、MNC2-エキサテカン、DAR8.2、MNC2-デルクステカン、DAR4.0、MNC2-MMAE、DAR4.1、または50μMの遊離エキサテカンのいずれかをがん細胞に添加した。xCELLigenceの読出しは0時間~120時間である。図54Aは、500nMの濃度で添加された様々なADCを示す。図54Bは、167nMの濃度で添加された様々なADCを示す。図54Cは、56nMの濃度で添加された様々なADCを示す。図54Dは、19nMの濃度で添加された様々なADCを示す。図54Eは、各ADCについて、およびそれぞれのDARについてのトレースの色を一覧にしたKeyを示す。図に見られるように、MNC2-エキサテカンは、56nMという低濃度で標的がん細胞を強力に死滅させる。

【図55】xCELLigence機器で実施されたリアルタイム死滅アッセイからのトレースを示す図である。本アッセイでは、インピーダンスをリアルタイムで測定する。付着したがん細胞が死滅して電極表面から剥がれ落ちると、インピーダンス（絶縁性）が低下する。ここで、高レベルのMUC1\*を発現するように操作されたT47D-MUC1\*乳がん細胞を、多電極96ウェルプレート上に1ウェルあたり5,000細胞でプレーティングし、24時間接着および増殖させた後、ADCを添加した。次いで、MNC2-

エキサテカン、DAR 8.2、MNC 2-デルクステカン、DAR 4.0、MNC 2-MMAE、DAR 4.1、または50  $\mu$ Mの遊離エキサテカンのいずれかをがん細胞に添加した。xCELLigenceの読出しは0時間~120時間である。図55Aは、19 nMの濃度で添加された様々なADCを示す。図55Bは、6.2 nMの濃度で添加された様々なADCを示す。図55Cは、2.1 nMの濃度で添加された様々なADCを示す。図55Dは、0.69 nMの濃度で添加された様々なADCを示す。図55Eは、各ADCについて、およびそれぞれのDARについてのトレースの色を一覧にしたKeyを示す。図に見られるように、MNC 2-エキサテカンおよびMNC 2-デルクステカンは、6.2 nM、さらには2.1 nMという低濃度で、標的抗原を高レベルで発現しているがん細胞を強力に死滅させる。

10

【図56】xCELLigence機器で実施されたリアルタイム死滅アッセイからのトレースを示す図である。本アッセイでは、インピーダンスをリアルタイムで測定する。付着したがん細胞が死滅して電極表面から剥がれ落ちると、インピーダンス（絶縁性）が低下する。ここで、非常に低レベルのMUC 1\*を発現するNCI-H1975非小細胞肺癌細胞を、多電極96ウェルプレート上に1ウェルあたり5,000細胞でプレATINGし、24時間接着および増殖させた後、ADCを添加した。次いで、MNC 2-エキサテカン、DAR 8.2、MNC 2-デルクステカン、DAR 4.0、MNC 2-MMAE、DAR 4.1、または50  $\mu$ Mの遊離エキサテカンのいずれかをがん細胞に添加した。xCELLigenceの読出しは0時間~120時間である。図56Aは、500 nMの濃度で添加された様々なADCを示す。図56Bは、167 nMの濃度で添加された様々なADCを示す。図56Cは、56 nMの濃度で添加された様々なADCを示す。図56Dは、19 nMの濃度で添加された様々なADCを示す。図56Eは、各ADCについて、およびそれぞれのDARについてのトレースの色を一覧にしたKeyを示す。図に見られるように、MNC 2-エキサテカンは、167 nMという低濃度で、非常に低レベルの標的抗原を発現するがん細胞を強力に死滅させる。

20

【図57-1】90日間のエストロゲンペレットを移植され、次いで低~中レベルのMUC 1\*を発現するT47D野生型細胞、またはより多くのMUC 1\*を発現するように操作されたT47D-MUC 1\*細胞のいずれかである1Mのヒト乳がん細胞を右脇腹に移植された、雌NOD/SCID/GAMMA (NSG) マウスの生物発光写真を示す図である。腫瘍移植後7日目に、動物にMNC 2-MMAE、DAR 3.9を5 mg/kgで注射したが、14日目および20日目の注射では10 mg/kgまで増加させた。図57Aは、T47D-wt腫瘍細胞を移植したが、PBSを模擬注射した対照動物を示す。図57Bは、T47D-wt細胞を移植し、次いでMNC 2-MMAEを注射した動物を示す。図57Cは、T47D-MUC 1\*腫瘍細胞を移植したが、PBSを模擬注射した対照動物を示す。図57Dは、T47D-MUC 1\*細胞を移植し、次いでMNC 2-MMAEを注射した動物を示す。

30

【図57-2】90日間のエストロゲンペレットを移植され、次いで低~中レベルのMUC 1\*を発現するT47D野生型細胞、またはより多くのMUC 1\*を発現するように操作されたT47D-MUC 1\*細胞のいずれかである1Mのヒト乳がん細胞を右脇腹に移植された、雌NOD/SCID/GAMMA (NSG) マウスの生物発光写真を示す図である。腫瘍移植後7日目に、動物にMNC 2-MMAE、DAR 3.9を5 mg/kgで注射したが、14日目および20日目の注射では10 mg/kgまで増加させた。図57Eは、T47D野生型乳がん細胞を移植したマウスについての、腫瘍移植後の日数の関数としての生物発光（放射輝度 光子/cm<sup>2</sup>）のIVIS測定のグラフを示す。図57Fは、T47D-MUC 1\*乳がん細胞を移植したマウスについての、腫瘍移植後の日数の関数としての生物発光（放射輝度 光子/cm<sup>2</sup>）のIVIS測定のグラフを示す。

40

【図58-1】90日間のエストロゲンペレットを移植され、次いで低~中レベルのMUC 1\*を発現するT47D野生型細胞、またはより多くのMUC 1\*を発現するように操作されたT47D-MUC 1\*細胞のいずれかである1Mのヒト乳がん細胞を右脇腹に移植された、雌NOD/SCID/GAMMA (NSG) マウスの生物発光写真を示す図で

50

ある。腫瘍移植後7日目に、動物にMN20A10-MMAE、DAR3.0を5mg/kgで注射したが、14日目および20日目の注射では10mg/kgまで増加させた。図58Aは、T47D-wt腫瘍細胞を移植したが、PBSを模擬注射した対照動物を示す。図58Bは、T47D-wt細胞を移植し、次いでMN20A10-MMAEを注射した動物を示す。図58Cは、T47D-MUC1\*腫瘍細胞を移植したが、PBSを模擬注射した対照動物を示す。図58Dは、T47D-MUC1\*細胞を移植し、次いでMN20A10-MMAEを注射した動物を示す。

【図58-2】90日間のエストロゲンペレットを移植され、次いで低～中レベルのMUC1\*を発現するT47D野生型細胞、またはより多くのMUC1\*を発現するように操作されたT47D-MUC1\*細胞のいずれかである1Mのヒト乳がん細胞を右脇腹に移植された、雌NOD/SCID/GAMMA(NSG)マウスの生物発光写真を示す図である。腫瘍移植後7日目に、動物にMN20A10-MMAE、DAR3.0を5mg/kgで注射したが、14日目および20日目の注射では10mg/kgまで増加させた。図58Eは、T47D野生型乳がん細胞を移植したマウスについての、腫瘍移植後の日数の関数としての生物発光（放射輝度 光子/cm<sup>2</sup>）のIVIS測定グラフを示す。図58Fは、T47D-MUC1\*乳がん細胞を移植したマウスについての、腫瘍移植後の日数の関数としての生物発光（放射輝度 光子/秒/cm<sup>2</sup>）のIVIS測定グラフを示す。

【図59】低～中レベルのMUC1\*を発現する1MのヒトNCI-H1975非小細胞肺がん細胞を右脇腹に移植した雌nu/nuマウスの生物発光写真を示す。腫瘍移植後7日目、示されるように5mg/kgまたは10mg/kgのいずれかのMNC2-MMAEを動物に注射した。生物発光写真に見られるように、19日目および27日目にMNC2-MMAE、DAR3.9の用量を10mg/kgに増加させると、腫瘍細胞の死滅が増加した。図59Aは、NCI-H1975非小細胞肺がん細胞を移植したが、PBSを模擬注射した対照動物を示す。図59Bは、NCI-H1975非小細胞肺がん細胞を移植し、次いでMNC2-MMAEを注射した動物を示す。図59Cは、腫瘍移植後の日数の関数としての生物発光（放射輝度 光子/秒/cm<sup>2</sup>）のIVIS測定グラフを示す。

【図60】低～中レベルのMUC1\*を発現する1MのヒトNCI-H1975非小細胞肺がん細胞を右脇腹に移植した雌nu/nuマウスの、IVIS機器で撮影した生物発光写真を示す図である。腫瘍移植後7日目および14日目に、5mg/kgのMN20A10-MMAE、DAR3.0を動物に注射した。19日目に、用量を10mg/kgに増加させ、腹腔内(ip)注射によって投与した。写真およびグラフに見られるように、用量の増加は腫瘍細胞の死滅を劇的に増加させた。図60Aは、NCI-H1975非小細胞肺がん細胞を移植したが、PBSを模擬注射した対照動物を示す。図60Bは、NCI-H1975非小細胞肺がん細胞を移植し、次いでMN20A10-MMAEを注射した動物を示す。図60Cは、26日目に対照動物から切除した腫瘍の写真および重量を示す。図60Dは、腫瘍移植後の日数の関数としての生物発光（放射輝度 光子/秒/cm<sup>2</sup>）のIVIS測定グラフを示す。

【図61-1】低～中レベルのMUC1\*を発現するHPAF-II野生型(wt)細胞、またはより多くのMUC1\*を発現するように操作されたHPAF-II-MUC1\*細胞のいずれかである、0.5Mのヒト膵がんを右脇腹に移植した雌nu/nuマウスの、IVIS機器で撮影した生物発光写真を示す。腫瘍移植後7日目に、対照としてのPBS、または10mg/kgのMNC2-MMAE、DAR4.1のいずれかを動物に注射した。図61Aは、HPAF-II-wt膵がん細胞を移植したが、PBSを模擬注射した対照動物のIVIS生物発光写真を示す。図61Bは、HPAF-II-wt膵がん細胞を移植し、次いでMNC2-MMAEを注射した動物のIVIS生物発光写真を示す。図61Cは、HPAF-II-MUC1\*膵がん細胞を移植したが、PBSを模擬注射した対照動物のIVIS生物発光写真を示す。図61Dは、HPAF-II-MUC1\*膵がん細胞を移植し、次いでMNC2-MMAEを注射した動物のIVIS生物発光写真を示す。

【図 6 1 - 2】低～中レベルの MUC 1 \* を発現する HPAF II 野生型 (wt) 細胞、またはより多くの MUC 1 \* を発現するように操作された HPAF II - MUC 1 \* 細胞のいずれかである、0.5 M のヒト膵がんを右脇腹に移植した雌 nu / nu マウスの、IVIS 機器で撮影した生物発光写真を示す。腫瘍移植後 7 日目に、対照としての PBS、または 10 mg / kg の MNC 2 - MMAE、DAR 4.1 のいずれかを動物に注射した。図 6 1 E は、過剰な腫瘍体積のために殺しなけりばならなかった HPAF II - wt 対照動物から切除した腫瘍の写真を示す。図 6 1 F は、過剰な腫瘍体積のために殺しなけりばならなかった HPAF II - MUC 1 \* 対照動物から切除した腫瘍の写真を示す。図 6 1 G は、対照マウスと MNC 2 - MMAE 処置マウスの両方について、腫瘍移植後の日数の関数としての生物発光 (放射輝度 光子 / 秒 / cm<sup>2</sup>) の IVIS 測定の重ねグラフである。25 日目の IVIS データポイントは、機器の不具合のため省略する。図 6 1 H は、25 日目の腫瘍のカリパス測定の棒グラフを示す。カリパス測定により、HPAF II - wt 細胞株対 HPAF II - MUC 1 \* 細胞株におけるルシフェラーゼの発現レベルの差がなくなる。

10

【図 6 1 - 3】低～中レベルの MUC 1 \* を発現する HPAF II 野生型 (wt) 細胞、またはより多くの MUC 1 \* を発現するように操作された HPAF II - MUC 1 \* 細胞のいずれかである、0.5 M のヒト膵がんを右脇腹に移植した雌 nu / nu マウスの、IVIS 機器で撮影した生物発光写真を示す。腫瘍移植後 7 日目に、対照としての PBS、または 10 mg / kg の MNC 2 - MMAE、DAR 4.1 のいずれかを動物に注射した。図 6 1 I は、HPAF II - wt 膵がん細胞を移植したが、PBS を模擬注射した対照動物の 11 日目の写真を示す。図 6 1 J は、HPAF II - wt 膵がん細胞を移植したが、PBS を模擬注射した対照動物の 18 日目の写真を示す。図 6 1 K は、HPAF II - wt 膵がん細胞を移植したが、PBS を模擬注射した対照動物の 25 日目の写真を示し、右脇腹のますます大きくなる腫瘍を示している。図 6 1 L は、HPAF II - wt 膵がん細胞を移植し、次いで MNC 2 - MMAE を注射した動物の 11 日目の写真を示す。図 6 1 M は、HPAF II - wt 膵がん細胞を移植し、次いで MNC 2 - MMAE を注射した動物の 18 日目の写真を示す。図 6 1 N は、HPAF II - wt 膵がん細胞を移植し、次いで MNC 2 - MMAE を注射した動物の 25 日目の写真を示し、マウスのうちの 3 匹は、ほとんど視認できない小さな腫瘍を認めた。

20

【図 6 1 - 4】低～中レベルの MUC 1 \* を発現する HPAF II 野生型 (wt) 細胞、またはより多くの MUC 1 \* を発現するように操作された HPAF II - MUC 1 \* 細胞のいずれかである、0.5 M のヒト膵がんを右脇腹に移植した雌 nu / nu マウスの、IVIS 機器で撮影した生物発光写真を示す。腫瘍移植後 7 日目に、対照としての PBS、または 10 mg / kg の MNC 2 - MMAE、DAR 4.1 のいずれかを動物に注射した。図 6 1 O は、HPAF II - MUC 1 \* 膵がん細胞を移植したが、PBS を模擬注射した対照動物の 11 日目の写真を示す。図 6 1 P は、HPAF II - MUC 1 \* 膵がん細胞を移植したが、PBS を模擬注射した対照動物の 18 日目の写真を示す。図 6 1 Q は、HPAF II - MUC 1 \* 膵がん細胞を移植したが、PBS を模擬注射した対照動物の 25 日目の写真を示し、右脇腹の大きな腫瘍を示している。図 6 1 R は、HPAF II - MUC 1 \* 膵がん細胞を移植し、次いで MNC 2 - MMAE を注射した動物の 11 日目の写真を示す。図 6 1 S は、HPAF II - MUC 1 \* 膵がん細胞を移植し、次いで MNC 2 - MMAE を注射した動物の 18 日目の写真を示す。図 6 1 T は、HPAF II - MUC 1 \* 膵がん細胞を移植し、次いで MNC 2 - MMAE を注射した動物の 25 日目の写真を示しており、ここで腫瘍は見えず、触知もできない。

30

40

【図 6 2】より多くの MUC 1 \* を発現するように操作された、0.5 M のヒト膵がん細胞、HPAF II - MUC 1 \* 細胞を右脇腹に移植した雌 nu / nu マウスの、IVIS 装置で撮影した生物発光写真を示す。腫瘍移植後 7 日目に、対照としての PBS、または 10 mg / kg の MNC 2 - MMAE、DAR 4.1 のいずれかを動物に注射した。図に見られるように、66 日目まで、処置マウスは、腫瘍を有しないか、わずかな残存腫瘍を有した。HPAF II 細胞株はルシフェラーゼをよく発現しないため、生物発光は弱

50

い。そのため、本発明者らは、腫瘍の実際のサイズを実証づけるカリパス測定も行った。図62Aは、HPAF I I-MUC1\*膵がん細胞を移植したが、PBSを模擬注射した対照動物のIVIS生物発光写真を示す。図61Bは、HPAF I I-MUC1\*膵がん細胞を移植し、次いで10mg/kgのMNC2-MMAEを注射した動物のIVIS生物発光写真を示す。図62Cは、MNC2-MMAE処置群ではわずかな腫瘍が残るか、または腫瘍が全く残らないのに対して、過剰な腫瘍体積のため殺しなければならなかったHPAF I I-MUC1\*対照動物から切除した腫瘍の写真を示す。図62Dは、対照マウスとMNC2-MMAE処置マウスの両方について、腫瘍移植後の日数の関数としての生物発光（放射輝度 光子/秒/cm<sup>2</sup>）のIVIS測定の重ねグラフである。図62Eは、対照対処置マウスのカプラン-マイヤー生存プロットを示す。図62Fは、対照動物対処置動物のカリパス測定値の棒グラフを示す。

10

【図63】雌NOD/SCID/GAMMA (NSG) マウスの生物発光写真を示し、90日のエストロゲンペレットを移植し、次いで低～中レベルのMUC1\*を発現するT47D野生型細胞、またはより多くのMUC1\*を発現するように操作されたT47D-MUC1\*細胞のいずれかである、1Mのヒト乳がん細胞を右脇腹に移植した。腫瘍移植後6日目に、10mg/kgのMNC2-デルクステカン、DAR4.2を動物に注射したが、T47D-wt処置マウスについては20mg/kgに増加させた。T47D-MUC1\*処置マウスの処置は、10mg/kgで一定のままとした。図63Aは、T47D-wt腫瘍細胞を移植したが、PBSを模擬注射した対照動物を示す。図63Bは、T47D-wt細胞を移植し、次いでMNC2-デルクステカンを注射した動物を示す。図63Cは、T47D-MUC1\*腫瘍細胞を移植したが、PBSを模擬注射した対照動物を示す。図63Dは、T47D-MUC1\*細胞を移植し、次いでMNC2-デルクステカンを注射した動物を示す。図63Eは、T47D野生型乳がん細胞を移植したマウスについての、腫瘍移植後の日数の関数としての生物発光（放射輝度 光子/cm<sup>2</sup>）のIVIS測定のグラフを示す。図63Fは、T47D-wt乳がん細胞を移植した動物についての、日毎の各マウスの生物発光測定の棒グラフを示す。図63Gは、T47D-MUC1\*乳がん細胞を移植したマウスについての、腫瘍移植後の日数の関数としての生物発光（放射輝度 光子/秒/cm<sup>2</sup>）のIVIS測定のグラフを示す。図63Hは、T47D-MUC1\*乳がん細胞を移植した動物についての、日毎の各マウスの生物発光測定の棒グラフを示す。

20

30

【図64-1】4日目～30日目の個々のマウスのIVIS発光測定の線グラフを示す。T47D-wt乳がん細胞、またはより多くのMUC1\*を発現するT47D-MUC1\*細胞のいずれかを、NOD/SCOD/GAMMAマウスに移植した。両群のマウスを、PBSで模擬処置するか、またはMNC2-デルクステカンで処置した。腫瘍移植後6日目に、10mg/kgのMNC2-デルクステカン、DAR4.2を動物に注射したが、T47D-wt処置マウスについては20mg/kgに増加させた。T47D-MUC1\*処置マウスの処置は、10mg/kgで一定のままとした。図64Aは、対照群のマウス番号1におけるT47D-wt腫瘍の増殖を示す。図64Bは、対照群のマウス番号2におけるT47D-wt腫瘍の増殖を示す。図64Cは、対照群のマウス番号3におけるT47D-wt腫瘍の増殖を示す。図64Dは、対照群のマウス番号4におけるT47D-wt腫瘍の増殖を示す。図64Eは、対照群のマウス番号5におけるT47D-wt腫瘍の増殖を示す。図64Fは、MNC2-デルクステカンで処置した群のマウス番号1におけるT47D-wt腫瘍の増殖を示す。図64Gは、MNC2-デルクステカンで処置した群のマウス番号2におけるT47D-wt腫瘍の増殖を示す。図64Hは、MNC2-デルクステカンで処置した群のマウス番号3におけるT47D-wt腫瘍の増殖を示す。図64Iは、MNC2-デルクステカンで処置した群のマウス番号4におけるT47D-wt腫瘍の増殖を示す。図64Jは、MNC2-デルクステカンで処置した群のマウス番号5におけるT47D-wt腫瘍の増殖を示す。

40

【図64-2】4日目～30日目の個々のマウスのIVIS発光測定の線グラフを示す。T47D-wt乳がん細胞、またはより多くのMUC1\*を発現するT47D-MUC1

50

\*細胞のいずれかを、NOD／SCOD／GAMMAマウスに移植した。両群のマウスを、PBSで模擬処置するか、またはMNC2－デルクステカンで処置した。腫瘍移植後6日目に、10mg／kgのMNC2－デルクステカン、DAR4．2を動物に注射したが、T47D－wt処置マウスについては20mg／kgに増加させた。T47D－MUC1＊処置マウスの処置は、10mg／kgで一定のままとした。図64Kは、対照群のマウス番号1におけるT47D－MUC1＊腫瘍の増殖を示す。図64Lは、対照群のマウス番号2におけるT47D－MUC1＊腫瘍の増殖を示す。図64Mは、対照群のマウス番号3におけるT47D－MUC1＊腫瘍の増殖を示す。図64Nは、対照群のマウス番号4におけるT47D－MUC1＊腫瘍の増殖を示す。図64Oは、対照群のマウス番号5におけるT47D－MUC1＊腫瘍の増殖を示す。図64Pは、MNC2－デルクステカンで処置した群のマウス番号1におけるT47D－MUC1＊腫瘍の増殖を示す。図64Qは、MNC2－デルクステカンで処置した群のマウス番号2におけるT47D－MUC1＊腫瘍の増殖を示す。図64Rは、MNC2－デルクステカンで処置した群のマウス番号3におけるT47D－MUC1＊腫瘍の増殖を示す。図64Sは、MNC2－デルクステカンで処置した群のマウス番号4におけるT47D－MUC1＊腫瘍の増殖を示す。図64Tは、MNC2－デルクステカンで処置した群のマウス番号5におけるT47D－MUC1＊腫瘍の増殖を示す。

10

【図65】腫瘍細胞の画像を示す。0日目の細胞を染色すると、細胞はMUC1＊よりも完全長MUC1をより多く発現し、染色強度が弱く、MUC1＊受容体の数が少ないことを示しており、これは早期がんであることを示す。腫瘍移植後62日、つまりヒトの時間で約7年に相当する日数で、MUC1＊の発現が、発現の範囲および発現の強度の点で、後期腫瘍（late stage tumor）において低発現から高発現へと劇的に変化したことを容易に認識することができる。対照的に、腫瘍の連続切片を染色すると、完全長MUC1が発現しており、これは、表面発現後にMUC1＊へと切断されるためであると予想される。しかし、染色の強度は増加しておらず、発現したMUC1の大部分が後期腫瘍において増殖因子受容体型MUC1＊へと切断されたことを示している。

20

【発明を実施するための形態】

【0037】

本願は、抗MUC1＊多特異性抗体および抗MUC1＊抗体コンジュゲートならびにそれらを作製および使用方法に関する。MUC1膜貫通タンパク質の切断型は、すべてのヒトがんのうちの75％超の増殖を駆動する増殖因子受容体である。MUC1の切断型である、MUC1＊（ムク1スターと発音）は、増殖因子受容体である。MUC1の細胞外ドメインの大部分を切断および放出することにより、リガンド二量体のNME1、NME6、NME7、NME7AB、NME7－X1、またはNME8の活性化のための結合部位を露出させる。これは、すべてのがんのうちの75％超で異常に発現され、ひと際高い割合の転移性がんが過剰発現される可能性が高いため、がん用薬剤の理想的な標的である（Mahanta et al. (2008) A Minimal Fragment of MUC1 Mediates Growth of Cancer Cells. PLoS ONE 3 (4) : e2054. doi:10.1371/journal.pone.0002054、Fessler et al. (2009), “MUC1＊ is a determinant of trastuzumab (Herceptin) resistance in breast cancer cells,” Breast Cancer Res Treat. 118 (1) : 113－124）。MUC1切断後、その細胞外ドメインの大部分が細胞の表面から脱落する。残りの部分であるMUC1＊は、PSMGFR（配列番号133）と称される一次増殖因子受容体配列の大部分またはすべてを含む切断型細胞外ドメインを有する。

30

40

【0038】

現在、患者に非経口投与されている多くの薬剤は標的を定めておらず、結果として、薬剤の送達が必要かつ多くの場合望ましくない、身体の細胞および組織へと薬剤が全身送達されることになる。このことは、結果として、有害な副作用をもたらす場合があり、多く

50

の場合投与可能な薬剤（例えば、化学療法薬（抗がん剤）、細胞毒性剤、酵素阻害薬、抗ウイルス剤、抗菌剤）の用量が制限される。

【0039】

主な目的は、治療剤を細胞および組織に特異的に標的化させるための方法を開発することである。このような処置の利益は、このような薬剤が他の細胞および組織へ不適切に送達されることの全般的な生理学的影響を回避することを含む。本明細書の開示により、これらのおよび他の制限や従来の問題が解決される。

【0040】

ある特定の用語

別段の定義がない限り、本明細書で使用されるすべての技術用語および科学用語は、特許請求される主題が属する技術分野の当業者によって通常理解されるのと同じ意味を有する。すべての特許、特許出願、公開された出願および刊行物、GENBANK配列、ウェブサイト、および本明細書の開示全体を通して言及された他の公開された資料は、別段の記載がない限り、その全体が参照により援用される。概して、細胞培養、細胞感染、抗体産生および分子生物学的方法のための手順は、当技術分野において通常使用される方法である。このような標準的な技術は、例えば、Sambrookら（2000）およびAusubelら（1994）などの参照便覧に見出すことができる。

【0041】

本明細書で使用される場合、単数形「a」、「an」、および「the」は、内容上明らかに別異に解されない限り、複数の指示対象を含む。本願では、特に別段の定めのない限り、単数形の使用は複数形を含む。本明細書で使用される場合、別段の定めのない限り、「または」の使用は、「および／または」を意味する。さらに、「含む（including）」という用語、ならびに他の形態（例えば、「含む（include）」、「含む（includes）」、および「含む（included）」）の使用は限定的なものではない。

【0042】

「含む（including）」、「含有する（containing）」、または「によって特徴付けられる（characterized by）」と同義である、移行語「含む（comprising）」は、包括的またはオープンエンドであり、追加の挙げられていない要素または方法工程を除外するものではない。「からなる（consisting of）」という移行句は、に特定されていないあらゆる要素、工程、または成分を除外する。「から本質的になる（consisting essentially of）」という移行句は、特許請求の範囲の範囲を特定の材料または工程、および特許請求された発明の基本的かつ新規な特徴に実質的に影響を与えないものに限定する。

【0043】

本明細書で使用される場合、範囲および量は、約（about）」特定の値または範囲として表すことができる。約には正確な量も含まれる。例えば、「約1mg」は、「約1mg」を意味し、「1mg」も意味する。「約」および「およそ（approximately）」という用語は、概して、実験誤差内にあると予想される量を含む。

【0044】

「個体（individual）」、「患者（patient）」、または「対象（subject）」という用語は、互換的に使用される。本明細書で使用される場合、これらは任意の哺乳動物（すなわち、分類学的分類、動物界、脊索動物門、脊椎動物門、哺乳類内の任意の目、科、および属の種）を意味する。一部の実施形態では、哺乳動物はヒトである。これらの用語のいずれも、医療従事者（例えば、医師、登録看護師、ナースプラクティショナー、医師助手、用務員、またはホスピス職員）の監督（例えば、一定または断続的）によって特徴づけられる状況を必要とせず、これに限定もされない。

【0045】

「ポリペプチド」、「ペプチド」、および「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指すために互換的に使用される。この用語は、天然に存在するアミノ酸ポリ

10

20

30

40

50

マー、および1つまたは複数のアミノ酸残基が天然に存在しないアミノ酸（例えば、アミノ酸類似体）であるアミノ酸ポリマーに適用される。この用語は、アミノ酸残基が共有ペプチド結合により結合する、完全長タンパク質（すなわち、抗原）を含む、あらゆる長さのアミノ酸鎖を包含する。

【0046】

アミノ酸配列が本明細書に提供される場合、配列のL-、D-、またはβアミノ酸バージョンも、レトロ、インバージョン、およびレトロインバージョンアイソフォームと同様に企図される。ペプチドは、1つまたは複数のアミノ酸残基が、対応する天然に存在するアミノ酸の人工化学的類似体であるアミノ酸ポリマーも、天然に存在するアミノ酸ポリマーと同様に含む。加えて、この用語は、ペプチド結合または他の修飾結合（modified linkages）によって結合されたアミノ酸（例えば、ペプチド結合がα-エステル、β-エステル、チオアミド、ホスホンアミド、カルバメート、ヒドロキシレートなどによって置換されている場合（例えば、Spatola, (1983) Chem. Biochem. Amino Acids and Proteins 7:267-357を参照されたい）、アミドが飽和アミンで置換されている場合（例えば、参照により本明細書に援用されるSkilesら, 米国特許第4,496,542号、およびKaltenbronnら, (1990) Pp. 969-970 in Proc. 11th American Peptide Symposium, ESCOM Science Publishers, オランダなどを参照されたい））に適用される。

10

【0047】

「アミノ酸」という用語は、天然に存在するアミノ酸および合成アミノ酸、ならびに天然に存在するアミノ酸と同様の方法で機能するアミノ酸類似体およびアミノ酸模倣体を指す。天然に存在するアミノ酸は、遺伝子コードによってコードされるもの、ならびに後で修飾されるアミノ酸、例えば、ヒドロキシプロリン、γ-カルボキシグルタメート、およびO-ホスホセリンである。アミノ酸は、疎水性アミノ酸、極性アミノ酸、非極性アミノ酸、および荷電アミノ酸として分類される。疎水性アミノ酸には、小さな疎水性アミノ酸および大きな疎水性アミノ酸が含まれる。小さな疎水性アミノ酸は、グリシン、アラニン、プロリン、およびそれらの類似体であり得る。大きな疎水性アミノ酸は、バリン、ロイシン、イソロイシン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン、およびそれらの類似体であり得る。極性アミノ酸は、セリン、トレオニン、アスパラギン、グルタミン、システイン、チロシン、およびそれらの類似体であり得る。非極性アミノ酸は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、トリプトファン、プロリン、およびそれらの類似体であり得る。荷電アミノ酸は、リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパルテート、グルタメート、およびそれらの類似体であり得る。アミノ酸類似体とは、天然に存在するアミノ酸と同じ基本化学構造を有する化合物、すなわち、水素、カルボキシル基、アミノ基、およびR基に結合した炭素、例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシドを指す。そのような類似体は、修飾されたR基（例えば、ノルロイシン）または修飾されたペプチド骨格を有するが、天然に存在するアミノ酸と同じ基本化学構造を保持する。アミノ酸模倣体とは、アミノ酸の一般的な化学構造とは異なる構造を有するが、天然に存在するアミノ酸と同様に機能する化学化合物を指す。アミノ酸は、Dアミノ酸またはLアミノ酸のいずれかである。

20

30

40

【0048】

本明細書および添付の特許請求の範囲で使用される場合、反対の意味に指定されない限り、次の用語は以下に示す意味を有する。

【0049】

一部の実施形態では、本明細書に開示される化合物は、1つまたは複数の不斉中心を含有するため、絶対的な立体化学の観点から（R）または（S）として定義されるエナンチオマー、ジアステレオマー、および他の立体異性体の形態を生じさせる。別段の定めのない限り、本明細書に開示される化合物の立体異性体形態はすべて、本開示により企図されることが意図される。本明細書に記載の化合物がアルケン二重結合を含有する場合、およ

50

び別段の定めのない限り、本開示は、EとZ両方の幾何異性体（例えば、シスまたはトランス）を含むことが意図される。したがって、本明細書で提供される化合物は、鏡像異性的に純粋であってもよく、または立体異性体もしくはジアステレオ異性体の混合物であってもよい。本明細書に提供される化合物は、キラル中心を含有し得る。このようなキラル中心は、（R）または（S）配置のいずれかであってもよく、またはそれらの混合物であってもよい。本明細書に提供される化合物のキラル中心は、*in vivo*でエピマー化を受け得る。したがって、当業者は、その（R）形態の化合物の投与が、*in vivo*でエピマー化を受ける化合物について、その（S）形態の化合物の投与と同等であることを認識するであろう。同様に、考えられ得るすべての異性体に加え、そのラセミ体や光学的に純粋な形態、およびすべての互変異性体形態も含まれることが意図される。「幾何異性体」という用語は、アルケン二重結合のEまたはZの幾何異性体（例えば、シスまたはトランス）を指す。「位置異性体」という用語は、ベンゼン環周囲のオルト異性体、メタ異性体、およびパラ異性体などの中心環周囲の構造異性体を指す。

10

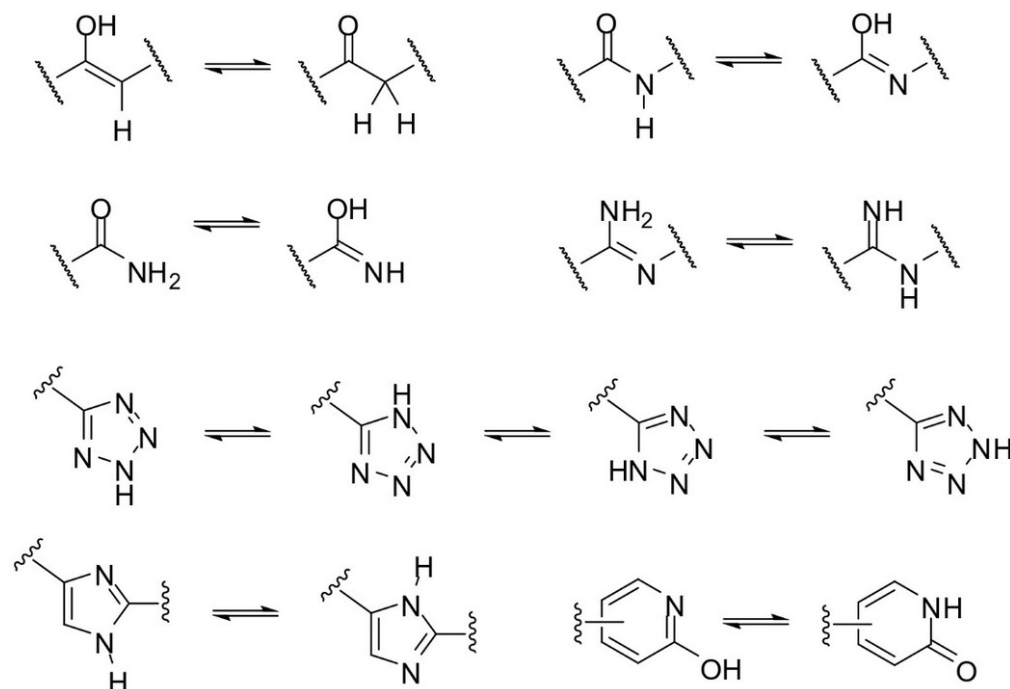
## 【0050】

「互変異性体」は、分子の1つの原子から同分子の別の原子へのプロトン移動が可能な分子を指す。本明細書で提示される化合物は、特定の実施形態では、互変異性体として存在する。互変異性化が可能な状況では、互変異性体の化学平衡が存在する。互変異性体の正確な比は、物理的状态、温度、溶媒、pHを含む様々な因子に依拠する。互変異性平衡のいくつかの例としては、

20

## 【0051】

## 【化17】



30

が挙げられる。

## 【0052】

「薬学的に許容可能な塩」は、酸付加塩および塩基付加塩の両方を含む。本明細書に記載される化合物またはコンジュゲートのいずれか1つの薬学的に許容可能な塩は、あらゆる薬学的に適切な塩形態を包含するよう意図されている。本明細書に記載される化合物の好ましい薬学的に許容可能な塩は、薬学的に許容可能な酸付加塩および薬学的に許容可能な塩基付加塩である。

## 【0053】

本明細書で使用される場合、「抗体」および「免疫グロブリン」という用語は、当技術分野の用語であり、本明細書において互換的に使用されることがあり、抗原に特異的に結

50

合する抗原結合部位を有する分子を指す。ある実施形態では、目的のタンパク質に特異的に結合する、本明細書に記載の単離した抗体（例えば、モノクローナル抗体）、またはその抗原結合断片である。

#### 【0054】

抗体としては、例えば、モノクローナル抗体、組換え産生抗体、単特異性抗体、多特異性抗体（二重特異性抗体を含む）、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、合成抗体、重鎖2分子と軽鎖2分子とを含む四量体抗体、抗体軽鎖単量体、抗体重鎖単量体、抗体軽鎖二量体、抗体重鎖二量体、抗体軽鎖／抗体重鎖対、2つの軽鎖／重鎖対を有する抗体（例えば、相同対）、イントラボディ、ヘテロコンジュゲート抗体、単ドメイン抗体、一価抗体、二価抗体（一特異性二価抗体または二特異性二価抗体を含む）、単鎖抗体、または単鎖可変フラグメント（scFv）、ラクダ化抗体、アフィボディ（affybodies）、Fabフラグメント、F(ab')フラグメント、F(ab')<sub>2</sub>フラグメント、ジスルフィド結合Fv（sdFv）、抗イデオタイプ（抗Id）抗体（例えば、抗抗Id抗体を含む）、および上記のいずれかのエピトープ結合フラグメントなどが挙げられる。

10

#### 【0055】

抗体は、免疫グロブリン分子の任意の種類（例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA、もしくはIgY）、任意のクラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、もしくはIgA2）、または任意のサブクラス（例えば、IgG2aまたはIgG2b）であり得る。ある実施形態では、本明細書に記載の抗体は、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、またはIgG4）もしくはサブクラスである。

20

#### 【0056】

本明細書に開示される抗体のCDR配列、または本明細書に開示される抗MUC1\*もしくは抗CD3結合ドメイン配列は、以下に従って定義または決定され得る。(i) Kabatナンバリングシステム（Kabatら（197）Ann. NY Acad. Sci. 190:382-391、およびKabat et al.（1991）Sequences of Proteins of Immunological Interest Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242）、または(ii)本明細書において「Chothia CDR」と称される、Chothiaナンバリングスキーム（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、および米国特許第7,709,226号）、または(iii) ImmunoGenetics（IMGT）ナンバリングシステム、例えば、Lefranc, M.-P., 1999, The Immunologist, 7:132-136 and Lefranc, M.-P. et al, 1999, Nucleic Acid Res., 27:209-212（“IMGT CDRs”）、または(iv) MacCallumら, 1996, J. Mol. Biol., 262:732-745に記載されるもの。例えば、Martin, A., “Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains,” in Antibody Engineering, Kontermann and Diibbel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, ベルリン（2001）も参照されたい。

30

40

#### 【0057】

Kabatナンバリングシステムに関して、抗体重鎖分子内のCDRは、典型的には、35（Kabatナンバリングスキームで35Aおよび35Bと称される）に続く1個ま

50

たは2個の追加のアミノ酸を任意選択で含み得る、アミノ酸位置31～35 (CDRL)、アミノ酸位置50～65 (CDR2)、ならびにアミノ酸位置95～102 (CDR3) に存在する。Kabatナンバリングシステムを用いると、抗体軽鎖分子内のCDRは典型的に、アミノ酸位置24～34 (CDRI)、アミノ酸位置50～56 (CDR2) およびアミノ酸位置89～97 (CDR3) に存在する。当業者には周知のように、Kabatナンバリングシステムを用いると、抗体可変ドメインの実際の直鎖アミノ酸配列は、FRおよび／またはCDRの短縮または伸長により、より少ないアミノ酸または追加のアミノ酸を含む場合があり、そのため、アミノ酸のKabat番号は、必ずしもその直鎖アミノ酸番号と同じではない。

#### 【0058】

「キメラ」抗体という用語は、重鎖および／または軽鎖の一部が特定の供給源または種に由来し、一方重鎖および／または軽鎖の残りは異なる供給源または種に由来する抗体を指す。

#### 【0059】

「多特異性」という用語は、抗体が2つ以上の異なる抗原決定基、例えば、異なる抗原に結合する抗体重鎖可変ドメイン (VH) と抗体軽鎖可変ドメイン (VL) との対によってそれぞれ形成される2つの結合部位に、特異的に結合可能であることを意味する。

#### 【0060】

本明細書で使用される場合、「ヒト抗体」または「ヒト化抗体」という用語は、ヒト生殖細胞系列の免疫グロブリン配列から誘導される可変領域および定常領域を有する抗体を含むことを意図している。ヒト抗体は当技術分野において周知である (van Dijk, M. A., and van de Winkel, J. G., Curr. Opin. Chem. Biol. 5 (2001) 368-374)。一部の例では、ヒト抗体はまた、内因性免疫グロブリン産生がない場合に、免疫化によりヒト抗体の完全なレパートリーまたはセレクションを産生することができるトランスジェニック動物 (例えば、マウス) においても産生される。このような生殖細胞系列突然変異マウスへのヒト生殖細胞系列免疫グロブリン遺伝子アレイの移入は、抗原投チャレンジ時にヒト抗体の産生をもたらす (例えば、Jakobovits, A., et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90 (1993) 2551-2555, Jakobovits, A., et al, Nature 362 (1993) 255-258, Bruggemann, M., et al, Year Immunol. 7 (1993) 33-40を参照されたい)。さらなる例では、ヒト抗体は、ファージディスプレイライブラリにおいても産生される (Hoogenboom, H. R., and Winter, G., J. Mol. Biol. 227 (1992) 381-388; Marks, J. D., et al, J. Mol. Biol. 222 (1991) 581-597)。ColeらおよびBoernerらの技術も、ヒトモノクローナル抗体の調製に利用可能である (Cole, et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); and Boerner, P., et al, J. Immunol. 147 (1991) 86-95)。

#### 【0061】

本明細書で使用される場合、「抗原」は、抗体が特異的に結合することができるエピトープを含有する部分または分子である。したがって、抗原は、抗体により特異的に結合する。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体が結合する抗原は、目的のタンパク質、例えば、MUC1\*、CD3、またはそれらの断片である。

#### 【0062】

本明細書で使用される場合、「重鎖」という用語は、抗体に関して使用されるとき、任意の異なる種類、例えば、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、アルファ ( $\alpha$ )、デルタ ( $\delta$ )、エプシロン ( $\epsilon$ )、ガンマ ( $\gamma$ )、およびミュー ( $\mu$ ) を指すことがあり、IgGのサブクラス、例えばIgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>、およびIgG<sub>4</sub>を含む、IgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMクラスの抗体をそれぞれ生じる。

10

20

30

40

50

## 【0063】

本明細書で使用される場合、「軽鎖」という用語は、抗体に関して使用されるとき、任意の異なる種類、例えば、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（ $\kappa$ ）またはラムダ（ $\lambda$ ）を指すことがある。軽鎖アミノ酸配列は、当技術分野において周知である。特定の実施形態では、軽鎖はヒト軽鎖である。

## 【0064】

本明細書で使用される場合、配列に関する「パーセント（%配列同一性）」または「配列同一性」という用語は、配列をアライメントし、必要に応じてギャップを導入して最大パーセント配列同一性を達成した後、配列同一性の一部としていかなる保存的置換も考慮しない、特定の配列中のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセントである。アミノ酸配列同一性パーセントを決定するためのアラインメントは、例えば、EMBOSS MATCHER、EMBOSS WATER、EMBOSS STRETCHER、EMBOSS NEEDLE、EMBOSS ALIGN、BLAST、BLAST-2、ALIGN、またはMegalign（DNASTAR）ソフトウェアなどの、一般に入手可能なコンピューターソフトウェアを用いて、当該技術分野の技術範囲内の様々な方法で達成することができる。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するために必要ないずれかのアルゴリズムを含む、アライメントを測定するための適切なパラメータを決定することができる。

## 【0065】

ALIGN-2がアミノ酸配列比較に使用される状況では、所与のアミノ酸配列Aの、所与のアミノ酸配列Bに対する（to）、所与のアミノ酸配列Bとの（with）、所与のアミノ酸配列Bに対する（against）アミノ酸配列同一性%（あるいは、所与のアミノ酸配列Bと特定のアミノ酸配列同一性%を有するか、または含むアミノ酸配列Aとも称される）は、以下分数 $X/Y$ の100倍であって、式中、Xは、配列アラインメントプログラムALIGN-2によって、そのプログラムのAおよびBのアラインメントにおいて、同一のマッチとしてスコア付けされたアミノ酸残基の数であり、Yは、B中のアミノ酸残基の総数である。アミノ酸配列Aの長さがアミノ酸配列Bの長さとは等しくない場合、Bに対するAのアミノ酸配列同一性%は、Aに対するBのアミノ酸配列同一性%とは等しくないことが理解されよう。特に別段の定めのない限り、本明細書で使用されるすべてのアミノ酸配列同一性値%は、ALIGN-2コンピュータプログラムを使用して直前の段落に記載されるように得られるものである。

## 【0066】

本明細書では、「完全長抗体」、「インタクト抗体」、「全抗体」という用語が、実質的にインタクトな形態の抗体を指すために互換的に使用され、以下に定義する抗体フラグメントではない。この用語は特に、Fc領域を含んだ重鎖を有する抗体を指す。

## 【0067】

「抗体断片」は、インタクト抗体の一部のみを含み、その部分は、インタクト抗体中に存在する場合にその部分に通常関連する機能の少なくとも1つ、2つ、3つ、および大部分、またはすべてを保持する。一態様では、抗体フラグメントは、インタクト抗体の抗原結合部位を含み、したがって抗原に結合する能力を保持する。

## 【0068】

本明細書で使用される場合、「エピトープ」は、当該技術分野で既知の用語であり、抗体が特異的に結合し得る抗原の局所領域を指す。エピトープは、連続したアミノ酸の直線状エピトープであり得るか、または抗原の2つ以上の非連続領域からのアミノ酸を含み得る。

## 【0069】

本明細書で使用される場合、抗体の結合の文脈における「結合する（binds）」、「結合する（binds to）」、「特異的に結合する（specifically binds）」または「特異的に結合する（specifically binds to）」という用語は、そのような結合が当業者に理解されるように、抗原（例えば、エ

トープ)への抗体結合を指す。特定の実施形態では、抗原に特異的に結合する分子は、その分子が別の抗原に結合するときの親和性 ( $K_d$ ) よりも少なくとも  $2 \log$ 、 $2.5 \log$ 、 $3 \log$ 、 $4 \log$ 、低い (高い)  $K_d$  で抗原に結合する。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、他のタンパク質と交差反応しない。

【0070】

「結合部分」または「リンカー」(例えば、Lと表記される)とは、2つの反応性末端を有する分子であり、一方はコンジュゲート部分Yを介してポリペプチド(例えば、抗体)に結合するためのものであり、他方は結合部分(SPと表記される)、またはSPが存在しない場合にはTの部分にコンジュゲートするためのものである。リンカーのポリペプチドコンジュゲート反応性末端は、典型的には、ポリペプチド(例えば、抗体)上のシステインチオール基を介してポリペプチド(例えば、抗体)に結合可能な部位であり、したがって典型的には、マレイミドもしくはジブロモマレイミドなどのチオール反応基、または本明細書で定義されるようなチオール反応基である。

10

【0071】

本明細書で使用される場合、「処置(treatment)」、「処置すること(treating)」、「緩和すること(palliating)」、または「改善すること(ameliorating)」は、互換的に使用される。これらの用語は、治療利益および/または予防利益を含むがこれに限定されない、有益または所望の結果を得るための手法を指す。「治療利益」は、処置対象である根底にある疾患の根絶または軽快を意味する。さらに治療利益は、患者が根底にある疾患を依然として患っているにもかかわらず、患者に改善が観察されるように、根底にある疾患に関連する生理的症状のうち1つもしくは複数の根絶または改善によって達成される。予防利益では、組成物は、一部の実施形態では、特定の疾患が診断されていなくても、この疾患を発症するリスクを有する患者、または疾患の生理的な症状の1つもしくは複数の報告する患者に投与される。

20

【0072】

#### MUC1\*結合ドメイン

一部の実施形態では、本明細書には、抗MUC1\*結合ドメインを含む抗体が開示される。一部の実施形態では、MUC1\*結合ドメインは、抗体またはその抗原結合フラグメントもしくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合フラグメントもしくはバリエーションは、モノクローナル抗体である。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合フラグメントもしくはバリエーションは、ヒト抗体、マウス抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体である。一部の実施形態では、MUC1\*結合ドメインは、一価Fab、二価Fab'2、単鎖可変フラグメント(scFv)、またはその機能的フラグメントもしくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、MUC1\*結合ドメインは、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4ドメインを含む。一部の実施形態では、MUC1\*結合ドメインはIgG1ドメインを含む。一部の実施形態では、MUC1\*結合ドメインはIgG2ドメインを含む。一部の実施形態では、MUC1\*結合ドメインはIgG3ドメインを含む。一部の実施形態では、MUC1\*結合ドメインはIgG4ドメインを含む。

30

【0073】

一部の実施形態では、MUC1\*に特異的に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションは、抗MUC1\*重鎖および抗MUC1\*軽鎖を含む。

40

【0074】

一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖は、抗MUC1\*重鎖可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4重鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*軽鎖は、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパまたはラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。

【0075】

一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG1重鎖の可変ドメイン

50

を含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパまたはラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG2重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパまたはラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG3重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパまたはラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG4重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパまたはラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。

#### 【0076】

一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG1重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG2重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG3重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG4重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパ軽鎖の可変ドメインを含む。

#### 【0077】

一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG1重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、ラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG2重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、ラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG3重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、ラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG4重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、ラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。

#### 【0078】

一部の実施形態では、MUC1\*に特異的に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションは、単鎖可変フラグメント(scfv)または抗原結合フラグメント(Fab)を含む。一部の実施形態では、MUC1\*に特異的に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションは、単鎖可変フラグメントを含む。一部の実施形態では、MUC1\*に特異的に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションは、抗原結合フラグメント(Fab)を含む。

#### 【0079】

一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、相補性決定領域(CDR)：HC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3を含み、抗MUC1\*重鎖可変ドメインのHC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3は、HC-CDR1：配列番号1または4、HC-CDR2：配列番号2または5、HC-CDR3：配列番号3または6に記載のアミノ酸配列を含み、CDRは、HC-CDR1、HC-CDR2、またはHC-CDR3の少なくとも1つにおいて、0～2個のアミノ酸修飾(例えば、0または1個のアミノ酸修飾)を含む。

#### 【0080】

一部の実施形態では、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、相補性決定領域(CDR)：LC-CDR1、LC-CDR2、およびLC-CDR3を含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインのLC-CDR1、LC-CDR2、およびLC-CDR3は、LC-CDR1：配列番号13または16、LC-CDR2：配列番号14または17、LC-CDR3：配列番号15または18に記載のアミノ酸配列を含み、CDRは、LC-CDR1、LC-CDR2、またはLC-CDR3の少なくとも1つにおいて、0～2個のアミノ酸修飾(例えば、0または1個のアミノ酸修飾)を含む。

#### 【0081】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖は、配列番号38または44に対して少なくとも75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*軽鎖は、配列番号41または47に対して少なくとも75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0082】

【表1】

10

表1. MUC1\*結合ドメイン CDR配列

| コンストラクト         | 配列番号 | MUC1* HC-CDR1     | 配列番号 | MUC1* HC-CDR2     | 配列番号 | MUC1* HC-CDR3 |
|-----------------|------|-------------------|------|-------------------|------|---------------|
| 抗MUC1*<br>20A10 | 1    | TYAMS             | 2    | SIGRAGSTYYSDSVKG  | 3    | GPIYNDYDEFAY  |
| 抗MUC1*<br>MNC2  | 4    | GYAMS             | 5    | TISSGGTYIYYPDSVKG | 6    | LGGDNYEYFDV   |
| コンストラクト         | 配列番号 | MUC1* LC-CDR1     | 配列番号 | MUC1* LC-CDR2     | 配列番号 | MUC1* LC-CDR3 |
| 抗MUC1*<br>20A10 | 13   | KSSQSVLYSSNQKNYLA | 14   | WASTRES           | 15   | HQYLSSLT      |
| MUC1*<br>MNC2   | 16   | RASKSVSTSGYSYMH   | 17   | LASNLES           | 18   | QHSRELPFT     |

20

【0083】

30

【表2-1】

表2：抗MUC1\*結合ドメインの重鎖配列、重鎖可変ドメイン配列、軽鎖配列、および軽鎖可変ドメイン配列の例

| コンストラクト | 配列番号 | 配列 |
|---------|------|----|
|---------|------|----|

【0084】

40

50

【表 2 - 2】

|                           |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|---------------------------|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 抗 MUC1* MNC2 HC<br>DNA    | 37 | <p>gagggtgcagctgggtggagtctgggggaggcctgggtcaagcctggggggtccctgagac<br/>tc</p> <p>tcctgtgcagcctctggattcaccttcagtggtatgccatgagctgggtccgccaggct<br/>ccagggaagggtggagtgggtctcaaccattagtagtgccggaacctacatactac<br/>ccgactcagtgaaaggccgattcacctctccagagacaacccaagaactcactgtat<br/>ctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggcctgtattactgtgcgagactgg<br/>g</p> <p>ggggataattactacgaataacttcgatgtctggggcaaaggaccacggtcaccgtctcc<br/>tccgctccaccaagggccatcgggtcttcccctggcggcctgctccaggagcactcc<br/>gagagcacagccggcctgggtcctgggtcaaggactactccccgaaccgggtgacggt<br/>g</p> <p>tcgtggaactcaggcgtctgaccagcggcgtgcacacctcccagctgtcctacagtc<br/>tcaggactctactccctcagcagcgtggtgacctgcccctcagcaacttcggcaccag<br/>acctacacctgcaacgtatgcacaaagccagcaacccaagggtggacaagacagttga<br/>g</p> <p>cgcaaatgtgtgtcagtggtgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtc<br/>ttcctctcccccaaaacccaaggacacctcatgatctcccgaccctgagggtcacg<br/>tgcgtggtggtgacgtgagccacgaagaccccagggtccagttcaactggtacgtgga<br/>c</p> <p>ggcgtggagggtgcataatgccaagacaaagccacgggaggagcagttcaacagcacgt<br/>tc</p> <p>cgtgtggtcagcgtcctcaccgtgtgaccaggactgggtgaacggcgaaggagtacaa<br/>g</p> <p>tgcaagggtccaacaaaggcctcccagccccatcgagaaaacctctccaaaccaa<br/>a</p> <p>gggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccggaggagatgacca<br/>ag</p> <p>aaccagggtcagcctgacgtgctggtcaaaaggcttctacccagcgacatcgccgtggag<br/>tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacacctccatgctggact<br/>cc</p> <p>gacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggg<br/>g</p> <p>aacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagc<br/>ctctccctgtctccgggtaaatagtaa</p> | 10 |
| 抗 MUC1* MNC2 HC<br>アミノ酸   | 38 | <p>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVR</p> <p>QAPGKGLEWVSTISSGGTYIYYPDsvKGRFTISRDNakNS</p> <p>LYLQMNSLRAEDTAVYYCARLGGDNYYEYFDVWGKGT</p> <p>TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFP</p> <p>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS</p> <p>SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP</p> <p>APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED</p> <p>PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV</p> <p>LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQ</p> <p>VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ</p> <p>PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS</p> <p>SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 30 |
| 抗 MUC1* MNC2 HC<br>可変ドメイン | 39 | <p>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVR</p> <p>QAPGKGLEWVSTISSGGTYIYYPDsvKGRFTISRDNakNS</p> <p>LYLQMNSLRAEDTAVYYCARLGGDNYYEYFDVWGKGT</p> <p>TVTVSS</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
| 抗 MUC1* MNC2 LC<br>DNA    | 40 | <p>gacattgtgctgaccagtcctccagcctcctggcctgtctccaggacagaggccacc<br/>atcacctgcagagccagtaagagtgtcagtagcgggatactcctacatgcactggtatc<br/>agcagaaaccaggacaacctcctaactcctgatttacctggcatccaatctggagagcg<br/>gggtcccagccaggttcagcggcagtggtctgggaccgatttcacctcacaattaatcc<br/>tgtggaagctaagtatactgcaaatattactgtcagcacagtagggagctgcctttcacatt<br/>cggcggaggggaccaaggtggagatcaaacgaactgtacggtggctgcaccatctgtct</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 40 |

【 0 0 8 5 】

【表 3】

表3：抗MUC1\*単鎖可変フラグメント（scFv）配列

| コンストラクト            | 配列番号 | 配列                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|--------------------|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 抗 MUC1* 20A10 scFv | 129  | QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWIRQ<br>APGKGLEWVASIGRAGSTYYSDSVKGRFTISRDNANKNSL<br>YLQMNSLRAEDTAVYYCARGPIYNDYDEFAYWGQGT<br>LVTSSGGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT<br>LSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYWAS<br>TRESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCHQYLS<br>SLTFGGGTKEIKR |
| 抗 MUC1* MNC2 scFv  | 130  | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVR<br>QAPGKGLEWVSTISSGGTYIYYPDSVKGRFTISRDNANKNS<br>LYLQMNSLRAEDTAVYYCARLGGDNYEYFDVWGKGT<br>TVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAVSPGQR<br>ATITCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIYLASN<br>LESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQHSRE<br>LPFTFGGTKEIKRT |

10

## 【0086】

20

## CD3 結合ドメイン

一部の実施形態では、本明細書には、抗CD3結合ドメインを含む抗体が開示される。一部の実施形態では、CD3結合ドメインは、抗体またはその抗原結合フラグメントもしくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合フラグメントもしくはバリエーションは、モノクローナル抗体である。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合フラグメントもしくはバリエーションは、ヒト抗体、マウス抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体である。一部の実施形態では、CD3結合ドメインは、一価Fab、二価Fab'2、単鎖可変フラグメント（scFv）、またはその機能的フラグメントもしくはバリエーションを含む。

## 【0087】

30

一部の実施形態では、CD3結合ドメインは、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4ドメインを含む。一部の実施形態では、CD3結合ドメインはIgG1ドメインを含む。一部の実施形態では、CD3結合ドメインはIgG2ドメインを含む。一部の実施形態では、CD3結合ドメインはIgG3ドメインを含む。一部の実施形態では、CD3結合ドメインはIgG4ドメインを含む。

## 【0088】

一部の実施形態では、CD3に特異的に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションは、抗CD3重鎖および抗CD3軽鎖を含む。

## 【0089】

一部の実施形態では、抗CD3重鎖は、抗CD3重鎖可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗CD3重鎖可変ドメインは、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4重鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗CD3軽鎖は、抗CD3軽鎖可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗CD3軽鎖可変ドメインは、カッパまたはラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗CD3重鎖可変ドメインは、IgG1重鎖の可変ドメインを含み、抗CD3軽鎖可変ドメインは、カッパまたはラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗CD3重鎖可変ドメインは、IgG2重鎖の可変ドメインを含み、抗CD3軽鎖可変ドメインは、カッパまたはラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗CD3重鎖可変ドメインは、IgG3重鎖の可変ドメインを含み、抗CD3軽鎖可変ドメインは、カッパまたはラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗CD3重鎖可変ドメインは、IgG4重鎖の可変ドメ

40

50

インを含み、抗CD3軽鎖可変ドメインは、カッパまたはラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。

【0090】

一部の実施形態では、CD3に特異的に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションは、単鎖可変フラグメント(s c F v)または抗原結合フラグメント(F a b)を含む。一部の実施形態では、CD3に特異的に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションは、単鎖可変フラグメント(s c F v)を含む。一部の実施形態では、CD3に特異的に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションは、抗原結合フラグメント(F a b)を含む。

【0091】

一部の実施形態では、抗CD3重鎖可変ドメインは、相補性決定領域(CDR): H C - C D R 1、H C - C D R 2、およびH C - C D R 3を含み、抗CD3重鎖可変ドメインのH C - C D R 1、H C - C D R 2、およびH C - C D R 3は、H C - C D R 1: 配列番号7または10、H C - C D R 2: 配列番号8または11、H C - C D R 3: 配列番号9または12に記載のアミノ酸配列を含み、CDRは、H C - C D R 1、H C - C D R 2、またはH C - C D R 3の少なくとも1つにおいて、0~2個のアミノ酸修飾(例えば、0または1個のアミノ酸修飾)を含む。

【0092】

一部の実施形態では、抗CD3軽鎖可変ドメインは、相補性決定領域(CDR): L C - C D R 1、L C - C D R 2、およびL C - C D R 3を含み、抗CD3軽鎖可変ドメインのL C - C D R 1、L C - C D R 2、およびL C - C D R 3は、L C - C D R 1: 配列番号19または22、L C - C D R 2: 配列番号20または23、L C - C D R 3: 配列番号21または24に記載のアミノ酸配列を含み、CDRは、L C - C D R 1、L C - C D R 2、またはL C - C D R 3の少なくとも1つにおいて、0~2個のアミノ酸修飾(例えば、0または1個のアミノ酸修飾)を含む。

【0093】

一部の実施形態では、抗CD3重鎖は、配列番号26または32に対して少なくとも75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0094】

一部の実施形態では、抗CD3重鎖は、配列番号30または33に対して少なくとも75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0095】

一部の実施形態では、抗CD3重鎖は、表5のいずれかのアミノ酸配列に対して少なくとも75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0096】

一部の実施形態では、抗CD3軽鎖は、表5のいずれかのアミノ酸配列に対して少なくとも75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0097】

10

20

30

40

50

【表 4】

表4：抗CD3のCDR

| コンストラクト    | 配列番号 | CD3 HC-CDR1 | 配列番号 | CD3 HC-CDR2        | 配列番号 | CD3 HC-CDR3 |
|------------|------|-------------|------|--------------------|------|-------------|
| 抗 CD3 OKT3 | 7    | RYTMH       | 8    | YINPSRGYTNYN QKVKD | 9    | YYDDHY      |
| 抗 CD3 12F6 | 10   | SYTMH       | 11   | YINPSSGYTKYNQ KFKD | 12   | WQDYDVYFDY  |
| コンストラクト    | 配列番号 | CD3 LC-CDR1 | 配列番号 | CD3 LC-CDR2        | 配列番号 | CD3 LC-CDR3 |
| 抗 CD3 OKT3 | 19   | SASSSVSYMN  | 20   | DTSKLAS            | 21   | QQWSSNPFT   |
| 抗 CD3 12F6 | 22   | RASSSVSYMH  | 23   | YATSNLAS           | 24   | QQWSSNPPT   |

10

20

【 0 0 9 8 】

【表 5 - 1】

表5: 抗CD3結合ドメインの重鎖配列、重鎖可変ドメイン配列、軽鎖配列、および軽鎖可変ドメイン配列の例

| コンストラクト           | 配列番号 | 配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 抗 CD3 OKT3 HC DNA | 25   | caggltcaactgggtcagagcgggtggaggtgtgggtcagcctgggtcgtagcctgagact<br>gagctgcaaggcctccggctacaccttacaagatacactatgcactgggtcagacagg<br>cccctggcaaggcctggaatggattggctacatcaaccctagccggggatatacaca<br>ctacaaccagaaagtgaaggacagattaccatcagcacagataagtccaagtcacc<br>gettctcgcagatggaetccctgcgtccagaggacacagctgtgtactactgcgccg<br>gtactacgacgaccattactgtctggattactgggtcagggaaccaccctgaccgttag<br>cagltgetageaccaaggggcccacgtgttccccctggcaccctctccaagagcacct<br>ctggggggcacagcggccctgggtgcctggtaaggactacttccccgagccgggtga<br>cgggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggtgtccta<br>cagttctcaggacttactccctcagcagcgtgggtgaccgtgccctccagcagcttggg<br>caccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaag<br>aaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctga<br>actcctggggggaccgtcaglttcttcttcccccaaaaccaaggacacctcatgat<br>ctcccgacccctgaggtcacatgcgtgggtggacgtgagccacgaagaccctgag<br>gtcaagttcaactgggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgc |

30

40

【 0 0 9 9 】

50

【表 5 - 2】

|                        |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|------------------------|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                        |    | gggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctaccgtcctgcacca<br>ggactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc<br>cccatcgagaaaaaccatctccaagccaaaggagcagcccgagaaccacaggtgtac<br>accctgccccatcccgggacgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgccttg<br>gtcaaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccg<br>gagaacaactacaagaccacgcctcccgtgtgactccgacggctccttctctctac<br>agcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctctctatgctccg<br>tgatgatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggt<br>aatga                                                                                                                                                                        |
| 抗CD3 OKT3 HC<br>アミノ酸   | 26 | QVQLVQSGGQVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISTDKS<br>KSTAFLLQMDSLRPEDTAVYYCARYYDDHYCLDYWGQ<br>GTTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD<br>YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT<br>VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT<br>CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV<br>VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV<br>VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAK<br>GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV<br>EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW<br>QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK                                                                                                                                                                         |
| 抗CD3 OKT3 HC<br>可変ドメイン | 27 | QVQLVQSGGQVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISTDKS<br>KSTAFLLQMDSLRPEDTAVYYCARYYDDHYCLDYWGQ<br>GTTTLTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 抗CD3 OKT3 LC<br>DNA    | 28 | Cagatgaccagagcccttcttcttcttctgcccagcgtggcgatagagtaccatcac<br>atgcagcgcagcgtcttctgttagctacatgaactggtaccagcaaacctggaaagg<br>ccctaaaagatggatctacgacaccagcaagctggcctctggcgtgcccttagattca<br>gcggtctggtgctcggcaccgactacacettacaattagctccctgcagcccgaggat<br>atgcgccactactactgccagcagtgaggcagcaacccctcacattcgccagggcg<br>caaaagctgcaaatcaccagcgtacgggtggctgcaccatctgtcttcatctcccgcac<br>tgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgtgcctgtgaataactctatcca<br>gagaggccaaagtacagtggtgctggataacgccctccaatcgggtaactcccagga<br>gagtgatcacagagcagggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgac<br>gctgagcaaaagcagactacgagaaacaaagtctacgctgcgaagtcacccatcag<br>ggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgtag |
| 抗CD3 OKT3 LC<br>アミノ酸   | 29 | QMTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSVSYMNWYQQTG<br>KAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYFTISSLQPE<br>DIATYYCQQWSSNPFTFGQGTQLQITRRVAAPSVFIFPP<br>SDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWCVDNALQSG<br>NSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE<br>VTHQGLSSPVTKSFNRGEC-                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 抗CD3 OKT3 LC<br>可変ドメイン | 30 | QMTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSVSYMNWYQQTG<br>KAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYFTISSLQPE<br>DIATYYCQQWSSNPFTFGQGTQLQITRR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 抗CD3<br>12F6 HC DNA    | 31 | caagtgcagctgggtcagtcgggagggcgtcgtgcagcctggaagaagcctccggc<br>tgagctgaaggccagcggctatactaccagctacacatgcaactgggtgcccag<br>gccccggcaaaaggcctggaatggatcggtacatcaacctccagcggctacacaa<br>gtacaaccagaaatcaaggaccggtttaccattagcgcggataagagcaagagcacag<br>ccttctgcagatggacagcctgagaccagaggacaccggcgtgtacttctgcgccgct<br>ggcaggactacagcttatttgcactacggggccagggcaccctgtgacagttagca<br>gcgctagcaccagggcccatcggtcttccccctggcacctcctccaagagcacctctg<br>ggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttcccagagccggtgacggt                                                                                                                                                                                     |

【0100】

10

20

30

40

50

【表 5 - 3】

|                         |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-------------------------|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                         |    | gtcgtgggaactcaggcgccctgaccagcgcgctgcacacctcccggctgtctacatgctcaggaactctactccctcagcagcgtggtgacctgcccctcagcagcttgggcacca<br>gacctacatctgcaacgtgaatcacaaagccagcaacaccaagggtggacaagaagttag<br>agcccaaatctgtgacaaaactcacacatgccaccgtgcccagcacctgaactcctgg<br>ggggaccgtcagttctcttcccccaaaacccaaggacacctcatgatctcccgac<br>ccctgaggctacatgctggtggtggtgacgtgagccacgaagacctgaggtaagtca<br>actggtacgtggacggcgtggaggtgcataatccaagacaaagccgaggagagca<br>gtacaacagcagctaccgtggtgctcagcgtcctcaccgtcctgaccaggaactggtgaa<br>tggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctccagccccatcgagaaaa<br>ccatctccaaagccaaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatcc<br>cgggacgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaggtctctatccc<br>agcgacatcgccgtggtggtggagagcaatgggcagccggagacaactacaagacc<br>acgctcccggtggtgactccgacggctccttctctacagcaagctacggtggaga<br>agagcaggtggcagcaggggaacgtctctcatgctcgtgatgatgaggtctgcaca<br>accactacagcagaagagcctctcctgtctccgggtaaatga |
| 抗 CD3<br>12F6 HC アミノ酸   | 32 | QVQLVQSGGTVVQPGSRSLRLSCKASGYTFTSYTMHWVR<br>QAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISADKSKST<br>AFLQMDSLRLPEDTGVYFCARWQDYDVYFDYWGQGTPV<br>TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP<br>VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL<br>GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP<br>ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE<br>VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL<br>HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV<br>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP<br>ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS<br>VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 抗 CD3<br>12F6 HC 可変ドメイン | 33 | QVQLVQSGGTVVQPGSRSLRLSCKASGYTFTSYTMHWVR<br>QAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISADKSKST<br>AFLQMDSLRLPEDTGVYFCARWQDYDVYFDYWGQGTPV<br>TVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 抗 CD3<br>12F6 LC DNA    | 34 | gatatccagatgacacagagccccagctctctgtctgtctgtggcgacagagtacca<br>tgacctgtagagcctcctcaagcgtgctctacatgactggtaccagcaaacctggcaa<br>ggccccaaagccttgatctacgccacctctaactggccagcggcgtgcttctagattc<br>agcggcagcggatctggcaccgattacacctgacctcagcagcctgcagcccgagg<br>atatgccacatactactgccagcagtggtgagctccaatcctctaccttcggccaggcac<br>caagctgcagatcacaagacgtacggtggtgcaacctgtctctatcttcccgcacatcg<br>atgagcagttgaaatctggaactgctctgtgtgtgctgctgaataacttctatcccagag<br>aggccaaagtacagtggtgctgtgataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagt<br>gtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctga<br>gcaaaagcagactacgaaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacctcagggcctg<br>agctcgcccgtcacaaagagcttaacaggggagagtgttag                                                                                                                                                                                                                                         |
| 抗 CD3<br>12F6 LC アミノ酸   | 35 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTMTCSRASSSVSYMHWYQQT<br>PGKAPKPWIYATSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQ<br>PEDIATYYCQWSSNPPTFGQGTKLQITRRVAAPSVFIF<br>PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWCVDNALQS<br>GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE<br>VTHQGLSSPVTKSFNRGEC-                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 抗 CD3<br>12F6 LC 可変ドメイン | 36 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTMTCSRASSSVSYMHWYQQT<br>PGKAPKPWIYATSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQ<br>PEDIATYYCQWSSNPPTFGQGTKLQITRR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

10

20

30

40

【 0 1 0 1 】

【表 6】

表6：抗CD3単鎖可変フラグメント（scFv）配列

| コンストラクト         | 配列番号 | 配列                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 抗 CD3 12F6 scFv | 131  | QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTSYTMH<br>WVRQAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTIS<br>ADKSKSTAFLQMDSLRLPEDTGVYFCARWQDYDVYF<br>DYWGQGTPTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQS<br>PSSLSASVGDRTMTTCRASSSVSYMHWYQQTPGKA<br>PKPWIYATSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPE<br>DIATYYCQQWSSNPPTFGQGTKLQITR |
| 抗 CD3 OKT3 scFv | 132  | QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMH<br>WVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTI<br>STDKSKSTAFLQMDSLRLPEDTAVYYCARYYDDHYC<br>LDYWGGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQ<br>SPSSLSASVGDRTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKA<br>PKRWIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTFITISLQP<br>EDIATYYCQQWSSNPPTFGQGTKLQITR  |

10

## 【0102】

20

一部の実施形態では、MUC1\*に特異的に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションはFabを含み、CD3に特異的に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションはscFvを含む。

## 【0103】

一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖は、配列番号38または44に対して少なくとも75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、抗MUC1\*軽鎖は、配列番号41または47に対して少なくとも75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、scFvは、配列番号131または132に対して少なくとも75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

30

## 【0104】

一部の実施形態では、MUC1\*に特異的に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションはscFvを含み、CD3に特異的に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションはFabを含む。

## 【0105】

40

一部の実施形態では、抗CD3重鎖は、配列番号26、27、32、または33に対して少なくとも75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、抗CD3軽鎖は、配列番号29、30、35、または36に対して少なくとも75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、scFvは、配列番号129または130に対して少なくとも75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、9

50

7 %、98 %、99 %、または100 %の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0106】

一部の実施形態では、抗体は、配列番号1、2、3、4、5、6、13、14、15、16、17、または18のうちのいずれか1つから選択される抗MUC1\*結合ドメインの少なくとも3つのCDR、およびその0～2個のアミノ酸修飾（例えば、0～1個のアミノ酸修飾）と、配列番号7、8、9、10、11、12、19、20、21、22、23、または24のうちのいずれか1つから選択される抗CD3結合ドメインの少なくとも3つのCDR、およびその0～2個のアミノ酸修飾（例えば、0～1個のアミノ酸修飾）とを含む。

【0107】

一部の実施形態では、MUC1\*に特異的に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションはscFvを含み、CD3に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションはscFvを含む。

【0108】

一部の実施形態では、抗MUC1\*scFvは、配列番号129または130に対して少なくとも75 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または100 %の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、抗CD3scFvは、配列番号131または132に対して少なくとも75 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または100 %の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0109】

【表7-1】

表7：MUC1\*およびCD3に結合する抗体の例示的な配列

| コンストラクト                | 配列番号 | 配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------------|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 抗 CD3 12F6 scFV-Fc DNA | 49   | caagtgcagctggtgcagtcggaggaggcgctcgtgcagcctggaagaagcctcgg<br>ctgagctgcaaggccagcggctatacattcaccagctacaccatgcactgggtgcggc<br>aggccctggcgaaggcctggaatggatcggctacatcaaccttcagcggctacac<br>caagtacaaccagaaattcaaggaccgggtttaccattagcgcgcgataagagcaagagc<br>acagcctttctgcagatggacagcctgagaccagaggacaccggcgtgtactctgcgc<br>ccgctggcaggactacgacgtttatttcgactactggggccagggcaccctgtgacag<br>tgagcagcggcggcggaggctcggcggagggtggcagcggcggcggcggctctga<br>tatccagatgacacagagccccagctctctgtctgtctgtgtgggcgacagagtaccat<br>gacctgtagagcctcctcaagcgtgtcctacatgcactggtaccagcaaacacctggca<br>aggccccaaagccttgatctacgccaccttaatctggccagcggcgtgccttctgat<br>tcagcggcagcggatctggcaccgattacacctgacctcagcagcctgcagcccga<br>ggatctgccacatactactgccagcagtgaggctccaatcctcctaccttcggccagg<br>gcaccaagctgcagatcacaagagagcccaaatctgtgacaaaactcacatgcc<br>accgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagttctcttccccccaaaac<br>ccaaggacacctcatgatctccggaccctgagggtcacatgcgtggtggtggacgtg |

【0110】

10

20

30

40

50

【表 7 - 2】

|                              |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|------------------------------|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                              |    | agccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtagctggacggcgtggaggtgcata<br>atgccaaagacaagcccgaggagagcagtagacaacagcagctaccgtgtggtcagcg<br>tcctcaccgtcctgcaccagactggctgaatggcaaggagtacaagtgcagggtctcc<br>aacaagccctccagcccccacgcagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccc<br>cgagaaccacaggtgtacacccctgccccatcccggaggagatgaccaagaaccag<br>gtcagcctgacctgctgtcaaaggcttctatccagcgacatcgccgtggagtgga<br>gagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgtgactccga<br>cggctcttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggg<br>aacgtcttctcatgctcctgtagcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagc<br>ctctccctgtctccggtaaa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 抗CD3 12F6 scFV-Fc<br>アミノ酸    | 50 | QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTSYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISADKSK<br>STAFLQMDSLRPEDTGVYFCARWQDYDVFYDWGQG<br>TPVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASV<br>DRVTMTCRASSSVSYMHVYQQTGKAPKPKWIYATSNL<br>ASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDATYYCQQWSS<br>NPPTFGQGTGLQITREPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV<br>FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY<br>VDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN<br>GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS<br>REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK<br>TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVME<br>ALHNHYTQKSLSLSPGK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 抗 CD3 OKT3 scFV<br>Fc<br>DNA | 51 | caggtgcaactggtagcagtcggcgaggcgtgtagcagcctggcggagcctgaga<br>ctgagctgcaagcctcggctacacctttacaagatacactatgcactgggtcagaca<br>ggcccttgcaagggcctggaatggattggtacatcaaccctagccgggataacc<br>aactacaaccagaagtgaaggacagattcaccatcagcacagataagtccaagtcca<br>ccgcttctcctgcagatggactccctgctccagaggacacagctgtgtactactgcgcc<br>ggtactacgacgaccactactgtctgactactggggacaggggaaccacctgaccgt<br>cagctctggcggcgaggctcggcgagggtggcagcggcgggcggtctgtgata<br>tcagatgaccagagcccttctcttctatctccagcgtggcgatagagtgaccatca<br>catgagcggcagctcttctgttagctacatgaactggtagcagcaaacacctggaag<br>gcccctaaaagatggtatctacgacaccagcaagctggcctctggcgtgccccttagatt<br>cagcggctctggtcggcaccgactacacctttacaattagctccctgcagcccgagg<br>atatcgccactactactgccagcagtgaggcagcaacccttcacattcgccagggc<br>acaaagctgcaaatcaccagagagcccaatctgtgacaaaactcacacatgccacc<br>gtgccagcacctgaactcctgggggaccgtcagcttctcttcccccaaaaccca<br>aggacacctcatgatctccggaccctgagggtcacatgcgtggtggtagcgtgag<br>ccacgaagaccctgaggtcaagtcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataat<br>gccaagacaaagccgggagggagcagtagacaacagcagctaccgtgtggtcagcgtc<br>ctcaccgtcctgcaccagactggctgaatggcaaggagtacaagtcaagggtctcca<br>acaaagccctccagcccccacgcagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcccc<br>gagaaccacaggtgtacacccctgccccatcccggaggagatgaccaagaaccagg<br>tcagcctgacctgctgtcaaaggcttctatccagcgacatcgccgtggagtgggag<br>agcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgctcccgtgctggactccgac<br>ggctcttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggga<br>acgtcttctcatgctcctgtagcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcc<br>tctccctgtctccggtaaa |
| 抗CD3 OKT3 scFV<br>Fc<br>アミノ酸 | 52 | QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISTDKS<br>KSTAFLQMDSLRPEDTAVYYCARYYDDHYCLDYWGQ<br>GTTLTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASV<br>GDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTGKAPKRWIYDTSKL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

10

20

30

40

【 0 1 1 1 】

【表 7 - 3】

|                                           |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-------------------------------------------|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                           |    | ASGVPSRFSGSGSGTDYFTFTISSLPEDIATYYCQQWSSN<br>PFTFGQGTKLQITREPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF<br>LFPPKPKDMLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV<br>DGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG<br>KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR<br>EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT<br>TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEA<br>LHNHYTQKSLSLSPGK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| OKT3 scFV-Fc L1<br>hMN20A10N scFV<br>DNA  | 53 | cagggtcgaactgggtgcagtcggcgaggcggtgcagcctggccggagcctgaga<br>ctgagctgcaaggcctccggctacacctttacaagatacactgcaactgggtcagaca<br>ggcccttgcaaggcctgggaatggattggctacatcaaccctagccgggatatacc<br>aactacaaccagaagtgaaggacagattcaccatcagcacagataagtcgaagtcga<br>ccgcttctgcagatggactccctgcgtccagaggacacagctgtgtactactgcgcc<br>gggtactacgacgacctactgtctggactactggggacaggggaaccacctgacctg<br>cagctctggcgagggtccggcgagggtggcagcgccggcgccggtctgata<br>tcagatgaccagagcccttctcttatctgccagcgtggcgcatagagtgacctca<br>catgcagcgccagctctctgttagctacatgaactgggtaccagcaaacctggaag<br>ggccctaaaagatggatctacgacaccagcaagctggcctctggcggtccctctagatt<br>cagcggtctgtggtccggcaccgactacacctttacaattagctccctgcagccggagg<br>atatcgccacctactactgccaagcagtgaggcagcaacccttcacattcgccagggc<br>acaaagctgcaaatcaccagagagcccaatctgtgacaaaactcacatgccacc<br>gtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagttctcttccccccaaaacca<br>aggacacctcatgatctccggacctgagggtcacatgcgtggtgggtgagctgag<br>ccacgaagacctgaggtcaagtcaactgtgacgtggcgccgtggaggtgcataat<br>gccaagacaaagccggcgaggagcagtcacacagcagctaccgtgtgtgagcgtc<br>ctcaccgtcctgcaccagagctggctgaatggcaaggagtacaagtgcgaaggtctcca<br>acaaagccctccagcccccacgcagaaaaccatctccaaagccaaaggcgagcccc<br>gagaaccacaggtgtacacctgccccatccggggaggagatgaccaagaaccagg<br>tcagcctgacctgctgcaaggcttctatccagcgacatcgccgtggagtgggag<br>agcaatggcgagccgggagaacactacaagaccagcctccctgctgctactccgac<br>ggctccttctctctacagcaagctaccgtggacaagagcaggtggcagcagggga<br>acgtctctctatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagacc<br>tctccctgtctccgggtaaaaggcggggtggcggttctgtgtgtgtggtctgtgggga<br>ggaaccggtcaggtgcagctggtgaatctggcgccgactgtgaagcctggcggtat<br>ctctgagactgagctgtgccgccagcggttcaccttagcacatagccatgagctgga<br>tcagacagggccctggcaaggcctgggaatgggtggcgctctattggcagagccggca<br>gcacctactacagcactctgtgaaggcgagattcaccatcagccgggacaacgccaa<br>gaacagcctgtacctgcagatgaactcctgagagccgaggacaccgccgtgtactatt<br>gtgccagaggacctctacaacgactacgacgagttcgctattggggccaggccac<br>actggtcacagttctagcgccggtggcggaagcgaggcggtggctccggtggcggg<br>aggcagcgaaattgtctgacacagagccccgccacactgtcactttccaggcgaaa<br>gagccacactgagctgcaagagcagccagagcgtgtgtactccagcaaccagaaga<br>actacctggcctggtatcagcagaagccggccaagctcctcggtgctgactattgg<br>gccagcacaagagagagcgccatccctgccagatttttggcagcggtcttggcaccg<br>attcaccctgaccataagcagcctggaacctgaggacttcgccgtgtattactgccacc<br>agtacctgagcagcctgaccttggcgaggcaccaggtggaaatcaagcggtgata<br>a |
| OKT3 scFV-Fc L1<br>hMN20A10N scFV<br>アミノ酸 | 54 | QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISTDKS<br>KSTAFQLQMDSLRPEDTAVYYCARYYDDHYCLDYWGQ<br>GTTLTIVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASV<br>GDRVITITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTSKL<br>ASGVPSRFSGSGSGTDYFTFTISSLPEDIATYYCQQWSSN<br>PFTFGQGTKLQITREPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

【 0 1 1 2 】

10

20

30

40

50

|                                       |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|---------------------------------------|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                       |    | <p>LFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVDVSDHEDPEVKFNWYV<br/>         DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG<br/>         KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR<br/>         EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT<br/>         TPPPLSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEA<br/>         LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSGGGTGVQLV<br/>         ESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWIRQAPGK<br/>         GLEWVASISGRAGSTYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ<br/>         MNSLRAREDYAVYYCARGPIYNDYDEFAYWQGGLTVTV<br/>         SSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLS<br/>         CKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQKPGQAPRLLIYWAST<br/>         RESGIPARFSGSGSGTDFTLTISISLEPEDFAVYYCHQYLS<br/>         SLTFTGGGTKVEIKR</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| OKT3 scFV-Fc L1<br>hMNC2 scFV<br>DNA  | 55 | <p>cagggtgcaactggtgcagtcggcgaggcggtggtgcagcctggccggagcctgaga<br/>         ctgagctgcaaggcctccgggtacacctttacaagatacactatgcactgggtcagaca<br/>         ggcccttgccaaggcctggaatggatggctacatcaacctagccggggatatacc<br/>         aactacaaccagaagatgaaggacagattcaccatcagacagataagtcacaagtca<br/>         ccgcttctcgtcagatggactccctgcgtccagaggacacagctgtgtactactgcgcc<br/>         ggtactacgacgaccactactgtctggactactggggacaggggaaccacctgaccgt<br/>         cagctctggcgggagggtccggcgagggtggcagcggcgggcgggcgtctgata<br/>         tcagatgaccagagcccttcttcttatctgccagcgtggggcagatagtgaccatca<br/>         catgcagcggcagctcttctgttagctacatgaactggtaccagcaaacacctggaaa<br/>         gcccttaaaagatggatctacgacaccagcaagctggcctctggcctgcctctagatt<br/>         cagcggctctggtccggcaccgactacacctttacaattagctccctgcagcccgagg<br/>         atatgccacctactactgccagcagtgaggcagcaaccccttcacattcgccagggc<br/>         acaaaagctgcaaatcaccagagagcccaaatctgtgacaaaaactcacatgccacc<br/>         gtggccagcacctgaactcctggggggaccgtcagttcttcttcccccaaaaccca<br/>         aggcacccctcatgatctcccgaccctgaggttcacatgcgtgggtggagcgttag<br/>         ccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataat<br/>         gccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtc<br/>         ctaccgtctcgtcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctcca<br/>         acaaaagccctcccagccccatcgagaaaaacatctcaaaagccaaagggcagcccc<br/>         gagaaccacaggtgtacaccttgcgccccatcccgaggaggagatgaccaagaacagg<br/>         tgaagctgacgtgcctgggtcaaaagccttctatccagcgacatcgccgtgagtgagg<br/>         agcaatggcgaccgggagaaactacaagaccacgcctccctgctggactccgac<br/>         ggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaaagcagcaggtggcagcagggga<br/>         acgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagacc<br/>         tctcctctgtctccgggtaaaaggcgggggtggcggttctggtggtggtggctctggagg<br/>         ggaaccgttgaggtgcagctggtggagtctgggggaggcctggtcaagcctggggg<br/>         gtccctgagactctctgtgcagcctctggattcaccttcagtggtgatgcatgactgg<br/>         gtccgccaggtctcagggaagggggtggagtgggtctcaaccattagtagtggcgga<br/>         cctacatatactacccgactcagtggaaggccgattcacatctccagagacaacgcc<br/>         aagaactcactgtatctgcaaatgaacgcctgagagccgaggacagggcgtgtatta<br/>         ctgtgcgagacttgggggggataattactacgaatacttcgatgtctggggcagaaggga<br/>         ccacgggtacccgtctctccggcggtggcgagctccggcgtggcggtatccggcggtg<br/>         gggatccgacatgtgtgctgaccagctctccagcctcttggcgtgtctccaggacaga<br/>         gggccacatcacctgcagagccagtaagagtgtcagtaccagcggatactctacatg<br/>         cactgggtatcagcagaaccaggacaacctctctaaactctgatttacctggatccaat<br/>         ctggagagcggggtcccagccaggttcagcggcagtggtgtgggaccgatttacc<br/>         tcacaattaatctgtggaagctaatactgacatacaattatctgcagcagataggga<br/>         gctgctcttcacattcgccggagggaacaggtggagatcaaacgaactgataa</p> |
| OKT3 scFV-Fc L1<br>hMNC2 scFV<br>アミノ酸 | 56 | <p>QVQLVQSGGGVVPQGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV<br/>         RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQVKLDRFTISTDKS<br/>         KSTAFLQMDSLRPEDTAVYYCARYYDDHYCLDYDWGQ<br/>         GTTLTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIOMTOSPSSLSASV</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

30

40

【表 7 - 5】

|                                          |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |          |
|------------------------------------------|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
|                                          |    | <p>GDRVITITCSASSSVSYMNWYQQTGPKAPKRWIYDTSKL<br/>         ASGVPSRFSGSGSGTDYFTFTISSLPEDIATYYCQWSSN<br/>         PFTFGQGTKLQITREPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVF<br/>         LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV<br/>         DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG<br/>         KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR<br/>         EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT<br/>         TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA<br/>         LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSGGGTGEVQLV<br/>         ESGGGLVKPGGSLRLSAAAGFTFSGYAMSWVRQAPG<br/>         KGLEWVSTISSGGTYIYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYL<br/>         QMNSLR AEDTAVYYCARLGGDNYEYFDVWGKGTTV<br/>         TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAVSPGQRA<br/>         TITCRASKSVSTSGYSYMHWYQKPGQPPKLLIYLASNL<br/>         ESGVPARFSGSGSGTDFTLTNPVEANDTANYYCQHSRE<br/>         LPFTFGGGTKVEIKRT**</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 10       |
| OKT3 scFV-Fc L2<br>hMN20A10N scFV<br>DNA | 57 | <p>cagggtgcaactggcgagtcgagtcggcgaggcggtgagcctggccgagcctgaga<br/>         ctgagctgcaaggcctccggctacacctttacaagatacactatgactgggtcagaca<br/>         ggccctggcgaaggcctggaatggattggctacatcaacctagccgggagataacc<br/>         aactacaaccagaaagtgaaggacagattcaccatcagcacagataagtccaagtcca<br/>         ccgctttctgcatgagtcctcctgctccagaggacacagctgtgtactactgcgccc<br/>         ggtactacgacgaccactactgtctggactactggggacagggaaccacctgacctg<br/>         cagctctggcgccggaggctccggcgagggtggcagcggcgccggcgctctgata<br/>         tccagatgaccagagcccttcttctatctgccagctggcgcatagagtaccatca<br/>         catgagcgccagctcttctgttagctacatgaactggtaccagcaaacacctgaaaag<br/>         gccctaaaagatggatctacacaccagcaagctggcctctggcgtgccctctagatt<br/>         cagcggtctgctcggcaccgactacacctttacaattagctcctcagcggcgagg<br/>         atatcgccactactactgccagcagtgaggcagcaacccttcacattcgccagggc<br/>         acaagctgcaaatcaccagagagcccaatctgtgacaaaactcacacatgccacc<br/>         gtgcccagcactgaactctggggggaccgtcagcttctcttcccccaaaacca<br/>         aggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgctggtggtggcagtgag<br/>         ccacgaagacctgaggtcaagtcaactggtacgtggcagcgctggaggtgcataat<br/>         gccaaagacaaagccgaggagcagtagacaacagcacgtaccgtgtgtcagctc<br/>         ctaccgtctgacaccagactggctgaatggcaaggagtacaagtcaagggtctcca<br/>         acaagccctccagcccccatcgagaaaacctctccaagccaaaggcagcccc<br/>         gagaaccacaggtgtacacctgcccccatccgggaggagatgaccaagaaccagg<br/>         tcagcctgacctgctgtgtaaaagcttctatccagcgacatcgccgtggagtgggag<br/>         agcaatgggcagccggagaaactacaagaccacgctccctgctggactccgac<br/>         ggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggga<br/>         acgtcttctcatgctccgtgatgatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcc<br/>         tctccctgtctccgggtaaaagcggcggggggagcgggtggtggcggtgacccggtc<br/>         aggtgacagtggtgaatctggcgccggaactgtgaagcctggcggtctctgagactg<br/>         agctgtgcccagcgggttcacctttagcacatagccatgagctggatcagacagggc<br/>         ccctggcaaaagcctggaatgggtggcgtctattggcagagccggcagcacctactac<br/>         agcgactctgtgaaggcagattcaccatcagccgggacaacccaagaacagcctgt<br/>         acctgagatgaactcctgagagccgaggacaccgccgtgtactattgtccagagg<br/>         acccatctacaacgactacgacgagtcgctattggggccagggcacactggtcacag<br/>         ttctagcggcggtggcggaagcggaggcgggtggctccgggtggcgaggcagcgaa<br/>         attgtgtgacacagagccccgccacactgtcactttctccagcgaaagagccacact<br/>         gagctgcaagagcagccagagcgtgctgtactccagcaaccagaagaactacctggc<br/>         ctggtatcagcagaagcccgccaagctcctcggtgctgatctattggccagcacaa<br/>         gagagagcggcatccctgccagatttctggcagcggctctggcaccgatttcacctg<br/>         accataagcagcctggaacctgaggactcggcgtgtattactgccaccagtacctgag<br/>         cagcctgaccttggcgaggcaccgaaggtggaatcaagcgggtgataa</p> | 20<br>40 |

【 0 1 1 4 】

【表 7 - 6】

|                                           |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-------------------------------------------|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| OKT3 scFV-Fc L2<br>hMN20A10N scFV<br>アミノ酸 | 58 | QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISTDKS<br>KSTAFLOMDSLRLPEDTAVYYCARYDDHYCLDYWGQ<br>GTTLTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASV<br>GDRVITITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWYDTSKL<br>ASGVPSRFSGSGSGTDYTFITISLQPEDATYYCQQWSSN<br>PFTFGQGTQLQITREPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVF<br>LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV<br>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG<br>KEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSR<br>EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT<br>TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA<br>LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGTQVQLVESGG<br>GLVKPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMSWIRQAPGKGLEW<br>VASIGRAGSTYYSDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSL<br>RAEDTAVYYCARGPIYNDYDEFAYWGQGTLLTVSSGG<br>GSGGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSS<br>QSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGI<br>PARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCHQYLSLTFG<br>GGTKVEIKR--                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| OKT3 scFV-Fc L2<br>hMNC2 scFV<br>DNA      | 59 | cagggtgcaactgggtgagtcgagtcggcgaggcggtgggtgagcctggcggagcctgaga<br>ctgagctgcaaggcctccggctacacctttacaagatacactatgactgggtcagaca<br>ggccctggcaaggcctgggaatggattggctacatcaacctagccgggagatagc<br>aactacaaccagaaagtgaaggacagattcaccatcagcacagataagtcgaagcca<br>ccgcttctcagatggactccctgcgtccagaggacacagctgtgtactactgcgccc<br>ggtactacgacgaccactactgtctggactactggggacaggggaaccacctgaccgt<br>cagctctggcgccggaggtccggcgagggtggcagcggcgccggcgccctgata<br>tcagatgaccagagcccttcttcttatctgccagcgtggcgatagagtgacctca<br>catgcagcgcagctcttctgttagctacatgaactgtaccagcaaacctggaaag<br>gcccctaaaagatggatctacgacaccagcaagctggccttggcgtgcccttagatt<br>cagcggctctggctccggcaccgactacacctttacaattagctccctgcagcccagg<br>atatcgccactactactgccagcagtgaggacgaaccccttcacattggccagggc<br>acaaagctgcaaatcaccagagagcccaatctgtgacaaaactcacatgcccacc<br>gtgccagcactgaactcctggggggaccgtcagttcttcttcccccaaaaccca<br>aggacaccctcatgatctccggaccctgaggtcacatgcgtggtgggtggagtgag<br>ccacgaagacctgaggtcaagttcaactgtacgtggagcggcgtggaggtgcataat<br>gccaaagacaaagccgcgggaggagcagtcacacagcagctaccgtgtgtgcagctc<br>ctaccgtcctgcaccagactggctgaatggcaaggagtacaagtgcgaaggtctcca<br>acaaagccctccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaaggcgagcccc<br>gagaaccacaggtgtacacctgcccccatccgggaggagatgaccaagaaccagg<br>tcagctgacctgctgtgcaaaagcttctatccagcgacatccctggagtgaggag<br>agcaatggcgagccggagaacaactacaagaccacgcctccctgctggactccgac<br>ggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggga<br>acgtcttctatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaactacacgcagaagagcc<br>tctcctgtctccgggtaaaggcgccggggggagcgggtggcggtgtagcaccgggtg<br>aggtgcagctgggtgaggtctgggggagggcctgggtcaagcctggggggtccctgagac<br>tctctgtgcagcctctggattcaccttcagtggtatgccatgagctgggtccgccaggc<br>tcagggaaggggctggagtggtctcaaccattagtagtggcggaacctacataact<br>accccgactcagtgaaggccgattcacatctccagagacaacccaagaactcaact<br>gtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggcgtgtattactgtgcgagac<br>ttgggggggataattactacgaatacttcgatgtctggggcaagggaaccaggtcacc<br>gtctctccggcggtggcgatccggcggtggcgatccggcggtggcgatccgac<br>attgtgtgacccagctcaccgctctgtggcgtgtctcaggacagaggccaccatc<br>acctcgagagccagtaaggtgtcagtagcagcggtactactacatgcactggtatca<br>gcagaaccaggacaacctcctaaactcctgatttacctggcatccaatctggagagcg<br>gggtcccgagcaggttcagcggcagtggtctgggaccgattcacctcacaattaat |

【 0 1 1 5 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 7】

|                                       |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|---------------------------------------|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                       |    | cctgtggaagctaatactgatactgcaaattattactgtcagcacagtagggagctgcctttca<br>cattcggcggaggaccgaaggtggagatcaaacgaacttgataa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| OKT3 scFV-Fc L2<br>hMNC2 scFV<br>アミノ酸 | 60 | QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISTDKS<br>KSTAFQLQMDSLRPEDTAVYYCARYYDDHYCLDYWGQ<br>GTTLTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASV<br>GDRVITITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTSKL<br>ASGVPSRFSGSGSGTDYFTFTISLQPEDATYYCQQWSSN<br>PFTFGQGTKLQITREPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF<br>LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV<br>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG<br>KEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSR<br>EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT<br>TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA<br>LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTGEVQLVESGGG<br>LVKPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEW<br>VSTISSGGTYIYYPDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSL<br>RAEDTAVYYCARLGGDNYEYFDVWGKGTITVTVSSG<br>GGGSGGGSGGGGSDIVLTQSPASLA VSPGQRATITCRA<br>SKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVP<br>ARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYCYQHSRELPTF<br>GGGTKVEIKRT**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| hMN20A10N scFV-Fc<br>L1 OKT3 scFV DNA | 61 | cagggtgcagctggtgaatctggcggcggactgtgaagcctggcggatctctgagact<br>gagctgtgccgccagcggtctcacatttagcacatagccatgagctggatcagacagg<br>cccttgcaaaaggcctggaatgggtggcgtctattggcagagccggcagcacctacta<br>cagcgactctgtgaaggcagattcaccatcagccgggacaacccaagaacagcct<br>gtacctgcagatgaactccctgagagccgaggacaccggctgtactattgtgccagag<br>gacccatctacaacgactacgacgagtgccctattggggccagggcacactggtcaca<br>gtttctagcggcgtggcggaaaggcggagcggctggctccggctggcggaggcagcga<br>aattgtgctgacacagagccccgccactgtcactttctccaggcgaaagagccacac<br>tgagctgcaagagcagccagagcgtgctgtactccagcaaccagaagaactacgtgc<br>ctggtatcagcagaagccggcgaagctcctcggctgctgtatctattggccagcaca<br>gagagagcggcatccctgccagatttctggcagcggctctggcaccgatttcacctg<br>accataagcagcctggaacctgaggacttcgccgtgtattactgccaccagtacctgag<br>cagcctgaccttggcggagcaccgaaggtggaatcaagcgggagcccaaatctgt<br>gacaaaactcacacatgccaccgtgccagcaactgaactctggggggaccgtcag<br>tcttctcttcccccaaaacccaaggacacctcatgatctcccggacccctgaggtca<br>catgcgtggtggtgagcgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtagctg<br>gacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccggggaggagcagtaaacag<br>cacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaagg<br>agtacaagtgaaggtctccaacaagccctccagccccatcgagaaaaccatctcc<br>aaagccaaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatccggga<br>ggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagc<br>gacatcgccgtggagtgaggagcaatggcagccggagaaactacaagaccac<br>gcctcccgtgctggactccgacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaa<br>gagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctcctgtagcatgaggtctgcaca<br>accactacacgcagaagagcctctcctgtctccgggtaaggcgggggtggcgggttc<br>tgggtggtggtgctctggaggaggaaccgggtcaggtgcaactggtgcagtcggcgg<br>aggcgtggtgagcctggcggagcctgagactgagctgcaaggcctccggctacac<br>ctttacaagataactatgactgggtcagacagggccctggcaaggcctggaatgga<br>ttggtcatcatcaaccctgacggggatatacaactacaaccagaagtgaaggacag<br>attcaccatcagcacagataagtcgaagtcaccgcttctctgcatggactccctgcgt<br>ccagaggacacagctgtgtactactgcggcggtactacgacgaccactactgtctgga<br>ctactggggacagggaaccacctgacctcagctctggcggcggaggtccggcgg |

【 0 1 1 6 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 8】

|                                            |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|--------------------------------------------|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                            |    | aggtggcagcggcggcggcggcgtctgatatccagatgaccagagccctcttcttat<br>ctgccagcgtggcgatagagtaccatcacatgcagcggcagctctctgttagctaca<br>tgaactggtagcagcaaacacgtgaaaggccctaaagatggtatcagacaccag<br>caagctggcctctggcgtgccctctagattcagcggcctctggcctccggcaccgactaca<br>cctttacaattagctccctgcagcccaggatcgcacactactactgccagcagtgga<br>gcagcaacccttcacattcggccaggcacaagctgcaatcaccagatgataa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| hMN20A10N scFV-Fc<br>L1 OKT3 scFV アミノ<br>酸 | 62 | QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWIR<br>QAPGKGLEWVASIGRAGSTYYSDSVKGRFTISRDNANK<br>SLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGPIYNDYDEFAYWGQG<br>TLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGE<br>RATLSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQAPRLLIY<br>WASTRESGIPARFSGSGSGTDFLTITSLPEPDAVYYCH<br>QYLSSLTFGGGKVEIKREPKSCDKTHTCPPCPAPPELLG<br>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF<br>NWDYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ<br>DWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY<br>TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE<br>NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS<br>VMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGTGT<br>QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVDRFTISTDKS<br>KSTAFQLQMDSLRPEDTAVYYCARYYDDHYCLDYWGQ<br>GTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASV<br>GDRVITITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTSKL<br>ASGVPSRFSGSGSGTDYTFITISLQPEDATYYCQQWSSN<br>PFTFGQGTKLQITR—                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| hMNC2 scFV-Fc L1<br>OKT3 scFV<br>DNA       | 63 | gaggtgcagctggtgagctctggggaggcctggtaagcctggggggtccctgaga<br>ctctcctgtgcagcctctggattcacctcagtggtctatgccatgagctgggtccgccagg<br>ctccagggaaggggctggtgagtggtctcaaccattagtagtgccggaacctacatatac<br>taccctgactcagtagaaggccgattcacctcagagacaacgccaagaactcact<br>gtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggcctgtattactgtgcgagac<br>ttgggggggataattactacgaatacttcgatgtctggggcaagggaccacgggtcacc<br>gtctctccggcgggtggcggatccggcgggtggcggatccggcgggtggcggatccgac<br>attgtctgaccagctctccagcctcctggcctgtgtctcagagacagaggccaccatc<br>acctgcagagccagtaagagtgatcagtagcagcggatactctcatatgcactggtatca<br>gcagaaccaggacaacctcctaaactcctgatttacctggcatccaatctggagagcg<br>gggtcccagccaggttcagcggcagtggtgtctgggaccgatttcacctcacaattaat<br>cctgtggaagctaatactgatactgcaaatattactgtcagcacagtagggagctgccttca<br>cattcggcggagggaaccaaggtggagatcaaacgaactgagcccaaatctgtgacaa<br>aactcacacatgccaccgtgccagcactgaactcctgggggaccctgagctcttcc<br>tcttcccccaaaacaaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcactatgc<br>gtgtgtgtgacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacg<br>gcgtggaggtgcataatgccaagacaagccgcgggagagcagtagacaacagcagc<br>taccgtgtgtgacgtcctcaccgtctcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc<br>caagtgcaaggtctcaacaagccctccagccccatcgagaaaacctctccaaa<br>gccaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatccgggagga<br>gatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaagccttctatccagcgaca<br>tcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagacaactacaagaccacgcctc<br>ccgtgctgactccgacggctcttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagc<br>aggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaacca<br>ctacacgcagaagagcctctcctgtctccgggtaaaggcgggggtggcgggtctgtgt<br>ggtggtggtctggaggaggaaccggcaggtgcaactggtgcagtcggcggcggaggc<br>gtggtgcagcctggcggagcctgagactgagctgcaaggcctccggctacaccttta<br>caagatacactatgcactgggtcagacagggccctggcaaggcctggaatggattgg |

10

20

30

40

【 0 1 1 7 】

【表 7 - 9】

|                                          |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|------------------------------------------|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                          |    | ctacatcaaccctagccgggatataccaactacaaccagaaagtgaaggacagattca<br>ccatcagcacagataagtccaagtcaccgctttctcgcagatggactccctcgcgccag<br>aggacacagctgtgtactactgcgccggtactacgacgaccactactgtctggactact<br>ggggacaggggaaccacctgaccgtcagctctggcggcgaggctccggcgagggt<br>ggcagcggcgggcgccgtctgataccagatgaccagagcccttctcctatctgc<br>cagcgtggcgatagagtaccatcacatgcagcgccagctcttctgttagctacatgaa<br>ctggtaccagcaaacacctggaaaggccctaaaagatggatctacgacaccagcaag<br>ctggcctctggcgtgccctctgattcagcggtctggctccggcaccgactacaccttt<br>acaattagctccctgcagcccgaggatctgccacctactactgccagcagtgaggcag<br>caaccccttcacattcggccagggcacaaagctgcaaatcaccagatgataa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| hMNC2 scFV-Fc L1<br>OKT3 scFV<br>アミノ酸    | 64 | EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVR<br>QAPGKGLEWVSTISSGGTYIYYPDSVKGRFTISRDNAK<br>SLYLQMNSLR AEDTAVYYCARLGGDNYYEYFDVWGK<br>GTTVTVSSGGGSGGGGSGGGSDIVLTQSPASLAVSP<br>GQRATITCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIY<br>LASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYC<br>QHSRELPTFGGGTKVEIKRTEPKSCDKTHTCPPCPAPEL<br>LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV<br>KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH<br>QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQV<br>YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ<br>PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS<br>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSGGG<br>TGQVQLVQSGGTVQPRSLRLSCKASGYTFTRYTMH<br>WVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISTD<br>KSKSTAFLQMDSLRPEDTAVYYCARYYDDHYCLDYWG<br>QGTTLTVSSGGGSGGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSAS<br>VGDRVITITCSASSSVSYMNWYQTPGKAPKRWIYDTSK<br>LASGVPSRFSGSGSGTDYFTFTISLQPEDATYYCQQWSS<br>NPFTFGQGTKLQITR**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| hMN20A10N scFv-Fc<br>L2 OKT3 scFv<br>DNA | 65 | cagggtgcagctggtgaatctggcggcgacttgaagcctggcgatctctgagact<br>gagctgtgccgccagcggttcaccttagcacatacgccatgagctggatcagacagg<br>cccctggcaaggcctggaatgggtggcgtctattggcagagccggcagcacctacta<br>cagcgactctgtgaaggcgagattcacatcagccgggacaacgcaagaacagacct<br>gtacctgcagatgaactccctgagagccgaggacaccgctgtactattgtccagag<br>gacctatcaaacgactacgacgagttcgctattggggccagggcacactggtcaca<br>gtttctagcggcggtggcggaagcggaggcgggtggctccgggtggcgaggcagcga<br>aattgtgtgacacagagccccgccacactgtcaatttctccaggcgaaagagccacac<br>tgagctgcaagagcagccagagcgtgtgtactccagcaaccagaagaactacctggc<br>ctggtatcagcagaagcccgccaagctcctcggtgctgatctattggcgccagcaca<br>gagagagcggcatccctgccagatttctggcagcggtctgtggcaccgatttcacctg<br>accataagcagcctggaacctgaggacttcgctgtattactgccaccagtagctgag<br>cagcctgacctttggcggaggcaccaggtggaatcaagcgggagcccaaatctgt<br>gacaaaactcacatgcccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcag<br>tcttctcttcccccaaaacccaaggacacctcatgatctccggacccctgaggtca<br>catgctggtgtgtggagctgagccacgaagacctgagggtcaagttcaactggtacgtg<br>gacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccggggaggagcagtagtaaacag<br>cacgtacctgtgtgtcagcgtctcaccgtcctgaccagagactggctgaatggcaagg<br>agtacaagtgcagggtcacaacaagccctccagcccccatcgagaaaacctatcc<br>aaagccaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatccggga<br>ggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctgcaaggtcttatcccgagc<br>gacatcgccgtggagtgaggagcaatggcgagccggagaacaactacaagaccac<br>gctcccggtgtggactccgacggctccttctcctctacagcaagctcaccgtggacaa<br>gagcaggtggcagcagggaacgtcttctcatgctcctgatgcatgaggtctgcaca |

10

20

30

40

【 0 1 1 8 】

【表 7 - 10】

|                                           |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-------------------------------------------|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                           |    | accactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaggcggcggggggagcg<br>gtggtggcggtagcaccgggtcaggtgcaactggtgagtcggcgaggcggtggtgc<br>agcctggcgaggcctgagactgagctgcaaggcctccggctacacctttacaagata<br>cactatgcactgggtcagacaggccctggcaaggcctggaatggattggctacatca<br>accctagccggggatataccaactacaaccagaaagtgaaggacagattcaccatcag<br>cacagataagtcgaagtcaccgctttctgcagatggactccctgcgtccagaggaca<br>cagctgtgtactactgcggcggtactacgacgaccactactgtctggactactgggac<br>agggaaccacccctgaccgtcagctctggcggggaggtctccggcgagggtggcagc<br>ggcgcgggcggtctgatatccagatgaccagagcccttctcttactgtccagcgtg<br>ggcgatagagtaccatcacatgcagcggcagctcttctgttagctacatgaactggtac<br>cagcaaacacctggaaaggccctaaaagatggatctacgacaccagcaagctggcct<br>ctggcgtgccctctagattcagcggctctggctccggcaccgactacacctttacaattag<br>ctccctgcagcccgaggatctgcacactactactgccagcagtgagcagcaacccc<br>ttcattcggccagggcacaaagctgcaaatcaccagatgataa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| hMN20A10N scFv-Fc<br>L2 OKT3 scFv<br>アミノ酸 | 66 | QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWIR<br>QAPGKGLEWVASIGRAGSTYYSDSVKGRFTISRDNANKN<br>SLYLQMNLSRAEDTAVYYCARGPIYNDYDEFAYWGQG<br>TLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGE<br>RATLSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQAPRLLIY<br>WASTRESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCH<br>QYLSLTFGGGKVEIKREPKSCDKTHTCPPCPAPELLG<br>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF<br>NWIYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ<br>DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVY<br>TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE<br>NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS<br>VMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGTGQVQL<br>VQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWVRQAP<br>GKLEWIGYINPSRGYTNYNQVKDRFTISTDKSKSTAF<br>LQMSLRLPEDTAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTLLT<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI<br>TCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTSKLASGVPS<br>RFSGSGSGTDYTFITISLQPEDATYYCQQWSSNPFTFGQ<br>GTKLQITR--                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| hMNC2 scFv-Fc L2<br>OKT3 scFv DNA         | 67 | gaggtgcagctggtggagctggggggaggcctggtaagcctgggggggtccctgaga<br>ctctcctgtgcagcctctggattcaccttcagtggtatgcatgagctgggtccgccagg<br>ctccagggaagggtggtggtggtctcaaccattagtagtggtgggaacctacatatac<br>taccggactcagtgaggggcggattcacctctccagagacaacgcaagaactcaet<br>gtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggcctgtattactgtgcgagac<br>ttgggggggataattactacgaatacttcgatgtctggggcaaggggaccacggtcacc<br>gtctctccggcggtggcggtatccggcggtggcggtatccggcggtggcggtatccgac<br>attgtgctgacctcagctcagcctctgtggcgtgtctccaggacagaggccaccatc<br>acctgcagagccagtaagagtgtcagtagcagcgggatactcctacatgcactggtatca<br>gcagaaaccaggacaacctcctaactcctgatttacctggcatccaatctggagagcg<br>gggtcccgccaggttcagcggcagtggtgtgggaccgatttaccctcacaataat<br>cctgtggaagctaatgatactgcaaatattactgtcagcacagtagggagctgcctttca<br>cattcgcgaggaggaccaaggtgggatcaaacgaactgagcccaaatctgtgacaa<br>aactcacatgccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagctctcc<br>tctcccccaaaacecaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgc<br>gtggtggtggagctgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactgtacgtggacg<br>gcgtggaggtgcataatccaagacaaagccggggaggagcagtagacaacagcagc<br>taccgtgtggtcagctcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagta<br>caagtgcagggtctccaacaaagccctccagcccccacgagaaaacctctccaaa<br>gccaaaggcgagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatccgggagga |

【0119】

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 1】

|                                       |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|---------------------------------------|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                       |    | gatgaccaagaaccagggtcagcctgacctgctggtcaaggcttctatcccagcgaca<br>tcgccgtggagtgaggagcaatggcgagccggagaacaactacaagaccagccctc<br>ccgtgctggactccgacggctccttctctctacagcaagtcaccctgggacaagagc<br>agggtggcagcaggggagcgtcttctcatgctccgtgatgcagaggtctgcacaacca<br>ctacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaaggcggcggggggagcgggtgg<br>tggcggtagcaccggctcaggtgcaactggtgcagtcggcgaggcgtggtgcagcc<br>tggccggagcctgagactgagctgcaaggcctccggctacacctttacaagatacacta<br>tgactgggtcagacagcccttgcaaggcctggaatggattggctacatcaacctt<br>agccggggatataccaactacaaccagaaagtgaaggacagattcaccatcagcacag<br>ataagtccaagtccaccgcttctctgcatggactccctgctccagaggacacagct<br>gtgtactactgcggcggtactacgacgaccactactgtctggactactggggacaggg<br>aaccaccctgaccgtcagctctggcgcgaggctccggcgagggtggcagcgcg<br>cgggcggtctgataccagatgaccagagcccttcttcttactgcccagctggcg<br>atagagtaccatcacatgcagcgccagctcttctgttagctacatgaactggtaccagc<br>aaacacctggaaaggccctaaaagatggatctacgacaccagcaagctggcctctgg<br>cgtgcccctgattcagcggtctggtcggcaccgactacacctttacaattagctcc<br>ctgcagcccaggatgacccactactgcccagcagtgaggcagcaacccttca<br>cattcgccagggcacaaagctgcaaatcaccagatgataa |
| hMNC2 scFv-Fc L2<br>OKT3 scFv<br>アミノ酸 | 68 | EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVR<br>QAPGKGLEWVSTISSGGTYIYPDSVKGRFTISRDNKN<br>SLYLQMNSLR AEDTAVYYCARLGGDNYEYFDVWGK<br>GTTTVVSSGGGSGGGGSGGGSDIVLTQSPASLAVSP<br>GQRATITCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIY<br>LASNLESGVVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYC<br>QHSRELPTFTGGGKVEIKRTEPKSCDKTHTCPPCPAPEL<br>LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV<br>KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH<br>QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV<br>YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ<br>PENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS<br>CSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGKGGGSGGGSGTQGV<br>QLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWVRQ<br>APGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISTDKSKST<br>AFLQMDSLRLPEDTAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGT<br>LTVSSGGGSGGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD<br>VTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTSKLASG<br>VPSRFSGSGSGTDYFTFTISLQPEDATYYCQWSSNPFT<br>FGQGTKLQITR**                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| hMN20A10N scFv-Fc<br>L1 12F6 scFv DNA | 69 | cagggtcagctggtgaatctggcgcgactgtgaagcctggcggtatctgagact<br>gagctgtgccgccagcggttccactttagcacatacgcctatgagctggatcagacagg<br>cccctggcaaggcctggaatgggtggcgtctattggcagagccggcagcactacta<br>cagcgactctgtgaaggcgagattcaccatcagccgggacaacccaagaacagcct<br>gtacctgcagatgaactccctgagagccgaggacaccggctgtactattgtgccagag<br>gacccatctacaacgactacgacgagttcgctattggggccaggccacactggtcaca<br>gtttctagcggcggtggcggaagcgaggcggtggctccgtggcgaggcagcga<br>aattgtgctgacacagagccccgccacactgtcactttccaggcgaaagagccacac<br>tgagctgcaagagcagccagagcgtgctgtactccagcaaccagaagaactacctggc<br>ctggatcagcagaagcccggccaagctcctcggctgctgactattgggccagcaca<br>gagagagcggcaccctgccagattttctgcagcggctctggcaccgatttaccctg<br>accataagcagcctggaacctgaggacttcgccgtgtattactgccaccagtacctgag<br>cagcctgacctttggcgaggcaccgaaggtggaatcaagcgggagcccaattctgt<br>gacaaaactcacacatgccaccgtgcccagcacctgaactctggggggaccgtcag<br>tcttctcttccccaaaacccaaggacacctcatgatctccggacccctgagggtca<br>catgctggtggtggacgtgagccacgaagacctgaggtcaagtcaactggtacgtg                                                                                                         |

【 0 1 2 0 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 2】

|                                           |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |          |
|-------------------------------------------|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
|                                           |    | <p>gacggcgtggagggtcataatccaagacaaagccgaggaggagcagtacaacag<br/> cactgaccgtgtggcagcgtcctaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaagg<br/> agtacaagtccaaggtctccaacaaagccctccagccccatcgagaaaacctctcc<br/> aaagccaaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatccggga<br/> ggagatgaccaagaaccagggtcagcctgacctgctgtcaaggcttctatccagc<br/> gacatcgccgtggagtgggagagcaatggcagccggagaacaactacaagaccac<br/> gcctcccgctgctggactccgacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggaca<br/> gagcaggtggcagcaggggaacgtcttctctatgctccgtgatgatgagcctgcaca<br/> accactacacgcagaagagcctctcctgtctcgggtaaggcgggggtggcggttc<br/> tggtgtgtgtgtcttgaggagggaaccgggtcaagtgcagctggtgcagtccggagg<br/> aggcgtgtgtcagcctggaagaagcctccggctgagctgcaaggccagcggtatatac<br/> attcaccagctacacatgactgggtgcggcagggccctggcaaggcctggaatgg<br/> atcggtctacatcaaccttccagcggctacaccaagtacaaccagaattcaaggaccg<br/> gtttaccattagcggcgaagaagcagcagccttctgcatgagacagcctga<br/> gaccagaggacaccggcgtgtacttctgcggcgtggcagggactacgactttatttc<br/> gactactggggcagggcaccctgtgacagtgcagcggcgccggaggctccgg<br/> cggagggtggcagcggcgccggcgtctgatatcagatgacacagagcccgactc<br/> tctgtctgtctgtggcgacagagtaccatgacctgtagagcctcctcaagcgtgtcc<br/> tacatgactggtaccagcaaacacctggcaaggccccaaagccttgatctacgccac<br/> ctctaactggccagcggcgtgctctctgattcagcggcagcgatctggcaccgatta<br/> caccctgacctacagcgtgcagccgaggtatcggcacatactactgcccagcagt<br/> ggagctcaatctctactcttggccagggcaccaagctgcagatcacaagatgataa</p> | 10       |
| hMN20A10N scFv-Fc<br>L1 12F6 scFv<br>アミノ酸 | 70 | <p>QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWIR<br/> QAPGKGLEWVASIGRAGSTYYSDSVKGRFTISRDNAKN<br/> SLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGPIYNDYDEFAYWGQ<br/> TLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGE<br/> RATLSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQAPRLLIY<br/> WASTRESGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCH<br/> QYLSSTLFGGGTKVEIKREPKSCDKTHTCPPCPAPPELLG<br/> GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF<br/> NWDYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ<br/> DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY<br/> TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE<br/> NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS<br/> VMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSGGGGTG<br/> QVQLVQSGGQVVPGRSLRLSKASGYTFTSYTMHWV<br/> RQAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISADKSK<br/> STAFLQMDSLRPEDTGVYFCARWQDYDVFYFDYWGQ<br/> TPVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVG<br/> DRVTMTCRASSSVSYMHWYQQTPGKAPKPIWIATSNL<br/> ASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDATYYCQQWSS<br/> NPPTFGQGTKLQITR—</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 20<br>30 |
| hMNC2 scFv-Fc L1<br>12F6 scFv<br>DNA      | 71 | <p>gagggtcagctggtggagtctgggggaggcctggtcaagcctggggggtccctgaga<br/> ctctcctgtgcagcctctggattcaccctcagtggtatgccatgagctgggtccgcagg<br/> ctccagggaagggtggtggtgtcaccattagtagtggtgggaacctacatatac<br/> taccggactcagtggaagggtggtcaccatctccagagacaacgccaagaactcact<br/> gtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggcctgtattactgtgcgagac<br/> tfggggggataattactacgaatacttcgatgtctggggcaagggaaccaggtcacc<br/> gtctcctccgggtggcggtatccggcgggtggcggtatccggcgggtggcggtatccgac<br/> attgtgctgaccagctcagcctccttggcgtgtctcaggacagaggccaccatc<br/> acctgcagagccagtaagagtgtcagtgaccagcgatactcctacatgcactggtatca<br/> gcagaaccaggacaacctcctaactcctgatttacctggcatccaatctggagagcg<br/> gggtcccagccaggttcagcggcagtggtgtgggaccgatttcacctcacaattaat<br/> cctgtggaagctaatactgcaaatattactgtcagcacagtagggagctgccttca</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 40       |

【 0 1 2 1 】

【表 7 - 1 3】

|                                       |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|---------------------------------------|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                       |    | cattcgcggaggacgaaggtggagatcaaacgaactgagcccaaatcttgtgacaa<br>aactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcctgggggaccgtcagcttcc<br>tctcccccaaaacccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgc<br>gtggtgggtgacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtagctgacg<br>gcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccggggaggagcagtacaacagcacg<br>taccgtgtgtgtagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagta<br>caagtgcagggtctccaacaaagccctccagccccatcgagaaaacctctccaaa<br>gccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatccccggaggga<br>gatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctgggtcaagggcttctatccccagcaca<br>tcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccgggagacaactacaagaccacgctc<br>ccgtgctggactccgacggctcttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagc<br>aggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctcctgtagtcatgaggtctgcacaacca<br>ctacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaaggcgggggtggcgttctggt<br>ggtggtggtctggaggaggaaccgggtcaagtgagctgggtcagtcgggagagggc<br>gtcgtgagcctggaagaagcctccgctgagctgcaaggccagcggctatacttca<br>ccagctacacctgactgggtgcggcagggccctggcaaggcctggaatggatcg<br>gtactacacaccttcagcgggtacaccaagtacaaccagaaattcaaggaccgggtta<br>ccattagcgcgataagagcaagagcacagccttctgtagatggacagcctgagacc<br>agaggacaccggcgtgtacttctgccccgctggcaggactacgactgttatttcgacta<br>ctggggccagggcaccctgtgacagtgagcagcggcggcggagggtccggcgga<br>gggtggcagcggcgccggcggcgtctgatccagatgacacagagccccagctctgt<br>ctgcttctgtggcgacagagtgacctgacgttagagcctcctcaagcgtgctctaca<br>tgactgtgtagcagaaacacctggcaaggccccaaagcctggatctacgccacctct<br>aatctggccagcggcgtgcttctagattcagcggcagcggatctggcaccgattacac<br>cctgacctcagcagcctgcagcccaggagatcgccacatactactgccagcagtg<br>agctccaatctctactcttggccagggcaccaagctgcagatcacaaatgataa |
| hMNC2 scFv-Fc L1<br>12F6 scFv<br>アミノ酸 | 72 | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVR<br>QAPGKGLEWVSTISSGGTYIYYPDSVKGRFTISRDNAKN<br>SLYLQMNSLR AEDTAVYYCARLGDDNYEYFDVWGK<br>GTTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAVSP<br>GQRATITCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPLLIY<br>LASNLESVGPARGSGSGSDFTLTINPVEANDTANYYC<br>QHSRELPTFGGGTKVEIKRTEPKSCDKTHTCPPCPAPEL<br>LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV<br>KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH<br>QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQV<br>YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ<br>PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS<br>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGG<br>TGQVQLVQSGGQVVPGRSLRLSCKASGYTFTSYTMH<br>WVRQAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISAD<br>KSKSTAFLLQMDSLRPEDTGVYFCARWQDYDYFDYW<br>GQGTPTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA<br>SVGDRVTMTCRASSSVSYMHWYQQTPGKAPKPWIYAT<br>SNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDATYYCQQ<br>WSSNPPTFGQGTKLQITR**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| hMN20A10N scFv-Fc<br>L2 12F6 scFv DNA | 73 | caggtgcagctggtgaatctggcggcggactgtgaagcctggcgatctctgagact<br>gagctgtgccgccagcggcttcacctttagcacatacgccatgagctggatcagacagg<br>ccctggcaaggcctggaatgggtggcgtctattggcagagccggcagcacctacta<br>cagcagctctgtgaagggcagattcaccatcagccgggacacccaagaacagcct<br>gtacctgcagatgaactccctgagagccgaggacaccggcgtgtactattgtgccagag<br>gaccatctacaacgactacgacgagttcgcctattggggccagggcacactggtcaca<br>gtttctagcggcgggtggcggaagcggaggcgggtggctccgggtggcgaggcagcga<br>aattgtgctgacacagagccccgccacactgtcacttctccagggcgaagaggccacac                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

【 0 1 2 2 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 4】

|                                            |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |    |
|--------------------------------------------|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
|                                            |    | <p>tgagctgcaagagcagccagagcgtgctgactccagcaaccagaagaactacctggc<br/>ctggtatcagcagaagcccgccaagctcctcggtgctgactattggccagcacaa<br/>gagagagcggcatccctgccagattttctggcagcggctctggcaccgatttcacctg<br/>accataagcagcctggaacctgaggacttcgccgtgtattactgccaccgtacctgag<br/>cagcctgacctttggcggaggcaccaaggtggaaatcaagcgggagcccaaatcttgt<br/>gacaaaactcacacatgccaccgtgccagcactgaactcctggggggaccgtcag<br/>tcttcttctcccccaaaaccaaaggacacctcatgatctccggacccttgagggtca<br/>catgcgtggtggagcgtgagccacgaagacctgagggtcaagttcaactggtacgtg<br/>gacggcgtggaggtgcataatccaagacaaagccgaggagagcagtagacaacag<br/>cacgtaccgtgtggtcagcgtcctaccgtcctgaccaggactggctgaatggcaagg<br/>agtacaagtgcaaggtctccaacaaagcctccagccccatcgagaaaacctctcc<br/>aaagccaaaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatccccggga<br/>ggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaaaggcttctatccagc<br/>gacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagcgggagaaactacaagaccac<br/>gcctcccgctgctggactccgacggctccttctctctacagcaagctaccgtggacaa<br/>gagcaggtggcagcaggggaacgttctctcatgctcctggtgatgcatgaggtctgcaca<br/>accactacacgcagaagagcctctcctgtctccgggtaagggcggggggagcg<br/>gtggtggcggtagcaccgggtcaagtgcagctggtgcagtcggaggaggcgtgctg<br/>agcctggaagaagcctccggctgagctgcaaggccagcggctatactaccagcta<br/>caccatgcactgggtgctggcagggccctggcaaaagcctgggaatggatcggtacatc<br/>aaccttccagcgggtacaccaagtagaaccagaattcaaggaccggtttaccattage<br/>gccgataagagcaagagcacagccttctgcagatggacagcctgagaccagaggac<br/>accggcgtgtactctgcgcccgctggcaggaactacgacgtttatttcgactactggggc<br/>cagggcaccctgtgacagtgcagcggcggcggaggtcggcgagggtggca<br/>ggcgggcgggcggtctgatatccagatgacacagagccccagctctctgtctgcttct<br/>gtggcgacagagtgacctgacctgtagacctctcaagcgtgtctctacatgactg<br/>gtaccagcaaacacctggcaaggccccaaagccttgatctacgccacctaatctgg<br/>ccagcggcgtgcttctagattcagcggcagcggatctggcaccgattacacctgacc<br/>atcagcagcctgcagcccaggatataccacatactactgccagcagtgaggctcca<br/>atctctcatctctggccagggcaccaagctgcagatcacagaatgataa</p> | 10 |
| hMN20A10N scFv-Fc<br>L2 12F6 scFv アミノ<br>酸 | 74 | <p>QVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWIR<br/>QAPGKGLEWVASIGRAGSTYYSDSVKGRFTISRDNANK<br/>SLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGPIYNDYDEFAYWGQG<br/>TLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGE<br/>RATLSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQAPRLLIY<br/>WASTRESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFVAYYCH<br/>QYLSSTLFGGGTKVEIKREPKSCDKTHTCPPCPAPELLG<br/>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF<br/>NWKYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ<br/>DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVY<br/>TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE<br/>NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS<br/>VMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGTQVQL<br/>VQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTSYTMHWVRQAP<br/>GKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISADKSKSTAF<br/>LQMDSLRPEDTGVYFCARWQDYDYFDYWGQGTPTV<br/>VSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGRVT<br/>MTCRASSSVSYMHWYQQTPGKAPKRWIYATSNLASGV<br/>PSRFSGSGSDYTLTISSLQPEDATYYCQQWSSNPPTF<br/>GQGTKLQITR--</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 30 |
| hMNC2 scFv-Fc L2<br>12F6 scFV DNA          | 75 | <p>gaggtgcagctggtggagctgggggagcgctggtcaagcctggggggtccctgaga<br/>ctctcctgtgcagcctctggattcaacttcagtggtatgccatgagctgggtccgccagg<br/>ctccagggaagggtggtgagtggtctcaaccattagtagtgccggaacctacatatac<br/>taccctgactcagtgaaaggccgattcaccatctccagagacaacccaagaactcact</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 40 |

【 0 1 2 3 】

【表 7 - 1 5】

|                                    |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                |
|------------------------------------|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
|                                    |    | <p>gtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacagggcgtgtattactgtgcgagac<br/>         ttgggggggataattactacgaatacttcgatgtctggggcacaaggggaccacgggtcacc<br/>         gtctctccggcgggtggcggatccggcgggtggcggatccggcgggtggcggatccgac<br/>         attgtgctgaccagctcctcagcctcctggccgtgtctccaggacagggggccaccatc<br/>         acctgcagagccagtaagagtgtcagtagcagcggatcctacatgcactgggtatca<br/>         gcagaaaccaggacaacctcctaactcctgatttacctggcatccaatctggagagcg<br/>         ggggtccagcaggttcagcggcagtggtgtgggaccgatttcacctcacaattaat<br/>         cctgtggaagctaatactgcaaatattactgtcagcacagtagggagctgccttica<br/>         cattcggcggaggaccaaaggtggagatcaaacgaactgagcccaatctgtgacaa<br/>         aactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagcttcc<br/>         tctcccccaaaaccaaggacaccctcatgatctccggaccctgaggtcacatgc<br/>         gtggtgggtggagctgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtagtgagc<br/>         gcgtggaggtgcataatgccaagacaaagcccggggaggagcagtagaacaagcagc<br/>         taccgtgtgtgtagcgtctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagta<br/>         caagtgcaggtctccaacaaagccctccagccccatcgagaaaccatctccaaa<br/>         gccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccggaggga<br/>         gatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaaagccttctatccagcgaca<br/>         tcgcccgtggagtgaggagagcaatgggcagccggagaaacataagaccacgcctc<br/>         ccgtgtggactcgcagggctccttctctctacagcaagctaccgtggacaagagc<br/>         aggtggcagcaggggaacgtctctcatgctcctgtagtgcaggtcctgcacaacca<br/>         ctacacgcagaagagcctcctctctcctggtaagggcggcgggggagcgggtgg<br/>         tggcgttagcaccgggtcaagtgagctggtagcagtcggaggaggcgtcgtgcagcc<br/>         tggaaagagcctccgctgagctgcaaggccagcggctatacattaccagctacacc<br/>         atgcactgggtgcccagggccctggcaaggcctggaatggatcggtacatcaacc<br/>         cttcagcggctacaccaagtagaaccagaattcaaggaccgggttaccattagcgcc<br/>         gataagagcaagagcacagcctttctcagatggacagcctgagaccagagaccaccc<br/>         ggctgtgtactctgcgccgctggcaggactacgacgtttatttgactactggggccag<br/>         ggccaccctgtgacagtgcagcggcggcggaggctccggcggagggtggcagcg<br/>         gcggcggcggctctgatccagatgacacagagccccagctctctgtctctctgtgg<br/>         gcgacagagtaccatgacctgtagagcctcctcaagcgtgtcctacatgcactggtac<br/>         cagcaaacacctggcaaggcccaaaagccttgatctacgccacctctaattcggccag<br/>         cggcgtgcctctagattcagcggcagcggatctggcaccgattacacctgaccatca<br/>         gcagcctgcagcccaggatataccacatactactgccagcagtgaggctccaatcct<br/>         cctaccttcggccaggccaccaagctgcagatcacaagatgataa</p> | 10             |
| hMNC2 scFv-Fc L2<br>12F6 scFV アミノ酸 | 76 | <p>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVR<br/>         QAPGKGLEWVSTISSGGTYIYYPDSVKGRFTISRDNAKN<br/>         SLYLQMNSLR AEDTAVYYCARLGGDNYEYFDVWGK<br/>         GTT TVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSDIVLTQSPASLAVSP<br/>         GQRATITCRASKSVSTSGYSYMHWYQOKPGQPPKLLIY<br/>         LASNLESGLVPARFSGSGSGTDFLTINPVEANDTANYYC<br/>         QHSRELPTFTGGGTKVEIKRTEPKSCDKTHTCPPCPAPEL<br/>         LGGSPVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV<br/>         KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH<br/>         QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV<br/>         YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ<br/>         PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS<br/>         CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGGSTGQV<br/>         QLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTSYTMHWVRQ<br/>         APGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISADKSKST<br/>         AFLQMDSLRPEDTGVYFCARWQDYDYFDYWGQGTP<br/>         VTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGRD<br/>         VTMTCRASSSVSYMHWYQQTPGKAPKPIWIYATSNLAS<br/>         GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDATYYCQQWSSNPP<br/>         TFGQGTCLQITR**</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 20<br>30<br>40 |

【 0 1 2 4 】

【表 7 - 1 6】

|                                           |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-------------------------------------------|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 12F6 scFv-Fc L1<br>hMN20A10N scFv DNA     | 77 | Caagtgcagctggtgcagtcggaggaggcgtcgtgcagcctggaagaagcctccg<br>gctgagctgcaaggccagcggctatacattaccagctacacatgcactgggtgcgg<br>caggccctggcaaaaggcctggaatggatcggctacatcaacccttcagcggctaca<br>ccaagtacaaccagaaattcaaggaccggtttaccattagcgcgataaggaagag<br>cacagcctttctgcagatggacagcctgagaccagaggacaccggcgtgtacttctcg<br>cccgctggcaggactacgacgtttatctgactactggggccaggcaccctgtgaca<br>gtgagcagcggcggcggaggctcggcggagggtggcagcggcggcggcggctctg<br>atatccagatgacacagagcccccagctctctgtctgtcttctgtggcgacagagtacca<br>tgacctgtagagcctctcaagcgtgtctctacatgcactggtaccagcaaacacctggca<br>aggcccaaaagccttgatctacgccaccttaattctggccagcggcgtgcttctagat<br>tcagcggcagcggatctggcaccgattacacctgacctacagcagcctgcagcccga<br>ggatacggccatactactgcccagcagtgagctccaatcctctaccttcggccagg<br>ggaccaagctgcagatcacaagagagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgccc<br>accgtgccagcaccctgaactcctggggggaccgtcagcttctcttccccccaaaac<br>ccaaggacacctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggagctg<br>agccacgaagaccctgaggtcaagtcaactgtgtacgtggcagcggcgtggaggtgcata<br>atgccaaagacaaagccggggaggagcagtaaacagcagctaccgtgtggtcagcg<br>tctcaccgtctgcaccagcagctggaatggcaaggagtacaagtgaaggtctcc<br>aacaagccctcccagcccccagcagaaaacacatctccaaagccaaaggcagccc<br>cgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccag<br>gtcagcctgacctgctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtggga<br>gagcaatgggcagccggagaaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccga<br>cggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggg<br>aacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagc<br>ctctccctgtctccggtaaaaggcgggggtggcgggtctgtggtggtggtctgtgagg<br>aggaaaccgtcaggtgcagctggtgaatctggcggcggactgtgaagcctggcggga<br>tctctgagactgagctgtgccccagcggcttcacctttagcacatacccatgagctgg<br>atcagacagggccctggcaaaaggcctggaatgggtggcgtctattggcagagccggc<br>agcacctactacagcgactctgtgaaggcgagattcaccatcagccgggacaacgcc<br>agaacagcctgtacctgcagatgaactcctgagagccgaggacaccggcgtgtactat<br>tgtgccagaggaccatctacaacgactacgacgagttcgctattggggccaggga<br>cactggtcacagtcttagcggcgggtggcggaaaggcggaggcgggtgctccgggtggc<br>gaggcagcgaaattgtgctgacacagagcccccgcacactgtcactttctccaggcgaa<br>agagccacactgagctgcaagagcagccagagcgtgctgtactccagcaaccagaag<br>aactacctggcctggtatcagcagaagccggccaagctcctcggtgctgctgattgg<br>ggccagcacaagagagagcggcatcctgccagattttctggcagcggctctggcaccg<br>atttaccctgaccataagcagcctggaacctgaggacttcgccgtgtattactgccacc<br>agtacctgagcagcctgacctttggcggaggcaccaggtggaaatcaagcgggtgata<br>a |
| 12F6 scFv-Fc L1<br>hMN20A10N scFv<br>アミノ酸 | 78 | QVQLVQSGGTVVQPGSRSLRLSCKASGYTFTSYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISADKSK<br>STAFLQMDSLRLPEDTGVIYFCARWQDYDYVFDYWGQG<br>TPVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVG<br>DRVMTTCRASSSVSYMHYQQTPGKAPKPKWIYATSNL<br>ASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQWSS<br>NPPTFGQGTKLQITREPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSV<br>FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY<br>VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN<br>GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPS<br>REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK<br>TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE<br>ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGTQGVQL<br>VESGGGLVKPGGSLRLSAAASGFTFTYAMSWIRQAPG<br>KGLEWVASIGRAGSTYYSDSVKGRFTISRDNANKNSLYL<br>QMNSLRAEDTAVYYCARGPIYNDYDEFAYWGQGLTVT<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |

【 0 1 2 5】

10

20

30

40

50

|                                                |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|------------------------------------------------|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                |    | <p>CKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQKPGQAPRLLIYWAST<br/>RESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCHQYLS<br/>SLTFGGGKTKEIKR--</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <p>12F6 scFV-Fc L1<br/>hMNC2 scFV<br/>DNA</p>  | 79 | <p>caagtcgagctgggtcgagtcgggagggcgtcgtgcagcctggaagaagccctcgg<br/>ctgagctgcaaggccagcggctatacattcaccagctacacatgcactgggtgcggc<br/>aggccctggcgaaggcctggatggatcgctacatcaacccttcagcggctacac<br/>caagtacaaccagaaattcaaggaccggtttaccattagcggcgataagagcaagagc<br/>acagcctttctcgagatggacagcctgagaccagaggacaccggcgtgactcttgcgc<br/>ccgctggcaggactacgacgtttatttcgactactggggccaggggcacccctgtgacag<br/>tgagcagcggcggcgaggctccggcggagggtggcagcggcggcggcggtctgta<br/>tatccagatgacacagagccccagctctctgtctgctctgtggcgacagagtgaccat<br/>gacctgtagagcctctcaagcgtgtcctacatgcactgggtaccagaaacacctggca<br/>aggccccaaggccttgatctacgccacctctaattggccagcggcgtgacctttagat<br/>tcagcggcagcggatctggcaccgattacacctgaccatcagcagcctgcagcccg<br/>ggatataccacatactactgccagcagtgaggctccaatcctctactcttgcggcgg<br/>gcaccaagctgcagatcacaaagagagcccaaatctgtgacaaaaactcacatgccc<br/>accgtgccagcacctgaactctggggggaccgtcagcttctctcttcccccaaaac<br/>ccaaggacacctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtg<br/>agccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggagggtgata<br/>atgccaagacaagccggcggaggagcagtgacaacagcagctaccgtgtggtcagcg<br/>tctcaccgtctctgcaccaggaactggctgaatggcaaggagtacaagtcaaggctcc<br/>aacaaaagccctccagcccccctcgagaaaaccatctccaaaagccaaaggcagccc<br/>cgagaaccacaggtgtacacctgcccccatccgggaggagatgaccaagaaccag<br/>gtcagcctgacctgctgggtcaaaaggcttctatccagcgacatcgccgtggagtggga<br/>gagcaatgggagccgggagaacaactacaagaccgacctccgtgctgactccga<br/>cggtcctcttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggg<br/>aacgtcttctatgctccgtgcatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagc<br/>ctctcctgtctccgggtaagggcgggggtggcgggttctggtggtggtggtctgagg<br/>aggaaaccggtgaggtgcagctggtggagtctgggggaggcctggtcaagcctgggg<br/>ggtcctctgagactctctgtgcagcctctggaattcacctcagtggtctatgccatgagctg<br/>ggtccgccaggctccagggaaggggcgtggagtgggtctcaaccattagtagtggcg<br/>aacctacataatactaccccgactcagtgaaaggccgattcacatctccagagacaacg<br/>ccaagaactcagtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggcgtgtat<br/>tactgtgcgagactgggggggataaattactacgaatacttcgatgtctggggcaaaagg<br/>accacggtcaccgtctctccggcggtggcggtatccggcggtggcggtatccggcggt<br/>ggcggtatccgacattgtgctgaccagcttccagcctccttggccgtgtctccaggaca<br/>gagggccaccatcacctgcagagccagtaagagtgtcagtaccagcggatatactctac<br/>atgcagctgtatcagcagaaccaggacaacctcctaactcctgatttaccgacccatca<br/>aatctggagagcgggggtcccgagcaggttcagcggcagtggtggtggtggcaggttca<br/>ccctcacaattaatctgtggaagctaatactgatactgcaattattactgtcagcacagtagg<br/>gagctgcttccattcggcggaggggaccaagggtggagatcaaacgaacttgataa</p> |
| <p>12F6 scFV-Fc L1<br/>hMNC2 scFV<br/>アミノ酸</p> | 80 | <p>QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTSYTMHWV<br/>RQAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISADSKS<br/>STAFLQMDSLRPEDTGVYFCARWQDYDVFYFDYWGQG<br/>TPVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVG<br/>DRVMTMTCRASSSVSYMHWYQQTGPKAPKPIWIYATSNL<br/>ASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQWSS<br/>NPPTFGQGTGLQITREPKSCDKHTCTPPCAPPELLGSPV<br/>FLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY<br/>VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN<br/>GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPS<br/>REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK<br/>TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFVSMHE<br/>ALHNHYTOKSLSLSPKGGGGSGGGSGGGSGGGTGEVQL</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

**【 0 1 2 6 】**

【表 7 - 1 8】

|                                           |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-------------------------------------------|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                           |    | VESGGGLVKPGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAP<br>GKGLEWVSTISSGGTYIYYPDVSVKGRFTISRDNKNSLY<br>LQMNSLR AEDTAVYYCARLGGDNYEYFDVWGKGT<br>VTVSSGGGGSGGGSGGGSDIVLTQSPASLAVSPGQR<br>ATITCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIYLAS<br>NLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQHS<br>RELPTFGGGTKVEIKRT**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 12F6 scFv-Fc L2<br>hMN20A10N scFv<br>DNA  | 81 | caagtgcagctgggtgagtcggaggaggcgtcgtgcagcctggaagaagcctccgg<br>ctgagctgcaaggccagcggctatacattaccagctacacatgcaactgggtgcggc<br>aggcccttgcaaaagcctgggaatggatcggtacatcaaccttccagcggctacac<br>caagtacaaccagaattcaaggaccggtttaccattagcggcgaataagagcaagagc<br>acagcctttctgagatggacagcctgagaccagaggacaccggcgtgtacttctgcgc<br>ccgctggcaggactacgacgtttatttcgactactgggcccaggggcaccctgtgacag<br>tgagcagcggcggcggaggctccggcggagggtggcagcggcggcggcggcgtga<br>tatccagatgacacagagccccagctctctgtctgtctgtggcgacagagtgacat<br>gacctgtagagcctcctcaagcgtgtcctacatgcaactgggtaccagaaacacctggca<br>aggcccaaaagcctggatctacccaccttaactctggcagcggcgtgccttctagat<br>tcagcggcagcggatctggcaccgattacacctgaccatcagcagcctgcagcccga<br>ggatacggccatactactgcccagcagtgaggctccaatcctcctaccttcggccagg<br>gcaccaagctgcagatcacaaagagagcccaaatctgtgacaaaactcacatgccc<br>accgtgcccagcactgaactcctggggggagcgtcagcttctcttcccccaaac<br>ccaagagaccctcatgctctccggaccctgagggtcacatgcgtggtgggtgagcgtg<br>agccacgaagaccctgaggtcaagttaactggtacgtggcggcgtggagggtcata<br>atgccaagacaaaagcggcgggagagcagtaaacagcagcgtggtggtgagcgtg<br>tcctcaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtaagtgcaaggtctcc<br>aacaagccctccagccccatcgagaaacatctccaaagccaaaggcagcccc<br>cgagaaccacaggtgtacacctgccccatccccgggagagatgaccaagaaccag<br>gtcagcctgacctgctgtgtaaaaggcttctatccagcgacatcggcgtggagtggga<br>gagcaatggcgagccggagaaactacaagaccacgctccctgctgactccga<br>cggctccttctctacagcaagctcaccgtgggacaagagcaggtggcagcagggg<br>aacgtcttctcatgctcctgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagc<br>ctctccctgtctccgggtaaaaggcggcgggggagcgggtggcggcgtgacacgg<br>caggtgagcgtggtgaatctggcggcggactgtgaagcctggcggatctctgagact<br>gagctgtgccccagcggcttacctttagcacatagccatgagctggatcagacagg<br>cccctggcaaaagcctgggaatgggtggcgtctattggcagagccggcagcactacta<br>cagcagctctgtgaaggcagattcaccatcagccgggacaacgcaagaacagcct<br>gtacctgcagatgaactccctgagagccgaggacaccgctgtactattgtgccagag<br>gacctctacaacgactacgacgagttcgctattggggccaggggcacactggtcaca<br>gtttctagcggcgggtggcggaaagcggagggcgggtgctccgggtggcggagcagcga<br>aattgtgctgacacagagccccgccactgtcactttctcaggcgaaagagccacac<br>tgagctgcaagagcagccagagcgtgtgtactccagcaaccagaagaactacctggc<br>ctggtatcagcagaagcccgccaagctcctcggctgctgatctattggccagcacaa<br>gagagagcggcatccctgccagattttctggcagcggcctgtggcaccgatttaccctg<br>accataagcagcctggaacctgaggacttcggctgtattactgccaccagttacctgag<br>cagcctgacctttggcggagccaccaaggtggaatcaagcgtgataa |
| 12F6 scFv-Fc L2<br>hMN20A10N scFv<br>アミノ酸 | 82 | QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTSYTMHWV<br>RQAPGKLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISADKSK<br>STAFLQMDSLRLPEDTGVYFCARWQDYDVFYDWGQG<br>TPVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVG<br>DRVMTTCRASSSVSYMHWYQQTPGKAPKPWIYATSNL<br>ASGVPSRFRSGSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQWSS<br>NPPTFGQGTLKLTITREPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSV<br>FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY<br>VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

【 0 1 2 7 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 19】

|                                       |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                |
|---------------------------------------|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
|                                       |    | GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS<br>REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK<br>TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE<br>ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGSTGQVQLVESG<br>GGLVKGPGSLRLSCAASGFTSTYAMSWIRQAPGKGLE<br>WVASIGRAGSTYYSDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNS<br>LRAEDTAVYYCARGPIYNDYDEFAYWGQGLTLVTVSSG<br>GGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKS<br>SQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESG<br>IPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCHQYLSSLTF<br>GGGTKVEIKR--                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 10             |
| 12F6 scFv-Fc L2<br>hMNC2 scFv<br>DNA  | 83 | caagtgcagctggtgcagtcggaggaggcgtcgtgcagcctggaagaagcctccgg<br>ctgagctgcaaggccagcggctatacattaccagctacacatgactgggtgaggc<br>aggccctggcaaggcctggaatggatcggtacatcaaccctccagcggctacac<br>caagtacaaccagaaattcaaggaccggtttaccattagcccgataagagcaagagc<br>acagcctttctgcagatggacagcctgagaccagaggacaccggcgtgtacttctgcgc<br>ccgctggcaggactacgactgttatttcgactactggggccaggccaccctgtgacag<br>tgagcagcggcggcggaggctccggcggaggtggcagcggcggcggcggcgtctga<br>tatccagatgacacagagcccagctctctgtctgtctgtggcgacagagtgacct<br>gacctgtagagcctcctcaagcgtgtcctacatgactggtaccagcaaacacctggca<br>aggccccaagcctggatctacgccaccttaattctggccagcggcgtgcctttagat<br>tcagcggcagcggatctggcaccgattacacctgacctcagcagcctgcagcccga<br>ggatacggcacatactactgccagcagtgaggctccaatcctctactcttggccagg<br>gcaccaagctgcagatcacaagagagcccaaatctgtgacaaaactcacatgccc<br>accgtgcccagcacctgaactcctggggggaccgctcgtcttcttcccccaaac<br>ccaaggacacctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggagcgtg<br>agccacgaagaccctgaggtcaagtcaactggtacgtggcagcgtggaggtgcata<br>atgccaagacaaagccggggaggagcagtaacagcacgtaccgtgtgtgacagc<br>tctcaccgtctcgcaccagcactggtggaatggcaaggagtaacgtgcaaggtctcc<br>aacaagccctccagccccatcgagaaaacctctccaaagccaaaggcagccc<br>cgagaaccacaggtgtacacctgcccceatccggaggagatgaccaagaaccag<br>gtcagcctgacctgctggtcaaaagccttctatccagcgacatcggcgtggagtgga<br>gagcaatggcgagcgggagacaactacaagaccagcctccgtgctggactccga<br>cggctccttctctctacagcaagctaccgtggacaagagcaggtggcagcagggg<br>aacgtcttctcatgctccgtgatgatgagctctgcacaacctacacgcagaagagc<br>ctctccctgtctccgggtaaaaggcggcggggggagcgggtggtggcggtgacaccggt<br>gaggtgcagctggtggagctggggggaggcctggtcaagcctggggggtccctgaga<br>ctctcctgtgcagcctctggattcacctcagtggtatgccatgagctgggtccgccagg<br>ctccagggaaggcgtggagtggtctcaaccattagtagtggcggaacctacatatac<br>taccggactcagtgaggggccgattcacatctccagagacaacgccaagaactcact<br>gtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggcgtgtattactgtgcgagac<br>ttgggggggataattactacgaatactcgtatgtctggggcaagggaaccaggtcacc<br>gtctcctccggcgtggtggatccggcgtggcgatccggcgtggcggtggtccgac<br>attgtgctgacccagctctccagcctcttggcgtgtctccaggacagaggccaccatc<br>acctgcagagccagtaagagtgctcagtagcagcggatctctacatgactggtatca<br>gcagaaccaggacaacctctaaactcctgattacctggcatccaatctggagagcg<br>gggtcccagccaggttcagcggcagtggtctgggaccgatttaccctcacatatt<br>cctgtggaagctaatgatactgcaaatattactgtcagcacagtagggagctgcttca<br>cattcggcggagggaaccaaggtggagatcaaacgaactgataa | 20<br>30<br>40 |
| 12F6 scFv-Fc L2<br>hMNC2 scFv<br>アミノ酸 | 84 | QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTSYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISADKSK<br>STAFLOMDSLRLPEDTGVIYFCARWQDYDVFYFDYWGQG<br>TPVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVG<br>DRVMTTCRASSSVSYMHWYQQTPGKAPKPWIYATSNL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 40             |

【0128】

【表 7 - 2 0】

|                                                |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |    |
|------------------------------------------------|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
|                                                |    | ASGVPSRFGSGSGTDYTLTISSLPEDIATYYCQQWSS<br>NPPTFGQGTKLQITREPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV<br>FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY<br>VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN<br>GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS<br>REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK<br>TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHE<br>ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSTGEVQLVESGG<br>GLVFKPGGSLRLSAAAGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLE<br>WVSTISSGGTYIYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS<br>LRAEDTAVYYCARLGDDNYEYFDVWVGKTTVTVSSG<br>GGGSGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRA<br>SKSVSTSGYSYMHWYQKPGQPPKLLIYLASNLESGVP<br>ARFSGSGSGTDFLTINPVEANDTANYYCQHSRELPTF<br>GGGTKVEIKRT**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 10 |
| ヒト IgG1重<br>鎖 OKT3 L1<br>hMN20A10N scFv<br>DNA | 85 | cagggtcaactgggtcagagcgggtggaggtgtgggtcagcctggctgtagcctgagact<br>gagctgcaaggcctccgctacacctttacaagatacactatgactgggtcagagagg<br>cccctggcaaggcctgggaatggattggctacatcaaccctagccgggataatacaca<br>ctacaaccagaaagtgaaggacagattcaccatcagcacagataaagccaagtcacac<br>gcttctcagatggactcctcgtccagaggacacagctgtgtactactgcccgg<br>gtactacgacgaccattactgtctggattactgggtcaggggaaccacctgaccgttag<br>cagtgtcagcacaaggcccatcgtcttccccctggcaccctctccaagagcacct<br>ctgggggacacgcccctgggtgctgctggtcaaggactactccccgagccggtga<br>cgggtgtcgtggaaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacacctcccgggtgtccta<br>cagctctcaggactctactcctcagcagcgtgggtgaccgtgcccctccagcagcttggg<br>caccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaagggtgacaag<br>aaagttagcccaaatcttgtgacaaaactcacatgccaccgtgcccagcacctga<br>actctctggggggaccgtcagctctctcttcccccaaaacccaaggacacctcatgat<br>ctcccggaccctgaggtcacatgctggtggtggacgtgagccacgaagaccctgag<br>gtcaagtcaactgtacgtggagcgcgtggaggtgcataatgccaagacaagccgc<br>gggaggagcagtaaacagcacgtaccgtgtgtgagcgtcctaccgtctgtcaca<br>ggactggctgaatggcaaggagtaacgtgcaagggttccaacaaagccctcccagcc<br>cccatcgagaaaaccatctccaagccaaggcagccccgagaacacaggtgtac<br>accctgccccatcccgaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgacctg<br>gtcaaggctctatccagcgcacatcccggtggagtgggagagcaatgggcagcgc<br>gagaacaactacaagaccacgctcccggtgtgactccgacggctctcttctctac<br>agcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgtccg<br>tgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgagaagagcctctccctgtctccgggt<br>aaaggcgggggtggcgttctggtggtggtggtctgtggaggagggaaccggtcaggtg<br>cagctggttgaatctggcggcggacttctgaagcctggcggatctctgagactgagctgt<br>gccgccagcggcttacccttagcacatacccatgagctggatcagacaggccctg<br>gcaaggcctggaatgggtggcgtctattggcagagccggcagcacctactacagcga<br>ctctgtgaaggcagattcaccatcagccgggacaacgccaagaacagcctgtacctg<br>cagatgaactcctgagagccgagacaccgctgtactattgtccagaggacca<br>tctacaacgactacgacgattcgcctattggggccagggcacactggtcacagtttcta<br>gcggcgggtggcgaagcggagcgggtggtccggtggcggagcagcgaattgtg<br>ctgacacagagccccccacactgtcacttctccaggcgaagagccacactgagct<br>gcaagagcagccagagcgtgctgtactccagcaaccagaagaactacctggcctggtta<br>tcagcagaagcccgccaagctcctcgggtgctgacttattgggccagcacaagagag<br>agcggcatccctgccagatttctggcagcggctctggcaccgattcaccctgaccata<br>agcagcctggaacctgaggacttgcgctgtattactgccaccagtacctgagcagcct<br>gaccttggcggaggcaccaaggtggaatcaagcgtgataa | 20 |
| ヒト IgG1重<br>鎖 OKT3 L1                          | 86 | QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISTDKS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 40 |

【 0 1 2 9 】

【表 7 - 2 1】

|                                     |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-------------------------------------|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| hMN20A10N scFv<br>アミノ酸              |    | KSTAFQLQMDSLRPEDTAVYYCARYYDDHYCLDYWGQ<br>GTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD<br>YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT<br>VPSSSLGTQYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT<br>CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD<br>VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV<br>VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAK<br>GQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV<br>EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW<br>QQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGSG<br>GGGSGGGTGQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTF<br>STYAMSWIRQAPGKGLEWVASIGRAGSTYYSDSVKGRF<br>TISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGPIYNDYD<br>EFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSP<br>ATLSLSPGERATLSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKP<br>GQAPRLLIYWASTRESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPE<br>DFAVYYCHQYLSLTFGGGGTKVEIKR--                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| ヒト IgG1重<br>鎖 OKT3 L1<br>hMNC2 scFv | 87 | cagggtcaactggttcagagcgggtggaggtggttcagcctggtcgtagcctgagact<br>gagctgcaaggcctccggctacacctttacaagatacactatgcactgggtcagacagg<br>ccccggcaaggcctggaatggattggctacatcaaccctagccgggatataccaa<br>ctacaaccagaaagtgaaggacagatcaccatcagcacagataagtcgaagtcacc<br>gcttctctcagatggactcctcgtcagaggacacagctgtgtactactgcgccg<br>gtactacgacgaccattactgtctggttactgggtcagggaaccacctgaccgttag<br>cagtgctagcaccaaggcccatcggtcttccctggcaccctctccaagagcacct<br>ctgggggcacagcggcctgggtgctgctgaaggactacttccccgagccggtga<br>cggtgtcgtggaactcagcggcctgaccagcggcgtgcacaccttccggctgtctca<br>cagtcctcaggacttactcctcagcagcgtggtgaccgtgcctccagcagcttggg<br>caccagacctatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaagggtggacaag<br>aaagttagcccaaatctgtgacaaaactcacatgccaccgtgccagcacctga<br>actctggggggaccgtcagcttctcttcccccaaaacccaaggacacctcatgat<br>ctccccgaccctgaggtcacatgcgtggtggtgagcgtgagccacgaagacctgag<br>gtcaagtccaactggtacgtgacggcgtgaggtgcatatgccaagacaaaagcccg<br>gggaggagcagtaacacagcagcgtaccgtgtgtcagcgtctcaccgtctgcacca<br>ggactggctgaatggcaaggagtagaagtgcaaggcttccaacaaagccctccagcc<br>cccatcgagaaaacatctcacaagccaaaggcagcccgagaaaccacaggtgtac<br>accctgccccatccgggaggagatgaccaagaaccagggtcagcctgacctgcctg<br>gtcaaaaggcttctatccagcgacatcgccgtgagtgaggagagcaatggcgagccg<br>gagaacaactacaagaccacgcctccgtgctggactccgagcgctcttctctctac<br>agcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccg<br>tgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgagaagaccttccctgtctccgggt<br>aaaggcgggggtggcgggttctggtggtggtggtctggaaggaggaaccggtgaggtg<br>cagctggtgagctctgggggagcctggtcaagcctgggggtccctgagactctct<br>gtgcagcctctggttaccctcagtggtctatgccatgagctgggtcccgaggtccag<br>ggaaggggctggagtgggtctcaaccattagtagtgcggaacctacataactacccc<br>gactcagtgaaaggccgattaccatctcagagacaacgccaagaactcactgtatct<br>gcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggccgtgtattactgtgcgagacttggg<br>ggggataattactacgaatactcgtatgtctgggcaagggaaccaggtcaccgtctc<br>ctccggcgtggtggatccggcgggtggcggatccggcgggtggcggatccgacattgt<br>gctgaccagctctccagcctcttggcgtgtctccagacagaggccaccatcact<br>gcagagccagtaaggtgtcagtagcagcgggatactctacatgactgtatcagcag<br>aaaccaggacaacctcctaactcctgattactggcatcaatctggagagcgggtc<br>ccagccaggttcagcggcagtggtctgggaccgattcaccctcacaattaactctgtg<br>gaagctaagtatactgcaaatattactgtacacagtagggagctgccttcacattcg<br>cgggaggggaccaaggtggagatcaaacgaactgataa |

10

20

30

40

【 0 1 3 0 】

50

【表 7 - 2 2】

|                                     |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-------------------------------------|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ヒト IgG1重鎖 OKT3 L1<br>hMNC2 scFv     | 88 | <p>QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV<br/> RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISTDKS<br/> KSTAFLLQMDSLRPEDTAVYYCARYYDDHYCLDYWGQ<br/> GTTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD<br/> YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT<br/> VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT<br/> CPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD<br/> VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV<br/> VSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAK<br/> GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV<br/> EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW<br/> QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSG<br/> GGGSGGGTGEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTF<br/> SGYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGGTYIYYPDSVKGR<br/> FTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLGGDNY<br/> YEYFDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLT<br/> QSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSGYSYMHWYQQK<br/> PGQPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVE<br/> ANDTANYYCQHSRELPTFGGGTKVEIKRT**</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| ヒト IgG1重鎖 OKT3 L2<br>hMN20A10N scFv | 89 | <p>caggttcaactggtcagagcgggtgaggtgtggttcagcctggtcgtagcctgagact<br/> gagctgcaaggcctccgctacacctttacaagatacatatgactgggtcagacagg<br/> cccctggcaggcctggaatggttggtcatcatcaacccctagccgggataatacaca<br/> ctacaaccagaaaagtgaaggacagattaccatcagcacagataagtccaagtccacc<br/> gctttctcgcagatggactccctcgtccagaggacacagctgtgtactactgcccgcg<br/> gtactacgacgaccattactgtctggtggtggtcaggggaacacccctgaccgttag<br/> cagtgctagcaccaaggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacct<br/> ctgggggacagcggccctgggtgctggtcaaggactactccccgagccggtga<br/> cggtgtcgtggaactcaggcggcctgaccagcggcgtgcacacctccccggtgtccta<br/> cagtcctcaggactctactccctcagcagcgtgtggtgaccgtgcccctcagcagcttggg<br/> caccacagctacatctgaacgtgaatcacaagcccagcaaacaccaaggtggacaag<br/> aaagttagcccaaatctgtgacaaaactacacatgccaccctgcccagcacctga<br/> actctgggggaccgtcagcttctcttcccccaaaaacccaaggacacccctcatgat<br/> ctcccgaccctgaggtcacatgctggtggtggtgacgtgagccacgaagaccctgag<br/> gtcaagttaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagacaagccgc<br/> gggagggagcagtacaacagcagctaccgtgtgtgcagcgtcctaccgtctgcacca<br/> ggactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaagccctcccagcc<br/> cccatcgagaaaaccatctccaagccaaaggcagccccgagaaccacaggtgtac<br/> accctgcccccatcccgaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgacctg<br/> gtcaaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagagcaatggcgagccg<br/> gagaacaactacaagaccacgcccctccgtggtgactccgacggtccttctctctac<br/> agcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccg<br/> tgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcctgtctccgggt<br/> aaaggcggcgggggagcgggtgtggtggtgtagcaccggtcaggtgcagctggttga<br/> atctggcggcggactgtgaagcctggcggtatctgagactgagctgtgccgccagc<br/> ggcttcacctttagcacatacgccatgagctggatcagacagggccctggcaaaaggcct<br/> ggaatgggtggcgtctattggcagagccggcagcacctactacagcagctctgtgaag<br/> ggcagattcaccatcagccgggacaacgccaagaacagcctgtacctgcagatgaact<br/> ccctgagagccgaggacaccgcccgtgtactattgtgccagaggaccatctacaacga<br/> ctacgacgagttcgctattggggccaggcagactggtcacagtttctagcggcggtg<br/> gcggaaaggaggcgggtggtcctcggtggcgaggcagcgaattgtgctgacacag<br/> agccccgccacactgtcactttctcaggcgaagagccacactgagctgcaagagca<br/> gccagagcgtgctgtactccagcaaccagaagaactacctggcctggtatcagcagaa<br/> gccccgccaagctcctcggtgctgatctattggccagcacaagagagagcggcctc<br/> cctgcccagattttctgcagcggcctgtggcaccgattaccctgaccataagcagcctg<br/> gaacctgaggacttcgctgtattactgccaccagtaacctgagcagcctgacctttggc<br/> ggaggcaccaaggtggaaatcaagcgggtgataa</p> |

【0 1 3 1】

10

20

30

40

50

【表 7 - 2 3】

|                                     |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-------------------------------------|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                     |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| ヒト IgG1重鎖 OKT3 L2<br>hMN20A10N scFv | 90 | <p>QVQLVQSGGQVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV<br/> RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQVKDRFTISTDKS<br/> KSTAFQLQMDSLRPEDTAVYYCARYYDDHYCLDYWGQ<br/> GTTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD<br/> YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT<br/> VPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT<br/> CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD<br/> VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV<br/> VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAK<br/> GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV<br/> EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGFSFLYSLKLTVDKSRW<br/> QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGKGGGSGG<br/> GGSTGQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFTSYA<br/> MSWIRQAPGKGLEWVASIGRAGSTYYSDSVKGRFTISR<br/> DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGPIYNDYDEFA<br/> YWQGQTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATL<br/> SLSPGERATLSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQKPKGQA<br/> PRLIIYWASTRESGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFA<br/> VYYCHQYLSSLTFGGGTKVEIKR--</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| ヒト IgG1重鎖 OKT3 L2<br>hMNC2 scFv     | 91 | <p>cagggtcaactggttcagagcgggtgaggtgtggttcagcctggtcgtagcctgagact<br/> gagctgcaaggcctccgctacacctttacaagatacactatgactgggtcagacagg<br/> ccctggcgaaggcctggaatggattggctacatcaaccctagccgggataatacaa<br/> ctacaaccagaaaagtgaggacagattcaccatcagcacagataagtccaagtcacc<br/> gctttctcagatggactccctgcgtccagaggacacagctgtgtactactgcgcccg<br/> gtactacgacgaccattactgtctggattactgggtcagggaaccacccctgaccgttag<br/> cagtgttagcaccaggcccatcggtcttccccctggcaccctctcacaagagcacct<br/> ctgggggcacagcggcctgggtgctgctgcaaggactacttccccgagccgtga<br/> cgggtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcta<br/> cagtcctcaggactctactcctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagctggg<br/> caccagacctatcatgtcaacgtgaatcacaagccagcaacaccaaggtggacaag<br/> aaagttgagcccaaatctgtgacaaaactcacatgcccaccgtgccagcacctga<br/> actcctgggggaccgtcagttctcttcccccaaaacccaaggacacctcatgat<br/> ctccccgaccctgaggtcacatgcgtggtgtgacgtgagccacgaagacctgag<br/> gtcaagttcaactggtacgtggacggcgtgaggtgcataatgccaagacaagccgc<br/> gggagagcagtagacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcacca<br/> ggactgggtgaatggcaaggagtacaagtgcagggtctccaacaaagccctccagcc<br/> cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaaggcagccccgagaaccacaggtgtac<br/> accctgcccccatccccggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctg<br/> gtcaaaaggcttctatccagcgacatgcctggtgagtgaggagagcaatgggcagccg<br/> gagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttctctctac<br/> agcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgtccg<br/> tgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggt<br/> aaaggcggcgggggagcgggtggtgctgtagcaccgggtgaggtgcagctggtg<br/> agtctgggggagcctggtcaagcctgggggtccctgagactctctgtgcagcctct<br/> ggattcaccttcagtggtatgcatgagctgggtccgccagggtccagggaagggggt<br/> ggagtggtgtcaaccattagtagtgccgggaacctacatatactaccccgactcagtga<br/> ggccgattcaccatctccagagacaacgccaagaactcactgtatctgcaaatgaaca<br/> gcctgagagccgaggacacggcgtgtattactgtgcgagactggggggataatta<br/> ctacgaatacttcgatgtctggggcaaggaccacggtcaccgtctctccggcgtg<br/> gcggatccggcgggtggcggatccggcgggtggcggatccgacattgtgctgaccaggt<br/> ctccagcctcttgccgtgtctccaggacagagggeaccatcaccgtcagagccagt<br/> aagagtgtagtaccagcggatactctcatatgcactggtatcagcagaaccaggaca<br/> acctctaaactctgatttacctggcatccaatctggagagcgggggtcccgccaggtt</p> |

【 0 1 3 2 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 2 4】

|                                         |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-----------------------------------------|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                         |    | cagcggcagtggtgctgggaccgatttcaccctcacaattaatcctgtggaagctaataga<br>tactgcaaatattactgtcagcacagtagggagctgcctttcacattcggcgaggaggac<br>caaggtggagatcaaacgaacttgataa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| ヒト IgG1重<br>鎖 OKT3 L2<br>hMNC2 scFv     | 92 | QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQVKDRFTISTDKS<br>KSTAFLLQMDSLRPEDTAVYYCARYYDDHYCLDYWGQ<br>GTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD<br>YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT<br>VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT<br>CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD<br>VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV<br>VSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAK<br>GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV<br>EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW<br>QQGNVVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGG<br>GGSTGEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSGYA<br>MSWVRQAPGKGLEWVSTISSGGTYIYYPDSVKGRFTISR<br>DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLGGDNYYEYF<br>DVWGKGTTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPAS<br>LAVSPGQRATITCRASKSVSTSGYSYMHWYQKPGQPP<br>KLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTA<br>NYYCQHSRELPTFGGGTKVEIKRT**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| ヒト IgG1重<br>鎖 12F6 L1<br>hMN20A10N scFv | 93 | caagtgcagctggtgcatccggaggaggcgtcgtgcagcctggaagaagcctccgg<br>ctgagctgcaaggccagcggctatacattcaccagctacacatgcactgggtgcggc<br>aggccccctggcaaggcctggaatggatcggtacatcaacccctccagcggctacac<br>caagtacaaccagaaattcaaggaccggtttaccattagcccgataagagcaagagc<br>acagcctttctgcagatggacagcctgagaccagaggacaccggcgtgtacttctgcgc<br>ccgctggcaggactacgactttatttcgactactggggccagggcacccctctgacag<br>tgagcagcctagcaccaaggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaagag<br>cacctctgggggcacagcggccctgggctgctggtcaaggactacttccccgagccg<br>gtgacggtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttccccgctg<br>tctacagctctcaggactctactcctcagcagcgtggtgaccgtgccccccagcagct<br>tgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagccagcaacaccaaggtgga<br>caagaaagttagcccaaatcttgacaaaactcacacatgccaccctgcccagcac<br>ctgaactcctggggggaccgtcagcttcttcttcccccaaaacccaaggacacctc<br>atgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc<br>ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaa<br>gccgaggaggagcagctacaacagcagctaccgtggtgcagcgtcctcaccgtcctg<br>caccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaagggtctccaacaaagccctcc<br>cagcccccatcgagaaaacctctccaagccaaggcagccccgagaaccacag<br>gtgtacacctgccccatccccggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacct<br>gcctggtcaaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggca<br>gccggagaacaactacaagaccacgcctccgtggtgactccgacggctcttctcc<br>tctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgttctctcatg<br>ctccgtgatgcatgaggtctctgcacaaccactacacgcagaagaccttccctgtctcc<br>gggtaaaggcgggggtggcgttctggtggtggtggtctgaggagggaaccgtca<br>ggtgcagctggtggaatctggcggcgactgtgaagcctggcggtatctctgagactga<br>gctgtgccgcagcggcttacccttagcacatacgccatgagctggatcagacagggcc<br>cctggcaaaaggcctggaatgggtggcgtctattggcagagccggcagcacctactaca<br>gcgactctggaaggcgagattcaccatcagccgggacaacgccaagaacagcctgta<br>cctgcagatgaactccctgagagccgaggacaccgccgtgtactattgtgccaagga<br>cccatctacaacgactacgacgagttcgctattggggccagggcacactgttcacagt<br>ttctagcggcgtggcggaagcgagcggtggtcctccggtggcgaggcagcagaaa<br>ttgtgctgacacagagccccgccacactgtcactttctccaggcgaaagagccacactg |

10

20

30

40

【 0 1 3 3 】

【表 7 - 2 5】

|                                         |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------------------------|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                         |    | agctgcaagagcagccagcgtgctgtactccagcaaccagaagaactacctggcct<br>ggatcagcagaagcccgcccaagctcctggcgtgctgactattggccagcacaag<br>agagagcggcatccctgccagattttctggcagcggcctctggcaccgattcaccctgac<br>cataagcagcctggaacctgaggacttcgccgtgtattactgccaccagtacctgagca<br>gcctgaccttggcggaggcaccaggtggaatcaagcgggtgataa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| ヒト IgG1重<br>鎖 12F6 L1<br>hMN20A10N scFv | 94 | QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTSYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISADKSK<br>STAFLQMDSLRPEDTGVYFCARWQDYDVYFDYWGQG<br>TPVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY<br>FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV<br>PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP<br>PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS<br>HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS<br>VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQ<br>PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW<br>ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ<br>GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGG<br>GSGGGTGQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFST<br>YAMSWIRQAPGKGLEWVASIGRAGSTYYSDSVKGRFTI<br>SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGPIYNDYDE<br>FAYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPA<br>TSLSPGERATLSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPG<br>QAPRLLIYWASTRESGIPARFSGSGSGTDFLTITSSLEPED<br>FAVYYCHQYLSLTFGGGGTKVEIKR--                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| ヒト IgG1重<br>鎖 12F6 L1<br>hMNC2 scFv     | 95 | caagtgcagctggtgagtcctggaggaggcgtcgtgcagcctggaagaagcctcgg<br>ctgagctgcaagccagcggctatacattaccagctacaccatgcactgggtgcggc<br>aggcccttgcaagcctggaatggatcggctacatcaaccttccagcggctacac<br>caagtacaaccagaaattcaaggaccggtttaccattagcggcgataagagcaagagc<br>acagcctttctgcagatggacagcctgagaccagaggacaccggcgtgacttctgcgc<br>ccgtggcaggactacgactttatttgcactactggggccaggccacctgtgacag<br>tgagcagcgtgacacaaaggcccatcggtcttccccctggcacccctcctcaaagag<br>cacctctgggggcacagcggccctggcgtgctggtcaggactactccccgagccg<br>gtgacggtgctggtgaactcaggcggcctgaccagcggcgtgacacacctccccggtg<br>tctacagtctcaggacttactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagct<br>tgggcaccagacatcatctgcaactggaatcacaagcccagcaacaccaaggtgga<br>caagaaagtggaccctctgtgacaaaactcacatgccaccgtgccagcac<br>ctgaactctggggggaccgtcagcttctcttccccccaaaacccaaggacacctc<br>atgatctccccggacctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc<br>ctgaggtcaagtcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaa<br>gccgcgggaggagcagtaacacagcagctaccgtggtgagcgtcctcaccgtcctg<br>caccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcagggtctccaacaaagccctcc<br>cagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaggcagccccgagaaccacag<br>gtgtacacctgccccatccccggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacct<br>gcctggtcaaggcttctatccagcagatcggcgtggagtgggagagcaatgggca<br>ggcgagagaactacaagaccacgcctccgtgctggactccgacggctcttctcc<br>tctacagaagctaccgtggacaagcaggtggcagcagggaacgtcttctcatg<br>ctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcc<br>gggtaagggcggggtggcggttctggtggtggtggtctggaggaggaaccgggtga<br>gggtgagctggtgagctgggggaggcctggtcaagcctggggggtccctgagact<br>ctcctgtgagcctctggattcacctcagtggtatgccatgagctgggtccgccaggct<br>ccagggaagggtggagtggtgtcaaccattagtagtgcggaacctacatatata<br>ccccactcagtgaaaggccgattcacatctccagagacaacgccaagaactcactgt<br>atctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggcgtgtattactgtgcgagactt<br>gggggggataattactacgaatactcgtatgctggggcgaaggaccacgggtcaccgt |

10

20

30

40

【0 1 3 4】

【表 7 - 2 6】

|                                             |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|---------------------------------------------|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                             |    | ctcctccggcgggtggagatctggcggagggtggatccggcgggtggcggatctgacatt<br>gtgctgaccagctctccagcctccttggcctgtctccaggacagaggccaccatcac<br>ctgcagagccagtaagagtgtcagtgaccagcggatactcctacatgcactggatcagc<br>agaaaccaggacaacctcctaactcctgatttacctggcatccaatctggagagcggg<br>gtcccagccaggttcagcggcagtggtgtctgggaccgatttcacccctacaattaatcct<br>gtggaagctaatactgcaaaftattctgtcagcacagtagggagctgcctttcacatt<br>cggcggaggaccgaaggtggagatcaaacgaactgataa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| ヒト IgG1重<br>鎖12F6 L1<br>hMNC2 scFv          | 96 | QVQLVQSGGTVVQPGRLRLSCKASGYTFTSYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISADKSK<br>STAFLQMDSLRLPEDTGVYFCARWQDYDVFYDWGQG<br>TPVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY<br>FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV<br>PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP<br>PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS<br>HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS<br>VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ<br>PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW<br>ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ<br>GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGG<br>GSGGGTGEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCLASGFTFSG<br>YAMSWVRQAPGKLEWVSTISSGGTYIYYPDSVKGRFT<br>ISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLGGDNYEY<br>YFDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSP<br>ASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQ<br>PPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEAND<br>TANYYCQHSRELPTFGGGTKVEIKRT**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| ヒト IgG1重<br>CHAIN 12F6 L2<br>hMN20A10N scFv | 97 | caagtgcagctgggtgcagtcggaggaggcgtcgtgcagcctggaagaagcctccgg<br>ctgagctgcaaggccagcggctatacattcaccagctacacatgcactgggtgcggc<br>aggccccctggcaaggcctggaatggatcggtacatcaaccttccagcgggtacac<br>caagtacaaccagaaattcaaggaccggttaccattagcggcgataagagcaagagc<br>acagccttctgcagatggacagcctgagaccagaggacaccggcgtgtacttctgcgc<br>ccgctggcaggactacgactttattcactactggggccaggccacccctgtgacag<br>tgagcagcgtacgaccaaggcccatcggttctccctggcaccctcctccaagag<br>cacctctgggggcagacggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgagccg<br>gtgacggtgtctggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttccgggtg<br>tcctacagtctcaggactctactcctcagcagcgtggtgaccgtgcctccagcagct<br>tgggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagccagcaacaccaaggtgga<br>caagaaagttagcccaaatcttgcacaaactcacatgcccaccgtgcccagcac<br>ctgaactcctgggggaccgtcagcttctcttcccccaaaacccaaggacacctc<br>atgatctccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtgagctgagccacgaagacc<br>ctgaggtcaagttaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaa<br>gccgaggagagcagtagacaacagcagctaccgtggttcagcgtcctcaccgtctg<br>caccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcagggtctccaacaaagccctcc<br>cagcccccatcgagaaaacctctccaaagccaaaggcagccccgagaaccacag<br>gtgtacacctgcccccatccggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacct<br>gcctggtcaaaagcttctatccagcagcatgccgtggagtgggagagcaatgggca<br>gccggagaacaactacaagaccagcctccctgctgactccgacggctccttctcc<br>tctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggaacgtcttctcatg<br>ctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgagaagagcctctccctgtctcc<br>gggtaaaggcggcggggggagcgggtggtggcggtagcaccggtcaggtgcagctg<br>gttgaatctggcggcggactgtgaagcctggcggatctctgagactgagctgtgccgc<br>cagcggcttcacctttagcacatagccatgagctggatcagacagccctggcaaa<br>gcctggaatgggtggcgtctattggcagagccggcagcacctactacagcagctgtg<br>aagggcagatcaccatcagccgggacaacgcaagaacagcctgtacctgcagatg |

10

20

30

40

【 0 1 3 5 】

【表 7 - 2 7】

|                                         |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-----------------------------------------|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                         |    | aactcctgagagccgagacaccgccgtgtactattgtgccagaggaccatctacaa<br>cgactacgacgagttgcctattggggccaggccacactggtcacagtttctagcggcg<br>gtggcggaaagcggaggcgggtggtccgggtggcggaggcagcgaattgtgctgaca<br>cagagccccgccacactgtcactttctccaggcgaagagccacactgagctgcaaga<br>gcagccagagcgtgctgtactccagcaaccagaagaactacctggcctggtatcagca<br>gaagcccgccaagctcctcgctgctgatctattgggccagcacaagagagcggg<br>catccctgccagatttttggcagcggctctggcaccgatttaccctgaccataagcag<br>cctggaacctgaggacttcgccgtgtattactgccaccagtacctgagcagcctgacctt<br>ggcggaggcaccgaaggtggaatcaagcgggtgataa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| ヒト IgG1重<br>鎖 12F6 L2<br>hMN20A10N scFv | 98 | QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTSYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISADKSK<br>STAFLQMDSLRLPEDTGVYFCARWQDYDVYFDYWGGQ<br>TPVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDY<br>FPEPVTVSWSNGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV<br>PSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP<br>PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS<br>HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS<br>VLTVLHQDWLNGKEYCKKVSNNALPAPIEKTKAKGQ<br>PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW<br>ESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ<br>GNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGG<br>STGQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMS<br>WIRQAPGKGLEWVASIGRAGSTYYSDSVKGRFTISRDN<br>AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGPIYNDYDEFAYW<br>GQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSL<br>PGERATLSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQAPRL<br>LIYWASTRESGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVY<br>YCHQYLSSTLFGGGTKVEIKR--                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| ヒト IgG1重<br>鎖 12F6 L2<br>hMNC2 scFv     | 99 | caagtgcagctggtgagtcggaggagcgtcgtgcagcctggaagaagcctccgg<br>ctgagctgcaaggccagcggctatactaccagctacacatgactgggtgcggc<br>aggccctggcaaggcctggaatggatcgctacatcaaccttcagcggctacac<br>caagtacaaccagaattcaaggaccggtttaccattagcggcgataagagcaagac<br>acagcctttctgagatggacagcctgagaccagaggacaccggcgtgtacttctgcgc<br>ccgctgagcaggactacgactgtttatttgcactactggggccaggccacctgtgacag<br>tgagcagcgtagcacaaggcccatcggttccccctggcaccctcctccaagag<br>cacctctgggggcacagcggccctgggctgctgtgcaaggactacttccccgagcgg<br>gtgacggtgtcgtggaactcagcgcctgaccagcggcgtgacaccttccggctg<br>tcctacagtcctcaggactctactcctcagcagcgtgtgacgtgcccctccagcagct<br>tgggcacccagacctacatctgcaactgaatcacaagcccagcaacacaaaggtgga<br>caagaaagttagcccaatctgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcac<br>ctgaactcctgggggaccgtcagttcttcttcccccaaaacccaaggacacctc<br>atgatctccggaccctgaggtcacatgcgtgggtggacgtgagccacgaagacc<br>ctgaggtcaagttcaactgtgtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaa<br>ggcggggaggagcagtagacaacagcagctaccgtgtgtcagcgtctcaccgtcctg<br>caccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggttccaacaaagccctcc<br>cagcccccatcgagaaaacctctccaaagccaaaggcagccccgagaaccacag<br>gtgtacacctgccccatccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacct<br>gectgtcaaggtcttatccagcgacatcgccgtggagtgaggagagcaatgggca<br>ggcggagaacaactacaagaccagcctccgtgctggactccgacggctccttctcc<br>tctacagcaagctaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatg<br>ctccgtgatgatgaggtctgcacaaccactacacgagaagagcctctcctgtctcc<br>gggtaaaggcggcggggggagcgggtggcggtagcaccgggtgaggtgacgtg<br>gtggagctctgggggagcgtgtcagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcag<br>cctctggaattcaccttcagtggtatgcatgagctgggtccgagcgtccaggggaag |

10

20

30

40

【 0 1 3 6 】

【表 7 - 2 8】

|                                         |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------------------------|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                         |     | gggctggagtggtctcaaccattagtagtggcggaacctacatatactacccgactca<br>gtgaagggccgattcaccatccagagacaacccaagaactcactgtatctgcaa<br>gaacagcctgagagccgagacacggcgtgtattactgtcgagactggggggat<br>aattactacgaatactcgtatgtctgggcaaggaccacggtcaccgtctctccggc<br>ggtggagatctggcgaggtggtacggcggtggcgatctgacattgtctgaccc<br>agtctccagcctcttggcgtgtctcaggacagggccaccatcactgcagagcc<br>agtaagagtgtcagtagcagcgatactcctacatgcactggtatcagcagaacagg<br>acaacctcctaaactcctgatttacctggcatccaatctggagagcggggtccagccag<br>gttcagcggcagtggtgtctggaccgatttcacctcacaataatcctgtggaagcta<br>gatactgcaaattattactgtcagcacagtagggagctgctttcacattcggcggagg<br>accaaggtggagatcaaacgaactgataa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| ヒト IgG1重<br>鎖 12F6 L2<br>hMNC2 scFv     | 100 | QVQLVQSGGTVVQPGRLRLSCKASGYTFTSYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISADKSK<br>STAFLLQMDSLRPEDTGVYFCARWQDYDVYFDYWGQ<br>TPVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY<br>FPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV<br>PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP<br>PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS<br>HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS<br>VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQ<br>PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW<br>ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ<br>GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGG<br>STGEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMS<br>WVRQAPGKGLEWVSTISSGGTYIYYPDSVKGRFTISRDN<br>AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLGGDNYYEYFDV<br>WGKGTITVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPASLA<br>VSPGQRATITCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPKL<br>LIYLASNLESQVPAFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTAN<br>YYCQHSRELPTFGGGTKVEIKRT**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| ヒト IgG1重<br>鎖 hMN20A10N<br>L1 OKT3 scFv | 101 | caggtgcagctggtgaatctggcggcgactgtgaagcctggcgatctctgagact<br>gagctgtgccgccagcggcttcaccttagcacatacgccatgagctggatcagacagg<br>ccctggcgaaggcctggaatgggtggcgtctattggcagagccggcagcactacta<br>cagcagctctgtgaaggcagattcaccatcagccgggacaacccaagaacagcct<br>gtacctgcagatgaactcctgagagccgagacaccggcgtgtactattgtccagag<br>gacctatcacaacgactacgacgagttcgctattggggccaggccacactggtcaca<br>gtttctagcgtacgaccaaggccatcggtcttccccctggcaccctcctcaagagc<br>acctctgggggcacagcggccctgggtgctggtcaaggactacttccccgagccgg<br>tgacgggtgtcgtggaactcaggcggcctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgt<br>cctacagtcctcaggacttactcctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagctt<br>gggcaccagacacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaagggtgga<br>caagaaagttagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagac<br>ctgaactcctgggggaccgtcagttctcttcccccaaaacccaaggacaccctc<br>atgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc<br>ctgaggtcaagttaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaa<br>gccggggaggagcagtagacaacagcagctaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcct<br>caccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgaagggtcacaacaaagccctcc<br>cagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaggcgagccccgagaaccacag<br>gtgtacacctgccccatccccgggacgagctgaccaagaaccaggtcagctgacct<br>gcctggtcaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggca<br>gccggagaacaactacaagaccacgctcccgtggtgactccgacggctccttctcc<br>tctacagaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatg<br>ctccgtgatgcagtaggctctgcacaaccactacacgagaagagcctctcctgtctcc<br>gggtaaaggcgggggtggcgttctggtggtggtggtcttggaggagggaaccggtca |

10

20

30

40

【 0 1 3 7 】

50

【表 7 - 2 9】

|                                         |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |          |
|-----------------------------------------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
|                                         |     | <p>gggtgcaactgggtgcagtcggcgaggcggtggtgcagcctggccggagcctgagact<br/> gagctgcaaggcctccggctacacfttaagatacactatgcactgggtcagacagg<br/> ccctggcaggcctggaatgattggctacatcaacctagccgggataccaa<br/> ctacaaccagaaagtgaaggacagattaccatcagcacagataagtccaagtccacc<br/> gcttctctgcagatggactccctgcgtccagaggacacagctgtgtactactgcggcg<br/> gtactacgacgaccactactgtctggactactggggacaggggaaccacctgaccgtca<br/> gctctggcgggagggtccggcgagggtggcagcggcgggcggtctgatac<br/> cagatgaccagagcccttcttctatctgccagcgtggcgatagagtaccatcaca<br/> tgacgcccagctcttctgttagctacatgaactggtaccagcaaacacctgaaaaggc<br/> ccctaaaagatggatctacgacaccagcaagctggcctctggcgtgccctctagattca<br/> gcggctctggcctccggcaccgactacacctttacaattagctccctgcagcccaggat<br/> atgccacctactactgccagcagtgaggcagcaaccccttcacattcgccaggga<br/> caaacgtgcaaatcaccagatgataa</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 10       |
| ヒト IgG1重<br>鎖 hMN20A10N<br>L1 OKT3 scFv | 102 | <p>QVQLVESGGGLVKGPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWIR<br/> QAPGKGLEWVVASIGRAGSTYYSDSVKGRFTISRDNANK<br/> SLYLQMNSLRRAEDTAVYYCARGPIYNDYDEFAYWGQG<br/> TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY<br/> FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV<br/> PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP<br/> PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS<br/> HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS<br/> VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ<br/> PREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW<br/> ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ<br/> GNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGSGGG<br/> GSGGGTGQVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTFR<br/> YTMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRF<br/> TISTDKSKSTAFLQMDSLRPEDTAVYYCARYYDDHYCL<br/> DYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSS<br/> LSASVGDRTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIY<br/> DTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYFTFTISLQPEDATYYCQ<br/> QWSSNPFTFGQGTKLQITR--</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 20       |
| ヒト IgG1重<br>鎖 hMNC2 L1<br>OKT3 scFv     | 103 | <p>gaggtgcagctgggtgagctctgggggaggcctgggtcaagcctggggggtccctgaga<br/> ctctctctgcagcctctggattcaccttcagtggctatgccatgagctgggtccgccagg<br/> ctccagggaaggcctgggtgaggtctcaacattagtagtgccggaaacctacatatac<br/> taccgcgactcagtgaaaggccgattcaccatctccagagacaacgccaagaactcaact<br/> gtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggcgtgtattactgtgcgagac<br/> ttgggggggataattactacgaatactcgtatgtctggggcaagggaaccaggtcacc<br/> gtctctccgctagcaccaaggcccatcgttcttccctggcaccctcctccaagag<br/> cacctctgggggcacagcggcctgggctgcctgggtcaaggactacttccccgagccg<br/> gtgacgggtgtctggaactcagggcgcctgaccagcggcgtgcacacctccggctg<br/> tcctacagtcctcaggactctactcctcagcagcgtgtgtgaccgtgccctccagcagct<br/> tgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagccagcaacaccaagggtgga<br/> caagaaagttagcccaaatctgtgacaaaactcacatgccaccgtgcccagcac<br/> ctgaactcctggggggaccgtcagttcttcttcccccaaaacccaaggacaccctc<br/> atgatctcccggacccttgaggtcacatgcgtgtgtgtggacgtgagccacgaagacc<br/> ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaa<br/> gccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtgtcagcgtcctcaccgtcctg<br/> caccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgaagggtcacaacaaagccctcc<br/> cagccccatcgagaaaacctctccaagccaaggcagccccgagaaccacag<br/> gtgtacaccctgccccatccggggagagatgaccaagaaccaggtcagcctgacct<br/> gcctgtgcaaggcttctatccagcgacatgccgtggagtgggagagcaatgggca<br/> gccgggagaacaactacaagaccagcctccctgctggtgactccgacggctccttctcc<br/> tctacagcaagctcaccgtggacaaagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatg</p> | 30<br>40 |

【 0 1 3 8 】

|                                   |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-----------------------------------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                   |     | ctccgtgatgcattgagcctctgcacaaccactacagcagaagagcctctccctgtctc<br>gggtaaaggcgccgggtggcgggtctggtggtggtggtctggaaggaggaaccgggtca<br>gggtgcaactggtgcagtcggcgaggcggtggtgcagcctggccggagcctgagact<br>gagctgcaaggcctccggctacacctttacaagatacatatgactggtgcagacagg<br>ccctggcaaggcgctggaatggattggctacatcaaccctagccggggatataccaa<br>ctacaaccagaaaagtgaaggacagattcaccatcagcacagataagtccaagtccacc<br>gctttctgcagatggactccctgcgtccagaggacacagctgtgtactactgcgccg<br>gtactacgacgacctactgtctggactactggggacaggggaaccacctgaccgtca<br>gctctggcgccggagggtccggcgagggtggcagcgccggcgccgctgatac<br>cagatgaccacagagcccttcttcttctatctgccagcgtggcgcatagagtaccatcac<br>tgcagcgccagctcttctgttagctacatgaactggtaccagcaaacactgaggaaagg<br>ccctaaaagatggatctacgacaccagcaagctggcctctggcgtgccctctagattca<br>gcggctctggtccggcaccgactacacctttacaattagctccctgcagcccagggat<br>atgccacctactactgccagcagtgaggcagcaacccttcacattcgccaggggca<br>caaagctgcaaatcaccagatgataa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| ヒト IgG1 重鎖 hMNC2 L1 OKT3 scFv     | 104 | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVR<br>QAPGKGLEWVSTISSGGTYIYYPDSVKGRFTISRDNAKN<br>SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLGGDNYEYFDVWGK<br>GTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD<br>YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT<br>VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKDKTHT<br>CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD<br>VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV<br>VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK<br>GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV<br>EWESNGQFPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRV<br>QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSG<br>GGGSGGGTGQVQLVQSGGTVVQPGSRSLRSLCKASGYT<br>FTRYTMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVK<br>DRFTISTDKSKSTAFLLQMDSLRPEDTAVYYCARYYDDH<br>YCLDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQ<br>SPSSLSASVGDRTITSSASSSVSYMNWYQQTGPKAPKR<br>WYDTSKSLASGVPSRFSGSGSGTDYTFITISLQPEDATY<br>YCQQWSSNPFTFGQGTKLQITR**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| ヒト IgG1 重鎖 hMN20A10N L2 OKT3 scFv | 105 | caggctgcagctggttgaatctggcgccggactgtggaagcctggcggaictctgagact<br>gagctgtgccccagcggttcaccttttagcatatcccatgagctggatcagacagg<br>ccctggcaaaaggcctggaatgggtggcgtctattggcagagccggcagcactcata<br>cagcagactgtgaaggcgagattcaccatcagccgggacaacgccaagacagcct<br>gtacctgcagatgaactccctgagagccgaggacaccgccgtgtactattgtgccagag<br>gacctatctacaacgactacgacgagttcgctattggggccaggggcacactgttcaca<br>gtttctagcgctagcaccaaggcccatcggtcttccccctggcacectctccaagagc<br>acctctgggggcacagcgccctgggctgctgggtcaaggactacttccccgagccgg<br>tgacgggtgctgggaactcaggcgccctgaccagcgcggtgcacacctccggctgt<br>cctacagctctcaggactctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgccctccagcagctt<br>gggcaccacagacctatctgcacgtgaatcacaagcccgcaacaccaaggtgga<br>caagaaagtgtgacccaaattctgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcac<br>ctgaactcctggggggaccgtcagttcttcttcccccaaaaacccaaggacacctc<br>atgattctccggaccctgaggtcacatgcgtgggtgggtggacgtgagccacgaagacc<br>ctgagggtcaagttcaactgggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagaaa<br>ggcgccgggaggagcagtlacaacagcagctaccgtgtgtgacgtgtctcaccgtcgt<br>caccaggactgggtgaatggcaagggtacaagtgaagggtctccaacaaaaggccctc<br>cagcccccatcgagaaaaacatctccaaaggccaaaggggcagccccgagaaccacag<br>gtgtacaccttgccccatccggggacgagctgaccaagaaccaggtgcagctgacct<br>gctctgcaaaagccttctatccagcgacatcgccgtggagtgaggaggaagaatggccg |

40

【表 7 - 3 1】

|                                  |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|----------------------------------|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                  |     | <p>gccggagaacaactacaagaccagcctcccgctgctggactccgacggctccttcttc<br/>tctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggaacgtcttctcatg<br/>ctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagccttctccctgtctcc<br/>gggtaaaggcggcggggggagcgggtggtggcggtgtagcaccggtcaggtgcaactgg<br/>tgacgtccggcgaggcgtgggtgcagcctggccggagcctgagactgagctgcaagg<br/>cctccggctacacctttacaagatacactatgcactgggtcagacagggccctggcaag<br/>ggcctggaatggattggctacatcaacctagccggggatataccaactacaaccagaa<br/>agtgaaggacagattcaccatcagcacagataagccaagtcaccgcttctcgcagat<br/>ggactccctgctccagaggacacagctgtgtactactcggccgggtactacgacgac<br/>cactactgtctggactactggggacaggggaaccacctgaccgtcagctctggcgggcg<br/>gaggctccggcgagggtggcagcgggcgggcggtctgatatccagatgaccagc<br/>agcccttctcttctatctgccagcgtggcgatagagtaccatcacatgcagcgccagc<br/>tcttctgttagctacatgaactgggtaccagcaaacacctggaaaggccctaaaagatgg<br/>atctacgacaccagcaagctggcctctggcgtgccctctagattcagcggtctgtgctcc<br/>ggcaccgactacacctttacaattagctccctgcagcccgaggatataccacactactac<br/>tgccagcagtgaggcagcaaccccttcacattcgccagggcacaaagctgcaaatca<br/>ccagatgataa</p>                                                                                                |
| ヒト IgG1重鎖 hMN20A10N L2 OKT3 scFv | 106 | <p>QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWIR<br/>QAPGKGLEWVASIGRAGSTYYSDSVKGRFTISRDNAKN<br/>SLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGPIYNDYDEFAYWGQG<br/>TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY<br/>FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV<br/>PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP<br/>PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS<br/>HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS<br/>VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQ<br/>PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW<br/>ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ<br/>GNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGG<br/>STGQVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTM<br/>HWVRQAPGKLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTIST<br/>DKSKSTAFLQMDSLRPEDTAVYYCARYYDDHYCLDYW<br/>GQGTTTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA<br/>SVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTS<br/>KLASGVPSRFSGSGSGTDYTFITISLQPEDATYYCQQW<br/>SSNPFTFGQGTKLQITR--</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| ヒト IgG1重鎖 hMNC2 L2 OKT3 scFv     | 107 | <p>gaggctcagctgggtggagctcgggggagcctggtcaagcctggggggtccctgaga<br/>ctctcctgtgcagcctctggattcacctcagtggtctatgccatgagctgggtccgccagg<br/>ctcagggaagggtgggtgggtctcaaccattagtagtgccgggaacctacatatac<br/>taccggactcagtgaaaggccgattcaccatctccagagacaacgccaagaactcact<br/>gtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggccgtgtattactgtgcgagac<br/>ttgggggggataattactacgaatacttcgatgtctggggcaaggggaccacggtcacc<br/>gtctctcctcctagcaaccaaggcccatcggtcttccccctggcaccctctccaagag<br/>cacctctgggggcacagcggccctgggctgctgtaaggactacttccccgagccg<br/>gtgacgggtgtcgtggaactcaggcggcctgaccagcggcgtgcacaccttccgggtg<br/>tcctacagtctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagct<br/>tgggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtgga<br/>caagaaaagttgagccaaatctgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccccagcac<br/>ctgaactcctggggggaccgtcagttctcttcccccaaaacccaaggacacctc<br/>atgatctccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc<br/>ctgaggtcaagttcaactgtgtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaa<br/>gccgcggggaggagcagtaacagcacgtaccgtgtgtgtagcgtctcaccgtcctg<br/>caccaggactggctgaatggcgaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaagccctcc<br/>cagccccatcgagaaaaccatctccaaaggcaaggcgagccccgagaaccacag</p> |

【 0 1 4 0 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 3 2】

|                                         |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------------------------------------|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                         |     | gtgtacacctgcccccacccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacct<br>gctgtgtcaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggca<br>gccggagaaactacaagaccacgctcccgtgctggactccgagcgctctcttcc<br>tctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatg<br>ctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcc<br>gggtaaggcgccggggggggcggtgggtggcggtagcaccgggtcaggtgcaactgg<br>tgcagtccggcgaggcgtgtgtcagcctggccggagcctgagactgagctgcaagg<br>cctccggctacacctttacaagatacactatgactgggtcagacagggccctggcaag<br>ggcctggaatggattggctacatcaaccctagccggggatatacactacaaccagaa<br>agtgaaggacagattcaccatcagcacagataagtcgaagtcaccgttctctgagat<br>ggactccctgcgtccagagacacagctgtgtactactgcgccgtactacgacgac<br>cactactgtctgactactggggacagggaaccacctgacctcagctctggcggcg<br>gaggctccggcgagggtggcagcgccggcgggcgtctgatatccagatgaccag<br>agcccttctctatctgccagcgtggcgatagagtacatcacatgcagcgccagc<br>tcttctgttagctacatgaactgtgtaccagcaaacacctggaaaggccctaaaaagatg<br>atctacgacacagcaagctggcctctggcgtgcctctagattcagcgctctggctcc<br>ggcaccgactacacctttacaattagctccctgcagcccaggatagccacctactac<br>tgccagcagtgaggagcaaacccctcacattggccagggcacaaagctgcaaatca<br>ccagatgataa |
| ヒト IgG1重<br>鎖 hMNC2 L2<br>OKT3 scFv     | 108 | EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVR<br>QAPGKGLEWVSTISSGGTYIYYPDVKGRFTISRDNAKN<br>SLYLQMNLSRAEDTAVYYCARLGGDNYYEYFDVWGK<br>GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKD<br>YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT<br>VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT<br>CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD<br>VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV<br>VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAK<br>GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV<br>EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSLKTVDSRW<br>QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG<br>GGSTGQVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYT<br>MHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQVKDRFTI<br>STDKSKSTAFLLQMSLRPEDTAVYYCARYYDDHYCLD<br>YWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSL<br>SASVGDRTVITCSASSVSVMNWWYQTPGKAPKRWIYD<br>TSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTFITISLQPEDATYYCQQ<br>WSSNPFTFGQGTKLQITR**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| ヒト IgG1重<br>鎖 hMN20A10N<br>L1 12F6 scFv | 109 | caggtgcagctggtgaaatctggcggcgactgtgaagcctggcggatctctgagact<br>gagctgtgccccagcggcttcaccttagcacatagccatgagctggatcagacagg<br>cccttgccaaaggcctggaatgggtggcgtctattggcagagccggcagcactacta<br>cagcgactctgtgaaggcgagattcaccatcagccgggacaacgccaagaacagcct<br>gtacctgcagatgaactccctgagagccgaggacaccgccgtgtactattgtgccagag<br>gacctatcacaacgactacgacgagttcgctattggggccagggcacactgtgcaca<br>gtttctagcgtagcacaaggcccatcggtcttcccctggcaccctctctcaagagc<br>acctctgggggcacagcggccctgggtgcctggtaaggactacttccccgagccgg<br>tgacgggtgtgtgaactcagcgccctgaccagcggcgtgcacacctcccgggtgt<br>cctacagtcctcaggactctactcctcagcagcgtgggtgacctgacctccagcagett<br>gggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagccagcaacaccaaggtgga<br>caagaaagttagcccaaatctgtgacaaaactcacatgcccaccgtgccagcac<br>ctgaactcctgggggacgtcagttctctcttcccccaaaaccaaggacacctc<br>atgatctccggacccctgaggtcacatgcgtgggtggagctgagccacgaagacc<br>ctgaggtcaagttcaactggtacgtggcggcgtggaggtgcataatgccaagacaaa<br>gccgcgggaggagcagtaaacagcacgtaccgtgtgtcagcgtctcaccgtcctg                                                                                                                                              |

10

20

30

40

【 0 1 4 1 】

[illegible]

40

50

|                                              |            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|----------------------------------------------|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                              |            | <p>ctgagggtcaaggttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaa<br/> gccgcgggaggagcagtagacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctaccgtctgt<br/> caccaggagctggctgaatggcaaggagtacaagtgcgaaggctccaacaaagccctcc<br/> cagcccccatcgagaaaaacatctccaaggccaaggggcagccccgagaaccacag<br/> gtgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagctgacgt<br/> gectgtgcgaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggaggtggagagcaatgggca<br/> gccggagaaactacaagaccacgctcccgtgtggtactccgacggctctcttctcc<br/> tctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaaactgtcttctatg<br/> ctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcc<br/> gggtaaaaggcgggggtggcggttctggtggtggtggctctggaggaggaaacggctc<br/> agtgcagctggtgcagtcggaggaggcgctgcgcagcctggaagaagcctccggct<br/> gagctgcaaggccagcggctatactaccagctacaccatgcactgggtgcggcag<br/> gccccgtgcaaggcctggaatggatcggtacatcaacccttcagcggctacacca<br/> agtacaaccagaaattcaaggaccggtttaccattagcgcgataagagcaagagcac<br/> agcctttctgcagatggacagcctgagaccagaggacaccggcgtgtacttctgcgcc<br/> gtggcaggactacgacgtttatttcgactactggggccagggcaccctgtgacagt<br/> agcagcggcgggcgaggctccggcgagggtggcagcggcgcgcgctgctgata<br/> tccagatgacacagagccccagctctctgtctgtcttctgtgggcgacagagtaccatga<br/> cctgtagagcctcctcaagcgtgtcctacatgcactgtgaccagcaaacacttggcaag<br/> gccccaaaggccttggatctacgccacctctaattcgccagcggcgctgacctatgattc<br/> agcggcagcggatctggcaccgattacacctgaccatcagcagcctgcagccccgag<br/> gatctgccacatactctgccagcagtgaggctcctcctcctccttccggccagggc<br/> accaagctgcagatcacaagatgataa</p> |
| <p>ヒト IgG1 重鎖 hMNC2 L1<br/>12F6 scFv</p>     | <p>112</p> | <p>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVR<br/> QAPGKGLEWVSTISSGGTYIYYPDSVKGRFTISRDNAKN<br/> SLYLQMSNLR AEDTAVYYCARLGGDNYYEYFDVWKG<br/> GTTVTYVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLCLVK<br/> YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT<br/> VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT<br/> CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD<br/> VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRK<br/> VSVLTVLHQDNLWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTIYSKAV<br/> GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV<br/> EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW<br/> QQGNVVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGSG<br/> GGSGGGGTGQVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYT<br/> FTSYTMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFK<br/> DRFTISADKSKSTAF LQMDSLRPEDTGYYFCARWQDYD<br/> VYFDYWGQGTPTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQ<br/> SPSSLSASVGDRTVMTCRASSSVSYMHWYQQTGPKAPK<br/> PWIYATSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDIA<br/> YYCQQWSSNPPTFGQGTKLQITR**</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <p>ヒト IgG1 重鎖 hMN20A10N<br/>L2 12F6 scFv</p> | <p>113</p> | <p>cagggtgcagctggttgaatctggcggcgagactgtgaagcctggcggatctctgagact<br/> gagctgtgccgccagcggccttcaactttagcacatacgcctgagctggatcagacagg<br/> cccctggcaaaaggcctggaatgggtggcgtctattggcagagccggcagcacctacta<br/> cagcgcactctgtgaagggcagattcaccatcagccgggacaaacccaagaacagcct<br/> gtacctgcagatgaactccctgagagccgaggacaccgcccgtgtactattgtgccagag<br/> gacccatctacacgactacgacgagttcgccctattggggccaggggcacactgttcaca<br/> gtttctagcgttagcaccaaaggcccatcgctcttccccctggcaccctcctccaagagc<br/> acctctgggggcacagcggccctgggctgctgtgtcaaggactacttccccgagccgg<br/> tgacgggtgctgtggaactcaggcgccctgaccagcggcggtgcacaccttccggctgt<br/> cctacagtctcaggactctactcctcagcagcgtggtgaccgtgcccctcagcaggtt<br/> gggcaccagacactacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacaaagggtga<br/> caagaaagttgagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgccaccgtgcccgacga</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |

40

【表 7 - 3 5】

|                                   |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |          |
|-----------------------------------|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
|                                   |     | <p>ctgaactctgggggaccgtcagttctcttcccccaaaaccaaggacacctc<br/>atgatctccggacccttgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc<br/>ctgagggtcaagtcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaa<br/>ggcgggggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctaccgtctg<br/>caccaggactggctgaatggcaaggagtagaagtgaagggttccaacaaagccctcc<br/>cagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaggcagccccgagaaccacag<br/>gtgtacacctgccccatccccgggacgagctgaccaagaaccaggtcagctgacct<br/>gacctgtcaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggca<br/>ggcgggagaacaactacaagaccacgctcccggtgctggactccgacggctcttctcc<br/>tctacagcaagctcaccgtggacaagcaggtggcagcaggggaacgtcttctatg<br/>ctccgtgatgataggctctgcacaaccactacacgagaagagcctctccctgtctcc<br/>gggtaaaggcgggggggggagcgggtggtggcggtagcaccggtaagtgcagctgg<br/>tgacgtccggaggagggcgtcgtgcagcctggaaagaagcctccggctgagctgaagg<br/>ccagcggctatatactaccagctacacatgcactgggtgcggcagggccctggcaa<br/>aggcctggaatggatcggctacatcaacctccagcggctacaccaagtacaaccag<br/>aaattcaaggaccgggttaccattagcggcgataagagcaagagcacagcctttctgca<br/>gatggacagcctgagaccagaggacacggcgtgtacttctgccccctggcaggga<br/>ctacgacgtttatttgcactactggggccagggcacccctgtgacagtgagcagcggcg<br/>gcggaggctccggcggaggtggcagcggcggcggcggcgtctgatatccagatgaca<br/>cagagccccagctctgtctgtctgtggcgacagagtgacctgacctgtagagc<br/>ctctcaagcgtgtctacatgcactggtaccagcaaacctggcgaagccccaaagc<br/>cttggatctacgccaccttaatctggccagcggcgtgcttctagattcagcggcagcg<br/>gatctggcaccgattacacctgacctacgacgctgcagcccaggatagtcgccac<br/>atactactgccagcagtgagctccaatctctaccttcggccaggcgaccaagctgc<br/>agatcacaagatgataa</p> | 10       |
| ヒト IgG1 重鎖 hMN20A10N L2 12F6 scFv | 114 | <p>QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWIR<br/>QAPGKGLEWVASIGRAGSTYYSDSVKGRFTISRDAKN<br/>SLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGPIYNDYDEFAYWGQG<br/>TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY<br/>FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV<br/>PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP<br/>PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS<br/>HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS<br/>VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ<br/>PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW<br/>ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ<br/>GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGG<br/>STGQVQLVQSGGQVVPGRSLRLSCKASGYTFTSYTMH<br/>WVRQAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISAD<br/>KSKSTAFLQMDSLRPEDTGYYFCARWQDYDYVYFDYW<br/>GQGTPVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA<br/>SVGDRVTMTCRASSSVSYMHWYQQTPGKAPKPIYAT<br/>SNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQ<br/>WSSNPPTFGQGTQLQITR--</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 20<br>30 |
| ヒト IgG1 重鎖 hMNC2 L2 12F6 scFv     | 115 | <p>gagggtcagctgggtgagctctgggggaggcctggtcaagcctggggggtccctgaga<br/>ctctctctgtgcagcctctggattcaccttcagtggtctatgccaatgagctgggtccgagg<br/>ctccagggaaggggctggagtggtctcaaccattagtagtgccggaacctacataac<br/>taccccgactcagtgaggggcggattcacctctcagagacaacgccaagaactcact<br/>gtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggccgtgtattactgtgcgagac<br/>ttgggggggataattactacgaatactcgtatgtctggggcaaggggaccacgggtcacc<br/>gtctctccgctagcaccaaggggcccatcggtcttccccctggcacccctctccaagag<br/>cacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgagccg<br/>gtgacggtgtcgtggaaactcagcggccctgaccagcggcgtgcacacctccccggctg<br/>tctacagctctcaggactctactcctcagcagcgtggtgaccgtgcctccagcagct</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 40       |

【 0 1 4 4 】

【表 7 - 3 6】

|                                     |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |    |
|-------------------------------------|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
|                                     |     | <p>tgggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtgga<br/> caagaaagttagccaaatctgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcac<br/> ctgaactcctgggggaccgtcagttctcttcccccaaaacccaaggacacctc<br/> atgatctccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtgagctgagccacgaagacc<br/> ctgaggtcaagttaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaa<br/> gccgctgggagggagcagtagacaacagcacgtaccgtgtgtcagcgtcctaccgtcctg<br/> caccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctcaacaagccctcc<br/> cagccccatcgagaaaacctctccaaagccaaggcagccccgagaaccacag<br/> gtgtacacctgccccatccccggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacct<br/> gcctgtgcaaaagccttctatccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggca<br/> gccggagaacaactacaagaccacgcctccgtggtgactccgacggctctcttctcc<br/> tctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatg<br/> ctcctgtgatgcaggtctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctctctctcc<br/> gggtaaaaggcggcggggggagcgggtggtggcggtgacccggtaagtgacgtgg<br/> tgagtcggaggaggcgtcgtgcagcctggaagaagcctccgctgagctgcaagg<br/> ccagcggctatacattaccagctacacatgcactgggtgcggcagggccctggcaa<br/> aggcctggaatgagcggctacatcaaccttccagcggctacaccaagtacaaccag<br/> aaattcaaggaccgggttaccattagcggcgaagagcaagagcacagccttctgca<br/> gatggacagcctgagaccagaggacaccggcgtgctactctgcccgtggcagga<br/> ctacgacgtttatttgcactactggggccaggcaccctgtgacagtgcagcggcg<br/> gcggaggtctccggcgagggtggcagcggcgggcggtctgatatccagatgaca<br/> cagagccccagctctctgtctgtctgtggcgacagagtgacctgacctgtagagc<br/> ctcctcaagcgtgtcctacatgcactggtaccagaaacacctggcaaggcccaaaagc<br/> cttgatctacccaccttaatctggccagcggcgtgccttctagattcagcggcagcg<br/> gatctggcaccgattacacctgacctcagcagcctgcagcccagagatacggcac<br/> atactactgcagcagtgaggctccaatcctctactctcggcagggcaccagctgc<br/> agatcacagaatgataa</p> | 10 |
| ヒト IgG1重<br>鎖 hMNC2 L2<br>12F6 scFv | 116 | <p>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVR<br/> QAPGKGLEWVSTISSGGTYIYYPDSVKGRFTISRDNANK<br/> SLYLQMNSLR AEDTAVYYCARLGDDNYEYFDVWGK<br/> GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKD<br/> YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT<br/> VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTH<br/> CPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD<br/> VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV<br/> VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAK<br/> GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV<br/> EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW<br/> QQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG<br/> GGSTGQVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYFTSYT<br/> MHWVRQAPGKLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTIS<br/> ADKSKSTAF LQMDSLRPEDTG VYFCARWQDYDYFDY<br/> WGQGTPVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLS<br/> ASVGDRVTMTCRASSSVSYMHWYQQTPGKAPKPIYA<br/> TSNLA SGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYCQQ<br/> WSSNPPTFGQGTKLQITR**</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 30 |
| hMNC2 scFv-Fc KNOB                  | 117 | <p>gaggtgcagctggtgagctctgggggaggcctggtcaagcctggggggtccctgaga<br/> ctctcctgtgcagcctctggttacccttcagtggtatgcatgagctgggtccgccagg<br/> ctccagggaagggtggtgagtggtctcaaccattagtagtggggaacctacatatac<br/> taccctgactcagtgaaaggccgattcaccatctccagagacaacgccaagaactcact<br/> gtatctgcaaatgaacagcctgagagccggagacacggcctgtattactgtgcgagac<br/> tgggggggataattactacgaatacttcgatgtctggggcaaggggaccacgggtcacc<br/> gtctctccggcggtggcggtatccggtggtggtggtatccggcggtggtggtatccgac<br/> attgtgctgaccagctctccagcctcttggcgtgtctccaggacagaggccaccatc</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 40 |

【 0 1 4 5 】

【表 7 - 3 7】

|                           |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|---------------------------|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                           |     | <p>acctgcagagccagtaagagtgtcagtagccagcggatactctacatgcactggtatca<br/>gcagaaccaggagacaacctcctaaactcctgatttacctggcaccatctggagagcg<br/>gggtcccagccaggttcagcggcagtggtgtgggaccgatttaccctcacaattaat<br/>cctgtggaagctaatactgatactgcaaatattactgtcagcacagtagggagctgctttca<br/>cattcggcggaggaccaaggtggagatcaaacgaactgagcccaaatctgtgacaa<br/>aactcacacatgcccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagtttcc<br/>tcttcccccaaaaccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgc<br/>gtggtggtggacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttaactggtacgtggacg<br/>gcgtggaggtgcataatgccaagacaagccgcgggaggagcagtacaacagcacg<br/>taccgtgtggtcagcgtcctcaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaaggagta<br/>caagtgaaggtctccaacaaagccctccagccccatcgagaaaaccatctccaaa<br/>gccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccgggagga<br/>gatgaccaagaaccaggtcagcctgtggtgcctgtcaaggcttctatccagcgaca<br/>tcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccagcctc<br/>ccgtgctggactccgacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagc<br/>aggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgatgaggtctgcacaacca<br/>ctacacgcagaagagcctctccctgtctccggtaaatgataa</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| hMNC2 scFv-Fc ノブ          | 118 | <p>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVR<br/>QAPGKGLEWVSTISSGGTYIYYPDSVKGRFTISRDNAKN<br/>SLYLQMNSLRaedTAVYYCARLGGDNYEYFDVWGK<br/>GTTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAVSP<br/>GQRATITCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPELLIY<br/>LASNLESQVPARFSGSGSGTDFLTINPVEANDTANYYC<br/>QHSRELPTFTGGGKVEIKRTEPKSCDKTHTCPPCPAPEL<br/>LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV<br/>KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH<br/>QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV<br/>YTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ<br/>PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS<br/>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK--</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| hMNC2 scFv-Fc ノブ -<br>HIS | 119 | <p>gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcctggtcaagcctggggggtccctgaga<br/>ctctcctgtgcagcctctggattcacctcagtggtatgcatgagctgggtccgccagg<br/>ctccagggaaggggctggagtgggtctcaaccattagtagtgggggaacctacatatac<br/>taccggactcagtgaaaggccgattcaccatctccagagacaacgccaagaactcact<br/>gtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggcgtgtattactgtgcgagac<br/>ttgggggggataattactacgaatactcgtatgtctggggcaaggggaccacggtcac<br/>gtctctccggcgggtggcggatccggcgggtggcggatccggcgggtggcggatccgac<br/>attgtgctgaccagctcagcctccttggcgtgtctccaggacagaggccaccatc<br/>acctgcagagccagtaagagtgtcagtagccagcggatactctacatgcactggtatca<br/>gcagaaccaggagacaacctcctaaactcctgatttacctggcaccatctggagagcg<br/>gggtcccagccaggttcagcggcagtggtgtgggaccgatttaccctcacaattaat<br/>cctgtggaagctaatactgatactgcaaatattactgtcagcacagtagggagctgctttca<br/>cattcggcggaggaccaaggtggagatcaaacgaactgagcccaaatctgtgacaa<br/>aactcacacatgcccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagtttcc<br/>tcttcccccaaaaccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgc<br/>gtggtggtggacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttaactggtacgtggacg<br/>gcgtggaggtgcataatgccaagacaagccgcgggaggagcagtacaacagcacg<br/>taccgtgtggtcagcgtcctcaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaaggagta<br/>caagtgaaggtctccaacaaagccctccagccccatcgagaaaaccatctccaaa<br/>gccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccgggagga<br/>gatgaccaagaaccaggtcagcctgtggtgcctgtcaaggcttctatccagcgaca<br/>tcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccagcctc<br/>ccgtgctggactccgacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagc<br/>aggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgatgaggtctgcacaacca</p> |

【 0 1 4 6 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 3 8】

|                          |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|--------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                          |     | ctacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaaaccggatcatcatcaccatcacca<br>ttgataa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| hMNC2 scFv-Fc ノブ-<br>HIS | 120 | EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVR<br>QAPGKGLEWVSTISSGGTYIYYPDSVKGRFTISRDNKN<br>SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLGGDNYEYFDVWGK<br>GTTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAVSP<br>GQRATITCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIY<br>LASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYC<br>QHSRELPTFTGGGKVEIKRTEPKSCDKTHTCPPCPAPEL<br>LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV<br>KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH<br>QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV<br>YTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ<br>PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS<br>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKTGHHHHHH--                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| hMN20A10N scFv-Fc<br>ノブ  | 121 | caggtgcagctggtgaatctggcggcgactgtgaagcctggcggatctctgagact<br>gagctgtgccgccagcggttcaccttagcacatacgcacatgagctggatcagacagg<br>ccctggcaaaagcctggaatgggtggcgtctattggcagagccggcagcacctacta<br>cagcgactctgtgaagggcagattcaccatcagccgggacacgccaagaacagcct<br>gtacctgcagatgaactccctgagagccgaggacaccgctgtactattgtccagag<br>gacctactacaacgactacgacgagttcgctattggggccaggccacactggtcaca<br>gtttctagcggcggtggcggagcggaggcgggtggtccggtggcggaggcagcga<br>aattgtgtgacacagagcccccgcacactgtcactttctccaggcgaaagagccacac<br>tgagctgcaagagcagccagagcgtgtgtactccagaaccagaagaactacctggc<br>ctggtatcagcagaagcccgccaagctcctcgctgctgtatctattgggcccagcaca<br>gagagagcggcatccctgccagattttctggcagcggtctggcaccgatttcaccctg<br>accataagcagcctggaacctgaggacttcgctgtattactgccaccagtacctgag<br>cagcctgacctttggcggaggcaccaaggtggaatcaagcggagcccaaatctgt<br>gacaaaactcacatgccaccgtgccagcactgaactcctggggggaccgtcag<br>tcttctcttcccccaaacccaaggacacctcatgatctccggaccctgagggtca<br>catcgctggtggtggacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtg<br>gacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgaggaggagcagtacaacag<br>cacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgaccaggactggctgaatggcaagg<br>agtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaacatctcc<br>aaagccaaaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatccccggga<br>ggagatgaccaagaaccaggtcagcctgtggtgctgctcaaggtctatccagcg<br>acatgccctggagtgaggagcaatggcgagccggagaacaactacaagaccacg<br>cctcccgctgtgactccgacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaag<br>agcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctcctgtgatgcatgaggctctgcaca<br>ccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaatgataa |
| hMN20A10N scFv-Fc<br>ノブ  | 122 | QVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWIR<br>QAPGKGLEWVASIGRAGSTYYSDSVKGRFTISRDNKN<br>SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGPIYNDYDEFAYWGQG<br>TLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGE<br>RATLSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQAPRLIY<br>WASTRESGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCH<br>QYLSSLTFGGGKVEIKREPKSCDKTHTCPPCPAPPELLG<br>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF<br>NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ<br>DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY<br>TLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP<br>ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS<br>SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK--                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

【 0 1 4 7 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 3 9】

|                                |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|--------------------------------|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| hMN20A10N scFv-Fc<br>ノブ -HIS   | 123 | <p>caggtgcagctgggtgaatctggcggcgactgtgaagcctggcggatctctgagact<br/>gagctgtgccgccagcggcttcaccttagcacatagccatgagctggatcagacagg<br/>ccctggcgaaggcctgggaatgggtggcgcttattggcagagccggcagcacctacta<br/>cagcgactctgtgaaggcgagattaccatcagccgggacaacgccaagaacagcct<br/>gtacctgcagatgaactccctgagagccgagggacaccgctgtactattgtccagag<br/>gacctatctaacgactacgacgagttcgctattggggccagggcacactggtcaca<br/>gttttagcggcggtggcggaagcggagggcggtggtccgggtggcggaggcagcga<br/>aatgtgctgacacagagcccgccacactgtcactttctccaggcgaaagagccacac<br/>tgagctgcaagagcagccagagcgtgctgtactccagcaacagaagaactacgtggc<br/>ctggtatcagcagaagcccgcccaagctcctcggtgctgactattggccagcacaa<br/>gagagagcggcgatccctgccagattttctggcagcggctctggcaccgattccacctg<br/>accataagcagcctggaacctgaggacttcgctgtattactgccaccagtacctgag<br/>cagcctgacctttggcggaggcaccaggtggaaatcaagcgggagcccaaatctgt<br/>gacaaaactcacatgcccaccgtgccagcactgaactcctggggggagcgtcag<br/>tcttctcttcccccaaaacccaaggacacctcatgatctccggacctgtgagtgca<br/>catgctgggtgggtgagctgagccacgaagacctgaggtcaagtcaactggtagctg<br/>gacggcggtggaggtgcataatgccaagacaaagccggggaggagcagtacaacag<br/>cacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgaccaggactggctgaatggcaagg<br/>agtacaagtgcagggtctccaacaagccctccagcccccatcgagaaaacatctcc<br/>aaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccgga<br/>ggagatgaccaagaaccaggtcagcctgtgtgctgtgtaaaaggcttctatccagcg<br/>acatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccag<br/>cctccctgtgctggactccgacggtccttctctctacagcaagctaccgtggacaag<br/>agcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctcgtgatgaggtctgcacaa<br/>ccactacagcagaagagcctctcctgtctccgggtaaaacgggtcatcatcaccatca<br/>ccattgataa</p> |
| hMN20A10N scFv-Fc<br>ノブ -HIS   | 124 | <p>QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWIR<br/>QAPGKGLEWVASIGRAGSTYYSDSVKGRFTISRDNAKN<br/>SLYLQMNLSRAEDTAVYYCARGPIYNDYDEFAYWGQG<br/>TLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGE<br/>RATLSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQAPRLIY<br/>WASTRESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCH<br/>QYLSSTFGGGTKVEIKREPKSCDKTHTCPPCPAPELIG<br/>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF<br/>NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ<br/>DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVY<br/>TLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP<br/>ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC<br/>SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGTGHHHHHHH--</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| OKT3 scFv-Fc ホール -<br>STREPTAG | 125 | <p>caggtgcaactgggtgcagtcggcgaggcgtgggtgcagcctggcggagcctgaga<br/>ctgagctgcaaggcctccggctacacctttacaagatacactatgcactgggtcagaca<br/>ggccccggcgaaggcctgggaatggattggctacatcaacctagccggggatatacc<br/>aactacaaccagaaagtgaaggacagattaccatcagcacagataagtccaagtcca<br/>ccgcttctctcagatggactcctcgctccagaggacacagctgtgtactatgcgcc<br/>ggtactacgacgaccactactgtctgactactggggacagggaaccacctgacctga<br/>cagctctggcgcgaggctccggcgagggtggcagcggcgcgcgcggtctgata<br/>tccagatgaccagagcccttctcttatctgccagcgtggcgatagagtaccatca<br/>catgcagcgccagctcttctgttagctacatgaactggtaccagcaaacacctggaaa<br/>ggccccaaaagatggatctacgacaccagcaagctggcctctggcgtgcccctagatt<br/>cagcggtctggtcggcaccgactacacctttacaattagctccctgcagcccgagg<br/>atatcgccacctactactgccagcagtgaggcagcaacccttcaacattcgccagggc<br/>acaaagctgcaaatcaccagagagcccaaatctgtgacaaaactcacatgccacc</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |

【 0 1 4 8 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 4 0】

|                                |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|--------------------------------|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                |     | gtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagttctctctcccccaaaaccca<br>aggacacctcatgatctccggacccctgaggtcacatgcgtggtggtgacgtgag<br>ccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataat<br>gccaagacaaaagccggggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtgtcagcgtc<br>ctcaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcagggtctcca<br>acaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcccc<br>gagaaccacaggtgtacacctgcccccatccccggaggagatgaccaagaaccagg<br>tcagcctgagctgcgcgtcaaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtggga<br>gagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccgtgctggactccga<br>cggctccttctctcgtgagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggg<br>aacgtcttctcatgctccgtgatgatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagc<br>ctctccctgtctccgggtaaaaccggttgaggccatcctcagttcgaaaagtataa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| OKT3 scFv-Fc ホール -<br>STREPTAG | 126 | QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISTDKS<br>KSTAFQLQMDSLRPEDTAVYYCARYYDDHYCLDYWGQ<br>GTTLTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASV<br>GDRVITITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTSKL<br>ASGVPSRFSGSGSGTDYFTFTISLQPEDATYYCQQWSSN<br>PFTFGQGTQKLQITREPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF<br>LFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV<br>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG<br>KEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSR<br>EEMTKNQVSLSCAVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKT<br>TPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA<br>LHNHYTQKSLSLSPGKGTGWSHPQFEK--                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 12F6 scFv-Fc ホール -<br>STREPTAG | 127 | caagtgcagctggtgagtcctggaggaggcgtcgtgagcctggaagaagcctccgg<br>ctgagctgcaaggccagcggctatactaccagctacaccatgactgggtgcggc<br>aggccccctgcaaaagcctggaatggatcggctacatcaaccttccagcggctacac<br>caagtacaaccagaataaaggaccggtttaccattagcggcgataagagcaagagc<br>acagcctttctgcagatggacagcctgagaccagaggacaccggcgtgtacttctgcgc<br>ccgctggcaggactacgacgtttatctgactactggggccagggcacccctgtgacag<br>tgagcagcggcggcggaggctccggcggaggtggcagcggcggcggcggcgtctga<br>tatccagatgacacagagccccagctctctgtctgtctgtgggcgacagagtgaccat<br>gacctgtagagcctctcaagcgtgtcctacatgactgtaccagcaaacacctggca<br>aggccccaaagccttgatctacgccactctaactgtggcagcggcgtgccttctagat<br>tcagcggcagcggatctggcaccgattacacctgaccatcagcagcctgcagccccga<br>ggatatcgccacatactactgccagcagtgagctccaatctctaccttcggccagg<br>gcaccaagctgcagatcacaaagagagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgcc<br>accgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagttctcttcccccaaac<br>ccaaggacacctcatgatctccggacccctgaggtcacatgcgtggtggtgagcgtg<br>agccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcata<br>atgccaagacaaaagccggggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtgtcagcg<br>tctcaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcagggtctcc<br>aacaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccc<br>cgagaaccacaggtgtacacctgccccatccccggaggagatgaccaagaaccag<br>gtcagcctgagctgcgcgtcaaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtggg<br>agagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccgtgctggactccg<br>acggctccttctctcgtgagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggg<br>gaacgtcttctcatgctccgtgatgatgaggtctgcacaaccactacacgcagaaga<br>gcctctccctgtctccgggtaaaaccggttgaggccatcctcagttcgaaaagtataa |
| 12F6 scFv-Fc ホール -<br>STREPTAG | 128 | QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTSYTMHWV<br>RQAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISADKSK<br>STAFQLQMDSLRPEDTGVYFCARWQDYDVFYFDYWGGQ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

10

20

30

40

【 0 1 4 9 】

50

【表 7 - 4 1】

|  |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--|--|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  | TPVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVG<br>DRVMTMTCRASSSVSYMHWYQQTPGKAPKPWIYATSNL<br>ASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDATYYCQQWSS<br>NPPTFGQGTKLQITREPKSCDKTHTCPPCPAPELLGSPV<br>FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY<br>VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN<br>GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS<br>REEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK<br>TTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE<br>ALHNHYTQKSLSLSPGKTGWSHPQFEK-- |
|--|--|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

10

## 【0150】

一部の実施形態では、抗体は、フラグメント結晶化可能（Fc）領域をさらに含む。一部の実施形態では、Fc領域は、IgG CH2ドメインおよびIgG CH3ドメインを含む。一部の実施形態では、Fc領域は、ヘテロ二量体Fc領域を含む。一部の実施形態では、ヘテロ二量体Fc領域は、（例えば、ヒト）IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4ドメインを含む。一部の実施形態では、ヘテロ二量体Fc領域は、（例えば、ヒト）IgG1ドメインを含む。一部の実施形態では、ヘテロ二量体Fc領域は、（例えば、ヒト）IgG2ドメインを含む。一部の実施形態では、ヘテロ二量体Fc領域は、（例えば、ヒト）IgG3ドメインを含む。一部の実施形態では、ヘテロ二量体Fc領域は、（例えば、ヒト）IgG4ドメインを含む。

20

## 【0151】

一部の実施形態では、ヘテロ二量体Fc領域は、ノブ鎖およびホール鎖を含み、ノブイントホール（KIH）構造（Spiess et al. Molecular Immunology 67, 95-106（2015）フォーマットを形成する。一部の実施形態では、ノブ鎖は、（例えば、ヒト）IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4ドメインを含む。一部の実施形態では、ノブ鎖は、（例えば、ヒト）IgG1ドメインを含む。一部の実施形態では、ノブ鎖は、（例えば、ヒト）IgG2ドメインを含む。一部の実施形態では、ノブ鎖は、（例えば、ヒト）IgG3ドメインを含む。一部の実施形態では、ノブ鎖は、（例えば、ヒト）IgG4ドメインを含む。一部の実施形態では、ホール鎖は、（例えば、ヒト）IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4ドメインを含む。一部の実施形態では、ホール鎖は、（例えば、ヒト）IgG1ドメインを含む。一部の実施形態では、ホール鎖は、（例えば、ヒト）IgG2ドメインを含む。一部の実施形態では、ホール鎖は、（例えば、ヒト）IgG3ドメインを含む。一部の実施形態では、ホール鎖は、（例えば、ヒト）IgG4ドメインを含む。

30

## 【0152】

一部の実施形態では、標的細胞はがん細胞である。一部の実施形態では、がんは、乳がん、結腸がん、前立腺がん、膵がん、または肺がんである。

## 【0153】

一部の実施形態では、抗体は、MUC1\*を表面上に発現するがん細胞に結合する。

40

## 【0154】

本発明の抗体がどのように二重特異性抗体に組み込まれ得るかの一例として、KIH（Spiess et al. Molecular Immunology 67, 95-106（2015））としても既知のノブイントホール（knob-in-hole）を用いた二重特異性抗体を構築した。この例では、抗体の第1のアームは、14616ヒトフレームワーク領域を有する、hu20A10としても既知のヒト化抗MUC1\*抗体20A10であり、抗体の第2のアームは、抗CD3抗体OKT3または12F6のいずれかであり、これらはどちらもヒトT細胞上の同じエピトープに結合する。得られた二重特異性抗体を、20A10-OKT3-BITEおよび20A10-12F6-BITEと称

50

する。機能の証明では、ヒトT細胞とMUC1\*陽性がん細胞の両方が存在する培養細胞に、二重特異性抗体を様々な濃度で添加する。ある場合には、がん細胞はT47D乳がん細胞であり、他の場合には、MUC1\*陰性株HCT-116結腸がん細胞は、HCT-MUC1\*と称されるMUC1\*を発現するように形質導入されている。図1A~1L、図2A~2L、図3A~3Lおよび図4A~4Lに示される写真に見られるように、いずれかの二重特異性抗体の添加により、二重特異性の用量依存的な細胞クラスタ形成によって証明されるように、T細胞とMUC1\*陽性がん細胞の結合を媒介した。2つの対照実験を行った。一方の対照では、二重特異性抗体を添加しない。別の対照では、MUC1\*がん細胞のみが存在する。クラスタリングは認められない。別の対照では、二重特異性抗体をMUC1\*陽性のがん細胞に添加するが、T細胞は存在しない。さらに、がん細胞の死滅化を定量化した。20A10が腫瘍細胞表面でMUC1\*の細胞外ドメインに結合する抗MUC1\*標的化二重特異性抗体と、OKT3と称される抗CD3抗体の細胞毒性を、LDH細胞毒性アッセイを用いて測定した。LDH細胞毒性アッセイがどのように機能するかを描写する漫画が示されており（図1M）、A490における測定値が高いほど、細胞死滅率が高いことを示している。図1Nは、20A10-OKT3、抗MUC1\*/抗CD3二重特異性抗体の濃度の関数としての細胞死滅のグラフを示す。グラフに見られるように、第2のアームが、T細胞上のCD3もしくは他の表面分子に結合する抗体または抗体フラグメントである、二重特異性抗体に組み込んだ20A10は、MUC1\*陽性腫瘍細胞を強力に死滅させる。標的がん細胞の分析に加えて、T細胞も分析した。周知のように、活性化CD8陽性の細胞傷害性T細胞は、活性化およびプライミングされて死滅すると、インターフェロンガンマ（IFN-g）を分泌する。T細胞から馴化培地へのIFN-gの分泌をELISAアッセイで測定した（図1O）。図に見られるように、IFN-gの最大半量分泌は、12.3 ng/mLという低い二重特異性濃度で達成される。また、活性化T細胞は、TNF-αを馴化培地に分泌する。TNF-αのELISA測定でも、20A10-CD3二重特異性抗体の12.3 ng/mLという非常に低い濃度で最大半量の分泌が示されている（図1P）。

10

20

30

40

50

【0155】

さらに別の例では、MUC1\*陽性がん細胞の細胞外ドメインに結合するための20A10と、T細胞に結合するための抗CD3抗体12F6とを用いて、抗MUC1\*/抗CD3二重特異性抗体が構築される。図2A~2Lに示される写真に見られるように、いずれかの二重特異性抗体の添加により、二重特異性の用量依存的な細胞クラスタ形成によって証明されるように、T細胞とMUC1\*陽性がん細胞の結合を媒介した。2つの対照実験を行った。一方の対照では、二重特異性抗体を添加しない。別の対照では、MUC1\*がん細胞のみが存在する。クラスタリングは認められない。別の対照では、二重特異性抗体をMUC1\*陽性のがん細胞に添加するが、T細胞は存在しない。さらに、がん細胞の死滅化を定量化した。20A10が腫瘍細胞表面でMUC1\*の細胞外ドメインに結合する抗MUC1\*標的化二重特異性抗体と、12F6と称される抗CD3抗体の細胞毒性を、LDH細胞毒性アッセイを用いて測定した。LDH細胞毒性アッセイがどのように機能するかを描写する漫画が示されており（図2M）、A490における測定値が高いほど、細胞死滅率が高いことを示している。図2Nは、20A10-12F6、抗MUC1\*/抗CD3二重特異性抗体の濃度の関数としての細胞死滅のグラフを示す。グラフに見られるように、第2のアームが、T細胞上のCD3もしくは他の表面分子に結合する抗体または抗体フラグメントである、二重特異性抗体に組み込んだ20A10は、MUC1\*陽性腫瘍細胞を強力に死滅させる。標的がん細胞の分析に加えて、T細胞も分析した。周知のように、活性化CD8陽性の細胞傷害性T細胞は、活性化およびプライミングされて死滅すると、インターフェロンガンマ（IFN-g）を分泌する。T細胞から馴化培地へのIFN-gの分泌をELISAアッセイで測定した（図2O）。図に見られるように、IFN-gの最大半量分泌は、50 ng/mLという低い二重特異性濃度で達成される。また、活性化T細胞は、TNF-αを馴化培地に分泌する。TNF-αのELISA測定でも、20A10-CD3二重特異性抗体の200 ng/mLという非常に低い濃度で最

大半量の分泌が示されている（図 2 P）。12F6 と組み合わせた 20A10 と、OKT3 と組み合わせた 20A10 との有効性の差は、抗 MUC1\* / 抗 T 細胞の抗力が、2 つの抗体それぞれの親和性および特異性によって調整されることを示している。

【0156】

さらに別の例では、抗 MUC1\* 抗体 20A10 を抗 CD3 抗体フラグメントと対にして、HCT-MUC1\* と称される、MUC1\* を発現するように形質導入された MUC1\* 陰性株である HCT-116 結腸がん細胞の死滅について試験する。ある場合には、T 細胞に結合するための抗体フラグメントは OKT3 である。別の場合、抗 CD3 抗体は 12F6 である。図 3 A ~ 3 L (OKT3) および図 4 A ~ 4 L (12F6) の写真に見られるように、いずれかの二重特異性抗体の添加により、二重特異性の用量依存的な細胞クラスタ形成によって証明されるように、T 細胞と MUC1\* 陽性がん細胞の結合を媒介した。2 つの対照実験を行った。一方の対照では、二重特異性抗体は添加されないが、T 細胞および MUC1\* ががん細胞の両方が存在する。クラスタリングは認められない。別の対照では、二重特異性抗体を MUC1\* 陽性のがん細胞に添加するが、T 細胞は存在しない。

10

【0157】

抗体-薬剤コンジュゲート

抗体-薬剤コンジュゲート (ADC) により、特定の細胞および / または組織への治療剤の標的化送達を可能となる。ある実施形態では、ADC は、トポイソメラーゼ (例えば、トポイソメラーゼ I (Topo I)) を阻害するか、またはチューブリン産生を阻害することができる薬剤 (例えば、治療剤) を含む。

20

【0158】

別の態様では、本明細書には、コンジュゲート、例えば、抗体-薬剤コンジュゲートが提供される。ADC は、(X として表される) 治療剤、(L として表される) ; 連結部分 (linking moiety)、(R として表される) 結合部分、およびシステインのチオール基による求核攻撃によって抗体 (

【0159】

【化 18】

Ab

30

として表される) への (Z として表される) コンジュゲート部分を含む。一部の実施形態では、L リンカーの細胞内切断により、

【0160】

【化 19】

Ab

からの治療剤 X の分離が可能となり、これにより、治療剤 X の細胞への取込みまたは組織保持を促進する。

40

【0161】

ある実施形態では、ADC は、式 (I) :  $[Ab] - [Z - L - R - X]_y$  を含み、式中、X は、トポイソメラーゼ I を阻害することができる化合物またはチューブリン形成を阻害することができる化合物から誘導される部分であり、R は結合部分であり、L は、N 末端に結合した Z および C 末端に結合した R を有する、ジペプチドまたはトリペプチドまたはテトラペプチド結合部分であり、 $[Ab]$  は、3 つの重鎖 (HC) 相補性決定領域 (CDR) : MUC1\* HC-CDR1、MUC1\* HC-CDR2、および MUC1\* HC-CDR3 を含んだ抗 MUC1\* 結合ドメインを含む抗体であり、ここで、MUC1\* 結合ドメインの MUC1\* HC-CDR1、MUC1\* HC-CDR2、および MUC1\* HC-CDR3 が、表 1 に示されるものから選択されるアミノ酸配列を

50

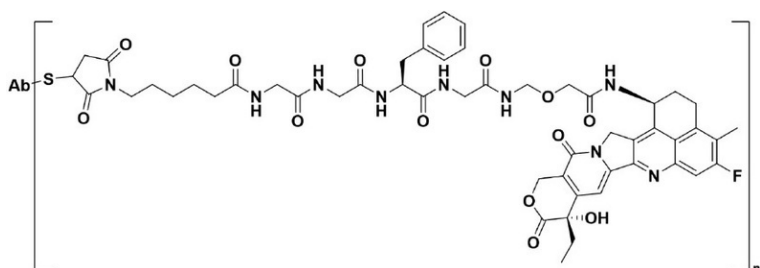
含み、MUC1\*結合ドメインが、3つの軽鎖（LC）相補性決定領域（CDR）：MUC1\* LC-CDR1、MUC1\* LC-CDR2、およびMUC1\* LC-CDR3を含み、MUC1\*結合ドメインのMUC1\* LC-CDR1、MUC1\* LC-CDR2、および前MUC1\* LC-CDR3が、表1に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含み、Zは、システイン残基の硫黄原子と共有結合を形成することができるコンジュゲート部分であり、yは、1～10の整数である。

【0162】

ADCは、以下に提供される構造：

【0163】

【化20】



10

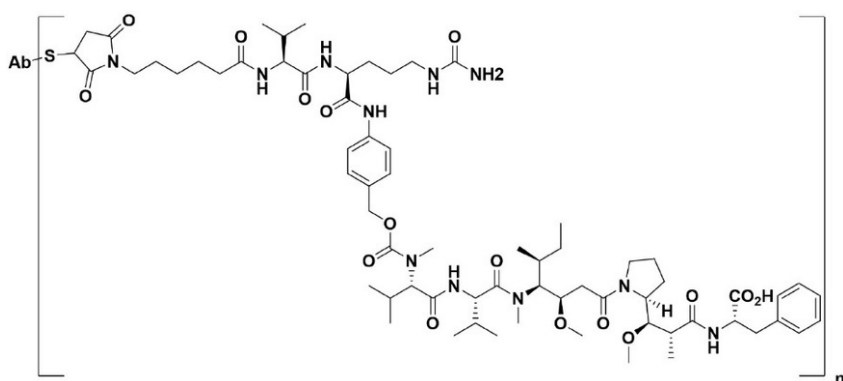
を含み、式中、nは1～10である。

【0164】

ADCは、以下に提供される構造：

【0165】

【化21】



30

を含み、式中、nは1～10である。

【0166】

ADCの有効性は、薬剤対抗体比、すなわちDARによって部分的に左右される。基本的に、抗体に結合させる毒素が多いほど、細胞死滅は増加する。しかし、抗体に結合させる毒素が多すぎると、抗体を不安定化させるか、または抗体と標的抗原との間の相互作用を立体的に妨害するおそれがある。疎水性相互作用クロマトグラフィ（HIC）は、抗体-薬剤コンジュゲート（ADC）の薬剤-抗体比（DAR）を決定するために用いられる生物学的分析技術である。高圧液体クロマトグラフィ（HPLC）システム上のHICカラムを、塩グラジエント緩衝剤を用いたADCの分析および特性評価のために使用する。HICは、その表面疎水性の違いに応じてタンパク質を分離し、抗体に結合する薬剤が多いほど、保持時間は長くなる。図30～35は、いくつかの毒性ペイロードにコンジュゲートされたMNC2のバッチおよびMN20A10のバッチについてのHICクロマトグラム、ならびにそれぞれに対応する計算されたDARを示す。

40

【0167】

ある実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは1～20に及ぶ。ある実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは1～15に及ぶ。あ

50

る実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは1～10に及ぶ。ある実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは1～8に及ぶ。ある実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは1～7に及ぶ。ある実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは1～6に及ぶ。ある実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは1～5に及ぶ。ある実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは1～4に及ぶ。

#### 【0168】

ある実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは、約1、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、約10、約11、または約12である。一部の実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは、約3.1、約3.2、約3.3、約3.4、約3.5、約3.6、約3.7、約3.8、または約3.9である。一部の実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは、約7.1、約7.2、約7.3、約7.4、約7.5、約7.6、約7.7、約7.8、約7.9、または約8.0である。

10

#### 【0169】

一部の実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは約1である。一部の実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは約2である。一部の実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは約3である。一部の実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは約4である。一部の実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは約3.8である。一部の実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは約5である。一部の実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは約6である。一部の実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは約7である。一部の実施形態では、本明細書に提供されるコンジュゲートのDARは約8である。

20

#### 【0170】

ある実施形態では、コンジュゲート反応中、理論最大単位よりも少ない単位がポリペプチド、例えば、抗体にコンジュゲートされる。

#### 【0171】

ある実施形態では、単位に結合するアミノ酸は、抗体の重鎖中にある。ある実施形態では、単位に結合するアミノ酸は、抗体の軽鎖中にある。ある実施形態では、単位に結合するアミノ酸は、抗体のヒンジ領域中にある。ある実施形態では、単位に結合するアミノ酸は、抗体のFc領域中にある。ある実施形態では、単位に結合するアミノ酸は、抗体の定常領域（例えば、重鎖のCH1、CH2、もしくはCH3、または軽鎖のCH1）中にある。さらに別の実施形態では、単位または薬剤単位に結合するアミノ酸は、抗体のVHフレームワーク領域中にある。さらに他の実施形態では、単位に結合するアミノ酸は、抗体のVLフレームワーク領域中にある。

30

#### 【0172】

本明細書に記載のコンジュゲートの調製により、ポリペプチド（すなわち、不均質）、例えば、抗体に結合した1つまたは複数の単位が分布した、コンジュゲートの混合物がもたらされ得ることを理解すべきである。個々のコンジュゲート分子は、混合物中で質量分析により同定され得、HPLC、例えば疎水性相互作用クロマトグラフィにより分離される。ある実施形態では、単一のDAR（負荷）値を有する均質なコンジュゲートは、電気泳動またはクロマトグラフィによりコンジュゲート混合物から単離され得る。

40

#### 【0173】

本開示は、細胞毒素にコンジュゲートされたMUC1\*に対するモノクローナル抗体またはその抗原結合断片を含む抗体-薬剤コンジュゲート（ADC）を提供する。本明細書で使用される場合、「抗体-薬剤コンジュゲート」という用語は、化学リンカーを介して細胞毒性剤（概して全身毒性の高い低分子薬剤）に結合したモノクローナル抗体（mAb）を含む化合物を指す。一部の実施形態では、ADCは、リンカーを含むように化学的に修飾された低分子細胞毒素を含み得る。次いで、リンカーを使用して、細胞毒素を抗体ま

50

たはその抗原結合フラグメントにコンジュゲートする。細胞の表面で標的抗原に結合すると、ADCは、内在化され、リソソームへ輸送され、そこで細胞毒素は、（例えば、リソソーム中に見出されるカテプシンBによる）開裂型リンカーのタンパク質分解により、または非開裂型リンカーを介して細胞毒素に結合している場合は抗体のタンパク質分解により放出される。次いで、細胞毒素はリソソームから細胞ゾルまたは細胞核へ移動し、そこで次に、その作用機序に応じて、標的に結合することができる。

本明細書に記載の抗体-薬剤コンジュゲートは、全抗体または抗体フラグメントを含んでもよい。親抗体は、マウス、ウサギ、ヒト、ヒト化、ラクダ科動物または他の種であり得る。

#### 【0174】

ADCは抗体の抗原結合フラグメントを含んでもよい。「抗体フラグメント」、「抗原結合フラグメント」、「抗体の機能的フラグメント」、および「抗原結合部分」という用語は、本明細書において互換的に使用され、抗原に特異的に結合する能力を保持する抗体の1つまたは複数のフラグメントまたは部分を指す（一般的には、Holliger et al., Nat. Biotech., 23 (9): 1126-1129 (2005)を参照）。抗体フラグメントは、例えば、1つまたは複数のCDR、可変領域（もしくはその部分）、定常領域（もしくはその部分）、またはそれらの組合せを含んでもよい。抗体フラグメントの例としては、(i) VL、VH、CL、およびCH1ドメインからなる一価フラグメントであるFabフラグメント、(ii) ヒンジ領域でジスルフィド架橋により結合した2つのFabフラグメントを含む二価フラグメントである、F(ab')<sub>2</sub>フラグメント、(iii) 抗体の単一アームのVLおよびVHドメインからなるFvフラグメント、(iv) 2つのドメインが単一のポリペプチド鎖として合成されることを可能にする合成リンカーにより連結されたFv断片の2つのドメイン（すなわち、VLおよびVH）からなる一価分子である、単鎖Fv(scFv)（例えば、Bird et al., Science, 242: 423-426 (1988)、Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 5879-5883 (1988)、およびOsbourne et al., Nat. Biotechnol., 16: 778 (1998)を参照されたい）、および(v) ポリペプチド鎖の二量体であるダイアボディであって、各ポリペプチド鎖が、同じポリペプチド鎖上のVHとVLとを対合させるには短すぎるペプチドリンカーによって、VLに結合されたVHを含み、それにより、異なるVH-VLポリペプチド鎖上の相補性ドメイン間の対合を促進して、2つの機能的抗原結合部位を有する二量体分子を生成する、ダイアボディが挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0175】

細胞毒素および細胞毒性剤という用語は、細胞の機能を阻害もしくは防止し、かつ／または細胞の破壊（細胞死）を引き起こし、かつ／または抗増殖効果を発揮する任意の分子を指す。ADCの細胞毒素または細胞毒性剤は、当技術分野ではADCの「ペイロード」とも称されることが理解されよう。いくつかのクラスの細胞毒性剤は、ADC分子において潜在的な有用性を有することが当技術分野では既知であり、本明細書に記載のADCにおいて使用することができる。このようなクラスの細胞毒性剤としては、例えば、抗微小管剤（例えば、アウリスタチンおよびマイタンシノイド）、ピロロベンゾジアゼピン(PBD)、RNAポリメラーゼII阻害剤（例えば、アマトキシン）、およびDNAアルキル化剤（例えば、インドリノベンゾジアゼピン擬似二量体）が挙げられる。本明細書に記載のADCに使用され得る特定の細胞毒性剤の例としては、アマニチン、アウリスタチン、カリケアマイシン、ダウノマイシン、ドキソルビシン、デュオカルマイシン、ドラスタチン、エンジイン、レキシトロブシン、タキサン、ピューロマイシン、マイタンシノイド、ピンカアルカロイド、チューブリシン、およびピロロベンゾジアゼピン(PBD)が挙げられるが、これらに限定されない。より具体的には、細胞毒性剤は、例えば、AFP、MMAF、MMAE、AEB、AEVB、アウリスタチンE、パクリタキセル、ドセタキセル、CC-1065、SN-38、トポテカン、モルホリノドキソルビシン、リゾキ

10

20

30

40

50

シン、シアノモルホリノドキシソルピシン、ドラスタチン10、エキノマイシン、コンブレタスタチン、カリケアマイシン、マイタンシン、DM1、DM4、ビンブラスチン、メトトレキサート、ネトロブシン、またはそれらの誘導体もしくは類似体であってもよい。

【0176】

アウリスタチンは、良好な耐量で実質的な前臨床活性を示した非常に強力な抗有糸分裂剤のクラスである。本明細書に記載のADCに関連して使用され得るアウリスタチンの例としては、モノメチルアウリスタチンE (MMAE) および関連分子モノメチルアウリスタチンF (MMAF) が挙げられるが、これらに限定されない。

【0177】

一実施形態では、細胞毒性剤は、ピロロベンゾジアゼピン (PBD) またはPBD誘導体であり得る。PBDは細胞核に移動し、そこでDNAを架橋し、有糸分裂中の複製を阻止し、単鎖切断を誘導することによってDNAを損傷し、その後アポトーシスをもたらす。一部のPBDはまた、DNAの特定の配列を認識し、それに結合する能力を有する。

【0178】

本明細書に記載のモノクローナル抗体は、少なくとも1つの細胞毒素分子がコンジュゲートされるが、抗MUC1\*モノクローナル抗体は、所望の治療効果を達成するために、任意の適切な数の細胞毒素分子 (例えば、1、2、3、4、またはそれを超える数の細胞毒素分子) がコンジュゲートされてもよい。

【0179】

また、本開示は上記の抗体または抗体-薬剤コンジュゲートおよび薬学的に許容可能な (例えば、生理学的に許容可能な) 担体を含む組成物を提供する。当技術分野で既知の任意の適切な担体を、本発明の文脈内で使用することができる。担体の選択は、部分的には、組成物が投与され得る特定の部位、および組成物を投与するために使用される特定の方法によって決定される。組成物は、任意選択で、無菌であってもよい。組成物は、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa. (2001) に記載の従来技術に従って生成することができる。

【0180】

組成物は、望ましくは、MUC1\*発現がんを処置または予防するのに有効な量の抗体または抗体-薬剤コンジュゲートを含む。したがって、本開示は、MUC1\*陽性細胞を死滅させる方法を提供し、この方法は、MUC1\*を発現する細胞を、本明細書に記載の抗体もしくは抗体-薬剤コンジュゲート、または本明細書に記載の抗体もしくはADCを含む組成物と接触させる工程を含み、これにより、抗体または抗体-薬剤コンジュゲートが細胞上のMUC1\*に結合し、細胞を死滅させる。

【0181】

また、本開示は、MUC1\*陽性がんを処置するための医薬品の製造における、本明細書に記載の抗体もしくはADC、または抗体もしくはADCを含む組成物の使用を提供する。

【0182】

本明細書において実証されるように、MUC1\*は、様々ながんの型において発現される。したがって、本開示は、そのようながん細胞を死滅させる方法を提供し、この方法は、MUC1\*を発現するがん細胞を、本明細書に記載の抗体-薬剤コンジュゲート、または本明細書に記載のADCを含む組成物と接触させる工程を含み、これにより、抗体-薬剤コンジュゲートが細胞上のMUC1\*に結合し、細胞を死滅させる。

【0183】

本明細書に記載の抗体-薬剤コンジュゲート、または抗体-薬剤コンジュゲートを含む組成物は、*ex vivo*、*in vivo*、または *in vitro*、好ましくは *in vivo* で、MUC1\*を発現する細胞集団と接触させることができる。

【0184】

本明細書で使用される場合、「処置」、「処置する」などの用語は、所望の薬理学的効果および／または生理学的効果を得ることを指す。好ましくは、効果は治療的である。すなわち、効果は、疾患および／もしくは疾患に起因する有害な症状を部分的または完全に治療する。この目的のために、本発明の方法は、「治療有効量」の抗体もしくはADC、または抗体もしくはADCと薬学的に許容可能な担体とを含む組成物を投与する工程を含む。「治療有効量」とは、所望の治療結果を達成するために必要な用量および期間において有効な量を指す。治療有効量は、個体の疾患状態、年齢、性別、体重、および個体において所望の応答を惹起する抗体またはADCの能力などの因子に応じて異なる場合がある。例えば、本発明のADCの治療有効量は、MUC1\*陽性細胞上のMUC1\*に結合し、それらを破壊する量である。

10

#### 【0185】

あるいは、薬理学的効果および／または生理学的効果は、予防的効果、すなわち、疾患もしくはその症状を完全にまたは部分的に予防する効果であってもよい。この点に関して、本発明の方法は、「予防有効量」のADCまたはADCを含む組成物を、MUC1\*を発現するがん罹患しやすい哺乳動物に投与する工程を含む。「予防有効量」とは、所望の予防的結果（例えば、疾患発症の予防）を達成するために必要な用量および期間において有効な量を指す。

#### 【0186】

治療的または予防的有効性は、処置した患者の定期的な評価によってモニタリングすることができる。一実施形態では、本明細書に記載のADCは、MUC1\*発現細胞の増殖を少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、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%、または少なくとも約100%）阻害または抑制する。細胞増殖は、標識ヌクレオシド（例えば、3H-チミジンまたはプロモデオキシウリジンBrd(U)）のゲノムDNAへの取込みを測定するなど、当技術分野で既知の、任意の適切な方法を用いて測定することができる（例えば、Madhavan, H. N., J. Stem Cells Regen. Med., 3(1):12-14(2007)を参照）。

20

#### 【0187】

本明細書に記載の抗体もしくはADC、または抗体ADCを含む組成物は、例えば静脈内、腹腔内、皮下を含む標準的な投与技術を用いて哺乳動物（例えばヒト）に投与することができる。より好ましくは、抗体もしくはADCまたはそれらを含む組成物は、静脈内注射によって哺乳動物に投与される。

30

#### 【0188】

本明細書に記載の抗体もしくはADC、または抗体もしくはADCを含む組成物は、哺乳動物への同時投与が可能な1つまたは複数の追加の治療剤とともに投与され得る。本明細書で使用される場合、「同時投与」という用語は、抗体またはADCが1つまたは複数の追加の治療剤の効果を増強することができるように、または逆に1つまたは複数の追加の治療剤が抗体またはADCの効果を増強することができるように、1つまたは複数の追加の治療剤と本明細書に記載の抗体もしくはADC、または抗体もしくはADC含有組成物を、時間的に十分に接近させて投与することを指す。これに関して、抗体もしくはADCまたはこれらを含む組成物を最初に投与してもよく、1つまたは複数の追加の治療剤を2番目に投与してもよく、またはその逆であってもよい。例えば、抗体もしくはADCまたはこれらを含む組成物は、MUC1\*陽性がんの処置または予防のために、他の薬剤と組み合わせて（例えば、アジュバントとして）投与されてもよい。この点に関して、抗体もしくはADCまたは抗体もしくはADC含有組成物は、例えば、当技術分野で既知の任意の適切な化学療法剤、電離放射線、低分子抗がん剤、がんワクチン、生物学的療法（例えば、他のモノクローナル抗体、がん死滅化ウイルス、遺伝子療法、養子T細胞移入）、および／または手術を含む少なくとも1つの他の抗がん剤と組み合わせて使用することができる。

40

50

## 【0189】

MUC1\*陽性がんの処置のために、本発明の抗体がADC、抗体薬剤コンジュゲートにどのように組み込まれ得るかの一例として、毒素を抗MUC1\*抗体MNC2に結合させた。この特定の例では、毒素はMMAE、すなわちモノメチルアウリスチンであるが、標的細胞、特にがん細胞のADCによる死滅を促進する、当業者に既知のさまざまな毒素および機能的リンカーが存在する。この例では、MNC2を脱グリコシル化し、次いで本明細書ではMNC2-ADCと称される、MMAEの共有結合を促進するリンカーと反応させた。MNC2-ADCを標的細胞とともに様々な濃度で、様々な時間にわたってインキュベートした。次いで、細胞を写真撮影し、PrestoBlue（商標）（Thermo Fisher Scientific，マサチューセッツ州ウォルサム）と称される細胞死の表示器を用いて細胞生存性を測定した。MUC1およびMUC1\*陰性細胞株である、HCTとインキュベートしたMNC2-ADCは、いずれの濃度でも細胞死を誘導しなかった（図5A～5F）。しかし、HCT細胞を、MUC1\*を発現するように形質導入してHCT-MUC1\*を作製すると、MNC2-ADCは、用量依存的に細胞死を誘導した（図6A～6G）。測定された細胞生存率の損失のグラフを図9Bに示す。同様に、MNC2-ADCは、MUC1\*陰性細胞であるK562細胞において細胞死を誘導しなかった（図7A～7G）。再び、細胞を、MUC1\*を発現するように形質導入してK562-MUC1\*を作製すると、MNC2-ADCは、濃度依存的に細胞死を誘導することができた（図8A～8G）。細胞生存率の損失を測定したグラフを図9Aに示す。

10

20

## 【0190】

T47D細胞は、MNC2が結合しない完全長MUC1およびMNC2が結合するMUC1\*の両方を発現する天然に存在する乳がん細胞株である。T47D-MUC1\*は、T47D細胞がさらに多くのMUC1\*を発現するように形質導入された細胞株である。MNC2-ADCを、T47D-WT細胞（図10A～10G）またはT47D-MUC1\*細胞（図11A～11G）とともにインキュベートした。測定した細胞生存性のグラフに見られるように（図12）、T47D-MUC1\*細胞のみが試験した最高濃度で死滅した。添加するMNC2-ADCの濃度を大幅に増加させた別の実験を行った。この場合、T47D-WT細胞は、MNC2-ADCにより1000nMで死滅し（図13A～13J）、T47D-MUC1\*細胞は、10nM、39nM、100nM、393nM、および1000nMで死滅した（図14A～14J）。T47DおよびT47D-MUC1\*における、MNC2-ADCにより誘導された細胞死を測定したグラフを図15Aに示す。これらの実験は、ほんの一例として示されている。ADCが機能するためには、ADCと標的細胞との結合（engagement）により受容体の内在化が誘導されなければならない、この例のセットは、それを実証する。抗MUC1\*抗体に結合する毒素は、当業者に公知のいくつかのうちの1つであってもよい。同様に、MNC2はヒトであってもよく、ヒト化されていてもよい。

30

## 【0191】

しかし、毒素結合化学作用（toxin coupling chemistry）の最適化は、MNC2-ADCの結果を大幅に改善した。この次の実験では、バリニン-シトルリン-p-アミノベンジルカルバメート（VC-PAB）リンカーを使用して脱グリコシル化抗体と毒素を連結した。リンカーは、一端でMMAEに個々に結合し、次いで他端がマレイミドと反応し、次いでアルキル化による還元後に抗体に結合する。MMAEは、チューブリンの重合を遮断することにより細胞分裂を阻害する。細胞の外側で安定であるリンカーは、カテプシンBにより切断され、ADCが内在化し、これによりMMAEが活性化される。この最適化したMNC2-ADCを、0.1ng/mL～500ng/mLに及ぶ濃度にわたって、T47D野生型細胞（-WT）（図16Aおよび16C）またはさらに多くのMUC1\*を発現するように形質導入されたT47D細胞（T47D-MUC1\*）（図16Bおよび16D）のいずれかとともにインキュベートした。ある場合には、MNC2-ADCを、96ウェルプレートのウェルあたり5,000標的MUC1\*

40

50

陽性細胞とともに72時間インキュベートした(図16A~16B)。あるいは、MNC2-ADCを標的MUC1\*陽性細胞とともに16時間だけインキュベートし、その後培地を交換し、細胞をさらに54時間培養したままにした(図16C~16D)。比較のために、周知の抗がん剤タキソールをT47D-wtまたはT47D-MUC1\*細胞に72時間添加した(図16E~16F)。72時間の共培養物の生存性を、PrestoBlue(商標)(Thermo Fisher Scientific, マサチューセッツ州ウォルサム)と称される、細胞死の表示器を用いて測定した(図17)。図に見られるように、抗原密度のより高い細胞ほど、より低いMNC2-ADC濃度でより速く死滅する。90%という高MUC1\*細胞は、72時間のインキュベートにおいて100nMのMNC2-ADC濃度で死滅した。

10

#### 【0192】

MUC1\*陽性がんの処置のために、本発明の抗体がADC、抗体薬剤コンジュゲートにどのように組み込まれ得るかの別の例として、毒素を別の抗MUC1\*抗体20A10に結合させた。20A10-ADCとの共培養で、72時間後に残存するがん細胞の拡大写真を撮影した(図18A~18F)。この特定の例では、毒素はMMAE、すなわちモノメチルアウリスチンであるが、標的細胞、特にがん細胞のADCによる死滅を促進する、当業者に既知のさまざまな毒素および機能的リンカーが存在する。20A10を脱グリコシル化し、次いで本明細書では20A10-ADCまたは20A10-MMAEと称される、MMAEの共有結合を促進するリンカーと反応させた。20A10-ADCを、0.1ng/mL~500ng/mLに及ぶ濃度にわたって、T47D野生型細胞(-WT)(図18Aおよび18C)またはさらに多くのMUC1\*を発現するように形質導入されたT47D細胞(T47D-MUC1\*)(図18Bおよび18D)のいずれかとともにインキュベートした。ある場合には、20A10-ADCを標的MUC1\*陽性細胞とともに72時間のアッセイ全体にわたってインキュベートした(図18A~18B)。あるいは、20A10-ADCを標的MUC1\*陽性細胞とともに16時間だけインキュベートし、その後培地を交換し、細胞をさらに54時間培養したままにした(図18C~18D)。比較のために、周知の抗がん剤タキソールをT47D-wtまたはT47D-MUC1\*細胞に72時間添加した(図18E~18F)。72時間の共培養物の生存性を、PrestoBlue(商標)(Thermo Fisher Scientific, マサチューセッツ州ウォルサム)と称される細胞死の表示器を用いて測定した(図19)。図に見られるように、抗原密度が高いほど、より多くのがん細胞が死滅する。16時間のインキュベートでさえ、高MUC1\*細胞の80%超が死滅し、72時間のインキュベートでは、10nM未満の濃度で100%が死滅した。MUC1\*の発現量が低い細胞は、100%の細胞死滅をもたらすために、より高い20A10-ADC濃度およびより長いインキュベート期間を必要とした。

20

30

#### 【0193】

図20Aのグラフは、これらの実験のIC50をプロットする。また、データは、表にして図20Bに示されている。

#### 【0194】

これらの実験は、最適化された結合化学作用ならびに新しく改良された毒素およびリンカーを用いて、抗MUC1\*抗体を多くのADCフォーマットにうまく組み込むことができることを示している。

40

#### 【0195】

各ADCを特性評価するin vitro法の1つは、毒素の抗体への結合前後に、抗体の標的抗原への結合能を測定することである。抗体の特異性は、いくつかの毒素を抗体に化学的にコンジュゲートするプロセスによって損なわれる場合がある。この現象は、結合プロセスの要素によるというよりも、各抗体の固有の安定性または不安定性による。多くの場合、ペイロードは、ジスルフィド結合を切断または還元することにより生成される遊離チオールへの結合を介して抗体に結合する。ジスルフィド結合は、2つの重鎖とともに保持し、抗体認識単位である可変領域の構造を支持する。重大な課題は、重要な抗体構

50

造を維持するジスルフィド結合を破壊することなく、複数の毒素の結合を可能にするのに十分なジスルフィド結合を還元することである。意外なことに、MNC2は、抗体の構造を損なうことも、標的抗原を認識する抗体の能力を変化させることもなく、多くの毒素の結合を可能にする、非常に安定で正しく作用する抗体である。ペイロードを抗体MN20A10に結合させる場合に直面する課題は、ジスルフィド還元のタイミングおよび毒素のコンジュゲートに関連していた。ADC結合のためのほとんどのプロトコルでは、繰返しのジスルフィド還元、それに次ぐ遊離チオールの数についての試験が必要となる。これが長期のプロセスである場合、遊離チオールは再酸化することがあり、これは元の構造を再生成するか、または抗体標的特異性の喪失をもたらす新しい構造を生成する可能性がある。この状況は、毒素をIgG2bアイソタイプである抗体MN20A10にコンジュゲートしようとするときに生じた。この問題は、1) MN20A10を還元するのに必要なモル当量を経験的に決定し、2) その当量の還元剤を一度に添加し、3) 高温で結合試薬を添加し、ここで、水浴中で反応を行うことによって所望の温度に達するまでの時間を短縮し反応期間中に断続的に振とうすることによって反応時間をさらに加速させることによって克服された。図36A～36Dは、MMAEの結合前、そして結合後にMNC2の乳がん細胞または肺がん細胞を認識する能力を測定するフローサイトメトリーのグラフを示す。図37A～37Dは、MMAEの結合前、そして結合後にMN20A10の乳がん細胞または肺がん細胞を認識する能力を測定するフローサイトメトリーのグラフを示す。MN20A10と比較して、MNC2は、MMAEの結合後にがん細胞を認識する能力が低いようである。この実験では、MNC2-MMAEの薬剤-抗体比(DAR)が20A10-MMAEのDARよりも高かったという事実と、MNC2-MMAEが、動物における同じ腫瘍を根絶する能力がより高かったことを考慮すると、いくつかの毒素がMNC2抗体に結合することで、二次抗体の結合が立体的に阻害された可能性がある。

10

20

30

40

50

#### 【0196】

研究者らが達成しようとしている重要な目標のひとつは、標的抗原を低レベルで発現する早期がん細胞を認識し、死滅させることができる抗がん剤の開発である。統計的に、がん患者は、がんが極めて早期の段階で処置された場合、生存の可能性が高くなる。現在までのところ、抗原発現の低い早期がん細胞を死滅させられる標的がん治療薬は、あるとしてもごくわずかである。近ごろの標的療法では、標的抗原の発現がある閾値を超えた場合にのみ、がん細胞を死滅させることができる。例えば、抗乳がん剤のハーセプチン(商標)は、標的であるHER2の発現が比較的高い患者でなければ処方できない。それでも、ハーセプチン(商標)で処置された患者の約20%がハーセプチン(商標)に対する耐性を獲得し、多くの場合、他の抗がん薬に対する耐性も獲得する。現在では、腫瘍の再発は、治療薬で死滅しない抗原発現の低い細胞によって頻繁に引き起こされることが理解されている。標的抗原が増殖因子受容体である場合、後期腫瘍は、高レベルの増殖因子受容体を発現するが、その高レベルは、低レベルの増殖因子受容体を発現する細胞よりも速い速度で腫瘍を増殖させる。

#### 【0197】

したがって、滅多に行われないが、抗原発現の低い早期がん細胞と、高レベルの標的抗原を発現する後期がん細胞の両方に対して抗がん薬を試験することは、きわめて重要である。図38A～45Dでは、MNC2-ADCおよびMMN20A10-ADCの、複数のがんサブタイプを死滅させる能力が試験され、腫瘍は、低～中抗原発現がん細胞または高抗原発現がん細胞のいずれかであった。驚くべきことに、MNC2-ADCおよびMN20A10-ADCは、低抗原発現がん細胞と高抗原発現がん細胞との両方を死滅させる顕著な能力を示した。低発現がん細胞は、創薬可能と考えられる、高ナノモル範囲のADCにおけるMNC2-ADCまたはMN20A10-ADCのいずれかで処置することにより死滅した。高レベルのMUC1\*を発現したがん細胞は、一桁のナノモル範囲のIC50で死滅した。マイクロモル以下(sub-micromolar)のレベルの抗体は、創薬可能であると考えられる。この場合もやはり、MNC2およびMN20A10は高度のがん特異性を有するので、この用量範囲は非常に忍容性が高いであろう。ADCに

よる死滅の *in vitro* 測定は、ADC による *in vivo* での死滅の可能性を過小評価することが多い。*in vivo* では、「バイスタンダー」効果による死滅が通常観察される。すなわち、腫瘍内の細胞の死滅が、死滅を大幅に増加させるサイトカイン、マクロファージなどの宿主放出を誘発する場合である。こうした効果は *in vitro* では発生しない。

【0198】

例えば、MNC2-MMAE、MNC2-MMAF、MN20A10-MMAE、および MN20A10-MMAF を、*in vitro* で、低レベルの MUC1\* を発現する T47D 野生型乳がん細胞、およびより多くの MUC1\* を発現するように操作された T47D-MUC1\* 細胞を死滅させる能力について試験した。同様に、抗 MUC1\*-ADC を、低レベルの MUC1\* を発現する HPAF II 野生型膵がん細胞およびより多くの MUC1\* を発現するように操作された HPAF II-MUC1\* 細胞を死滅させる能力について試験した図 38A~38F。これらの実験では、MNC2-MMAE の DAR と MNC2-MMAF の DAR とは、4.1 対 3.7 で同等である。5.8 である MN20A10-MMAE の DAR と、3.8 である MN20A10-MMAF の DAR との間にはわずかな差があり、これは両者の死滅化効力に反映されている。図に見られるように、野生型、低抗原発現細胞は両方とも、ADC によりマイクロモル以下の用量で処置した場合に死滅し、これは創薬可能であると考えられる。意外なことに、MUC1\* は増殖因子受容体であるが、発現される MUC1\* が多いほど、ADC 媒介死滅効果は増大する。より多くの MUC1\* を発現するように操作された乳がん細胞および膵がん細胞はどちらも、非常に低いナノモル濃度の MNC2-MMAE、MNC2-MMAF、MN20A10-MMAE、および MN20A10-MMAF により容易に死滅した。MNC2-デルクステカンまたは MN20A10-デルクステカンによる標的細胞の死滅化を、MNC2-MMAE、MNC2-MMAF と比較した。MN20A10-MMAE および MN20A10-MMAF (図 40A~40C)。この *in vitro* アッセイでは、5つの抗 MUC1\* ADC すべてが同等の死滅化効力を有するようであるが、バイスタンダー細胞の死滅はこのアッセイでは判定できない。また、抗 MUC1\*-ADC は、MUC1\* 陽性前立腺がん細胞 (図 41A~41B) および非小細胞肺がん細胞 (図 42A~42B) を強力に死滅させることが示された。

【0199】

フローサイトメトリ実験のセットでは、MNC2-MMAE または MN20A10-MMAE の特異的死滅効果は、MUC1\*-ADC の添加後に標的がん細胞の生存性を測定することによって決定される。ここで、標的細胞は、T47D 野生型乳がん細胞または T47D-MUC1\* と称される、より多くの MUC1\* を発現するように操作された T47D 乳がん細胞である。図 43 に見られるように、MN20A10-MMAE および MNC2-MMAE はいずれも、野生型乳がん細胞およびより多くの MUC1\* を発現するように操作された細胞の両方を効果的に死滅させる。しかし、いずれの MUC1\*-ADC でも、細胞が標的抗原を過剰発現する場合、死滅化効力はより大きくなる。低レベルの MUC1\* を発現するがん細胞は早期がんと一致するのに対し、高レベルの MUC1\* を発現する細胞は後期がんと一致する。

【0200】

MUC1\* を発現するあらゆる細胞が本明細書に記載の MUC1\*-ADC によって死滅することを実証するために、本発明者らは、MUC1 陰性結腸がん細胞株 HCT-116 を、MUC1\*、例えば HCT-MUC1\* を発現するように操作した。図 44 の細胞生存アッセイにおいて見られるのは、MUC1\* 発現細胞のみが死滅していることである。非コンジュゲート MN20A10、または MN20A10-MMAE のいずれかを添加した後、MUC1\* 発現がん細胞の生存性を測定した。図 45 に見られるように、MN20A10-MMAE は、非小細胞肺がん細胞、DU145 ホルモン抵抗性前立腺がん細胞、および膵がん細胞を効果的に死滅させた。

【0201】

図46～図48は、MNC2-ADCまたはMN20A10-ADCのいずれかによる処置後の、様々な型のがん細胞の拡大写真を示す。死滅効果は、細胞数の大幅な減少、特徴的な平たく広がった形態から小円化形態への細胞形態の変化、および細胞の浮上りとして容易に認識され得る。対照的に、対照ウェルは、通常の平たく広がった形態を有するコンパクトな細胞の融合性単層を示し、浮遊死細胞は見られなかった。図46A～46Cおよび図46G～46Fは、MNC2-MMAEで処置したT47D-MUC1\*乳がん細胞を示す。図46D～46Fおよび図46G～46Jは、MNC2-デルクステカンで処置したT47D-MUC1\*乳がん細胞を示す。図47A～47Bは、MNC2-MMAEで処置したDU145ホルモン抵抗性前立腺がん細胞を示す。図47C～47Dは、MNC2-デルクステカンで処置したDU145ホルモン抵抗性前立腺がん細胞を示す。図48A～48Bおよび図48G～48Hは、MN20A10-MMAEで処置したT47D-MUC1\*乳がん細胞を示す。図48C～48Dおよび図48I～48Jは、MN20A10-デルクステカンで処置したT47D-MUC1\*乳がん細胞を示す。図48K～48Lは、MN20A10-MMAEで処置したDU145ホルモン抵抗性前立腺がん細胞を示す。図48M～48Nは、MN20A10-デルクステカンで処置したDU145ホルモン抵抗性前立腺がん細胞を示す。視覚的に明らかであるように、図46～48に示される抗MUC1\*-ADCの死滅効果は、図38～45に示されるフローサイトメトリーにより測定された死滅と一致する。

10

#### 【0202】

xCELLigence機器を用いてリアルタイムで死滅をモニタリングすることにより、MNC2-ADCおよびMN20A10-ADCを、低MUC1\*発現細胞と高MUC1\*発現細胞との両方の死滅化能力についてアッセイした(図53～56)。xCELLigenceシステムでは、付着性の標的がん細胞を電極アレイ96ウェルプレートにプレーティングする。付着細胞は電極を絶縁し、インピーダンスを増加させる。付着したがん細胞の数はインピーダンスに正比例する。抗体および抗体薬剤コンジュゲートははるかに小さく、インピーダンスに大きく寄与しない。したがって、インピーダンスの増加はがん細胞の増殖を反映し、インピーダンスの減少はがん細胞の死滅を反映する。

20

#### 【0203】

乳がん細胞株T47D-wtは、MUC1\*を低レベル～低中レベルで発現する。膀胱がん細胞株HPAF II-wtは、さらに低レベルのMUC1\*を発現し、肺がん細胞株NCI-H1975はいっそう低レベルのMUC1\*を発現する。MMAE、MMAF、デルクステカン、またはエキサテカンにコンジュゲートされたMNC2およびMN20A10はいずれも、低発現T47D-wt乳がん細胞(図49および図54)、非小細胞肺がん細胞(図51および図56)、ならびに膀胱がん細胞(図52)を有効に死滅させた。低レベルのMUC1\*を発現するがん細胞は、早期がん細胞と一致し、中ナノモル用量で投与された場合、MNC2-ADCおよびMN20A10-ADCによって効果的に死滅する。図54および図56に明確に見られるように、MNC2-エキサテカン(DAR 8.2)をMNC2-デルクステカン(DAR 4.0)およびMNC2-MMAE(DAR 4.1)と比較した場合、MNC2-エキサテカンは、低MUC1\*発現のがん細胞に対してより強力な死滅を示し、これはより多くの毒素が結合しているためであると考えられる。

30

40

#### 【0204】

次の実験セットにおいて、MNC2-ADCおよびMN20A10-ADCを、高レベルのMUC1\*を発現するがん細胞を死滅させる能力について試験する。MUC1\*は、これらの細胞の増殖を駆動する増殖因子受容体であるため、MUC1\*のレベルが高いほど、細胞を死滅させることがより困難になることが予想される。意外なことに、実験により、より多くのMUC1\*が発現されるほど、細胞を死滅させることがより容易であることが示されている。また、xCELLigenceリアルタイム死滅アッセイを用いて、高レベルのMUC1\*を発現するがん細胞の死滅について、MMAE、MMAF、デルクステカン、またはエキサテカンにコンジュゲートされたMNC2とMN20A10とを比

50

較した。乳がん細胞株 T 4 7 D - M U C 1 \* および H P A F I I - M U C 1 \* は、後期がんと一致する高レベルの M U C 1 \* を発現するように操作されている。図 5 0 および図 5 3、および図 5 5 に示されるように、高レベルの M U C 1 \* を発現するがん細胞は、6 n M ~ 1 9 n M . S という非常に低いナノモル用量で完全に死滅する。

#### 【0205】

I n v i t r o アッセイに加えて、M M A E、M M A F、デルクステカン、またはエキサテカンとコンジュゲートされた抗 M U C 1 \* 抗体 M N C 2 および M N 2 0 A 1 0 を、高 M U C 1 \* 発現もしくは低 M U C 1 \* 発現の乳房腫瘍、肺腫瘍、または脾臓腫瘍を移植した試験マウスに投与する、i n v i v o 実験も行った。これらの実験は、実験 1 8 においてより十分に詳述される。一例では、N O D / S C I D / G A M M A マウスに、野生型、またはより多くの M U C 1 \* を発現するように操作された T 4 7 D 乳がん細胞を移植した。M N C 2 - M M A E、D A R 3 . 5 を、初回用量 5 m g / k g で 3 回動物に注射し、次いで 1 0 m g / k g に増加させた。図 5 7 に見られるように、後期がんと一致する、高レベルの M U C 1 \* を発現する腫瘍を有するマウスは、2 6 日目まで効果的に消失した。早期がんと一致する、低 M U C 1 \* 発現細胞を有する腫瘍を移植したマウスは、完全に消失はしなかったが、腫瘍体積は、対照群と比較してわずかであった。比較すると（図 5 8）、同じ用量の M N 2 0 A 1 0 - M M A E、D A R 2 . 9 6 を与えた動物は、腫瘍の完全な消失を示さず、これは結合した毒素の数が少なかったためである可能性が高い。同じ用量の M N C 2 - M M A E（図 5 9）または M N 2 0 A 1 0 - M M A E（図 6 0）のいずれかを、非小細胞肺がん腫瘍を移植した動物に与えた。M N C 2 - M M A E、D A R 4 . 1 は、高 M U C 1 \* 発現体または低 M U C 1 \* 発現体のいずれかである脾臓腫瘍を移植した試験マウスにおける腫瘍消失に非常に有効であった（図 6 1）。図 6 2 は、図 6 1 に示す実験の更新版を示す。6 6 日後、M N C 2 - M M A E で処置した動物は、1 8 日目以降腫瘍がなくなり、腫瘍再発は見られなかった。M N C 2 - デルクステカン、低レベルまたは高レベルの M U C 1 \* を発現するヒト乳がん細胞を移植したマウスに与えた（図 6 3 および図 6 4）。高 M U C 1 \* を発現する腫瘍は、2 6 日目までに基本的に消失した。低 M U C 1 \* 発現細胞を移植したマウスは、対照と比較して大幅に減少したが、より高用量または繰返しの注射を必要とし得る。

#### 【0206】

動物モデルにおいて、本発明者らは、腫瘍が後期に進行するにつれて、それらの M U C 1 \* の発現が増加することを示した。図 6 5 A ~ 6 5 D は、腫瘍細胞の画像を示す。0 日目の細胞を染色すると、細胞が M U C 1 \* よりも完全長 M U C 1 をより多く発現していることが示され、染色強度が弱く、M U C 1 \* 受容体の数が少ないことを表しており、これは早期がんであることを示している。腫瘍移植後 6 2 日、つまりヒトの時間で約 7 年に相当する日数で、M U C 1 \* の発現が、発現の程度および発現の強度の点で、後期腫瘍において低発現から高発現へと著しく変化したことを容易に認識することができる。対照的に、腫瘍の連続切片を染色すると、完全長 M U C 1 が発現しており、これは、表面発現後に M U C 1 \* へと切断されるためであると予想される。しかし、染色強度は増加しておらず、発現した M U C 1 の大部分が後期腫瘍において増殖因子受容体型 M U C 1 \* へと切断されたことを示している。

#### 【0207】

##### 抗体

この文脈において、目的のポリペプチドに「結合 (b i n d i n g)」として結合する抗体 (A b) は、当業者によって理解される。例えば、抗体、またはそのような A b を含む、本明細書に記載のコンジュゲートは、例えばイムノアッセイや当技術分野で既知の他のアッセイによって測定されるように、一般に低い親和性で他のポリペプチドまたはタンパク質と結合することがある。特定の実施形態では、A b、または目的のポリペプチドに特異的に結合するような A b を含む、本明細書に記載のコンジュゲートは、A b またはコンジュゲートが別のポリペプチドに結合する場合の親和性よりも少なくとも 2 l o g、2 . 5 l o g、3 l o g、4 l o g、またはそれを超える親和性で目的のポリペプチドに結

合する。別の特定の実施形態では、A b、またはそのようなA bを含む、本明細書に記載のコンジュゲートは、目的のポリペプチド以外のポリペプチドに特異的に結合しない。特定の実施形態では、A b、またはA bを含む、本明細書に記載のコンジュゲートは、20 mM以下の親和性(K<sub>d</sub>)で目的のポリペプチドに特異的に結合する。特定の実施形態では、このような結合は、親和性(K<sub>d</sub>)が約20 mM以下、約10 mM以下、約1 mM以下、約100 μM以下、約10 μM以下、約1 μM以下、約100 nM以下、約10 nM以下、または約1 nM以下である。特に断りのない限り、この文脈における「結合する(binds)」、「に結合する(binds to)」、「特異的に結合する(specifically binds)」、または「に特異的に結合する(specifically binds to)」は、互換的に使用される。

10

【0208】

一部の実施形態では、標的細胞はがん細胞である。一部の実施形態では、がんは、乳がん、結腸がん、前立腺がん、膵がん、または肺がんである。

【0209】

一部の実施形態では、抗体は、MUC1\*を表面に発現するがん細胞に結合する。

【0210】

ある実施形態では、抗体は、約10、約20、約30、約40、約50、約100、約150、約200、約250、約300、約350、約400、約450、約500、約550、約600、約650、約700、約750、約800、約850、約900、または約950個のアミノ酸を含む。

20

【0211】

ある実施形態では、抗体は、約10~50、約50~100、約100~150、約150~200、約200~250、約250~300、約300~350、約350~400、約400~450、約450~500、約500~600、約600~700、約700~800、約800~900、または約900~1000個のアミノ酸を含む。

【0212】

ある実施形態では、コンジュゲートは抗体A bを含む。ある実施形態では、A bはモノクローナル抗体である。ある実施形態では、A bはヒト抗体である。ある実施形態では、A bはヒト化抗体である。ある実施形態では、A bはキメラ抗体である。ある実施形態では、A bは、2つの重鎖および2つの軽鎖を含む完全長抗体である。特定の実施形態では、A bはIgG抗体、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4抗体である。ある実施形態では、A bは単鎖抗体である。さらに別の実施形態では、A bは、抗体の抗原結合フラグメント、例えば、Fabフラグメントである。

30

【0213】

特定の実施形態では、A bはIgG1抗体である。特定の実施形態では、A bはIgG2b抗体である。

【0214】

ある実施形態では、抗体は、細胞表面タンパク質に特異的に結合する。ある実施形態では、抗体は、細胞表面受容体に特異的に結合する。ある実施形態では、抗体は、細胞表面受容体リガンドに特異的に結合する。

40

【0215】

一部の実施形態では、抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションは、MUC1\*に特異的に結合する。一部の実施形態では、抗体は、抗MUC1\*重鎖および抗MUC1\*軽鎖を含む。

【0216】

一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖は、抗MUC1\*重鎖可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4重鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*軽鎖は、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパまたはラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。

50

## 【0217】

一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG1重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパまたはラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG2重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパまたはラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG3重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパまたはラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG4重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパまたはラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。

10

## 【0218】

一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG1重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG2重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG3重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG4重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、カッパ軽鎖の可変ドメインを含む。

## 【0219】

一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG1重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、ラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG2重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、ラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG3重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、ラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、IgG4重鎖の可変ドメインを含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、ラムダ軽鎖の可変ドメインを含む。

20

## 【0220】

一部の実施形態では、MUC1\*に特異的に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションは、単鎖可変フラグメント(s c F v)または抗原結合フラグメント(F a b)を含む。一部の実施形態では、MUC1\*に特異的に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションは、単鎖可変フラグメントを含む。一部の実施形態では、MUC1\*に特異的に結合する抗体、またはその機能的フラグメントもしくは機能的バリエーションは、抗原結合フラグメント(F a b)を含む。

30

## 【0221】

一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖可変ドメインは、相補性決定領域(CDR)：HC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3を含み、抗MUC1\*重鎖可変ドメインのHC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3は、HC-CDR1：配列番号1または4、HC-CDR2：配列番号2または5、HC-CDR3：配列番号3または6に記載のアミノ酸配列を含み、CDRは、HC-CDR1、HC-CDR2、またはHC-CDR3のうちの少なくとも1つにおいて、0~2個のアミノ酸修飾(例えば、0または1個のアミノ酸修飾)を含む。

40

## 【0222】

一部の実施形態では、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインは、相補性決定領域(CDR)：LC-CDR1、LC-CDR2、およびLC-CDR3を含み、抗MUC1\*軽鎖可変ドメインのLC-CDR1、LC-CDR2、およびLC-CDR3は、LC-CDR1：配列番号13または16、LC-CDR2：配列番号14または17、LC-CDR3：配列番号15または18に記載のアミノ酸配列を含み、CDRは、LC-CDR1、LC-CDR2、またはLC-CDR3のうちの少なくとも1つにおいて、0~2個のアミ

50

ノ酸修飾（例えば、0 または 1 個のアミノ酸修飾）を含む。

【0223】

一部の実施形態では、抗MUC1\*重鎖は、配列番号38または44に対して少なくとも75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、抗MUC1\*軽鎖は、配列番号41または47に対して少なくとも75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

10

【0224】

抗体薬剤コンジュゲート（ADC）は、抗体部分の可変領域ががん細胞の外側で発現される分子を認識する場合に作用する。抗体が標的抗原に結合した後、ADC全体が内在化される。抗体内在化は、ADC細胞死滅化の機能の必要条件である。多くの場合、ADCの細胞内在化は生化学的に毒素を変化させ、毒素をより強力にする場合もあれば、変化により毒素が細胞内に閉じ込められて標的外毒性が減少する場合もある。全ての受容体が、リガンド結合後、または特に受容体を二量化し得る抗体結合の後に内部移行されるわけではなく、内在化は不可能ではないにしても、より困難になる。図25A～25Dは、MNC2などの抗MUC1\*抗体がMUC1\*受容体の細胞外ドメインに結合した後に内在化することを実証する、共焦点顕微鏡で撮影した写真である。

20

【0225】

ペイロード

抗体薬剤コンジュゲート（ADC）は、抗体（例えば、モノクローナル抗体）の標的特異性と低分子薬剤（ペイロードまたは細胞毒性基として知られる）の効能とを、両者の特性を保持した単一のADC分子中につなぐことによって組み合わせたものである。ADCの改善された選択性と効能は、従来の化学療法薬に比べ、優れた安全性と有効性をもたらす。その結果、より広い治療域をもたらす。「ペイロード」および「細胞毒性基」という用語は、本明細書において互換的に使用される。

【0226】

一部の実施形態では、ペイロードはトポイソメラーゼ阻害剤である。一部の実施形態では、トポイソメラーゼ阻害剤はトポイソメラーゼI阻害剤である。一部の実施形態では、トポイソメラーゼ阻害剤はエキサテカンまたはその誘導体である。一部の実施形態では、トポイソメラーゼ阻害剤はデルクステカンまたはその誘導体である。

30

【0227】

一部の実施形態では、ペイロードはチューブリン形成阻害剤である。一部の実施形態では、チューブリン形成阻害剤は、モノメチルアウリスタチンE（MMAE）またはモノメチルアウリスタチンF（MMAF）である。

【0228】

デルクステカンなどのADCフォーマットにおいて用いられる比較的最近の毒性ペイロードの一部は、トポイソメラーゼI阻害剤のエキサテカンファミリーに属する。ADCフォーマットにおいて用いられる、1つのこのような最近のペイロードの結合剤構成は、図28に示されるデルクステカンである。ここで、マレイミドカプロイル（MC）部分は、抗体上のシステインへの結合を容易にする。マレイミドカプロイルは、グリシンフェニルアラニンリンカーGGFG、Dxdに結合する結合剤HN-CH<sub>2</sub>-を介して毒性ペイロードDxdに結合する。DxdはトポイソメラーゼI阻害剤であり、これは細胞分裂を阻害する機構である。図29に示す別の例では、エキサテカンペイロードはパラアミノベンジル（PAB）部分を介して抗体に結合し、バリニンシトルリン（VC）部分と結合し、次に抗体上のシステインとの結合を促進するマレイミドカプロイル（MC）部分と結合する。

40

【0229】

50

エキサテカン<sup>®</sup>は、高レベルのバイスタンダー効果を有し、これは、隣接する細胞を死滅させ得ることを意味する。HER2+乳がんを標的とする新規のADC、Enhertu<sup>®</sup>の臨床試験では、肺炎などの重篤で生命を脅かす副作用に悩まされた。Enhertu患者の最大16%が処置誘発性肺炎に罹患していたことが報告されている。しかし、Enhertuは、転移性乳がん患者の生存を2年延長させたことが報告されているので、FDAの承認を受けた。これらの副作用が、ペイロードによるものか、または正常な肺および正常な心臓でも発現される標的、HER2に起因するかどうかは完全には明らかではない。HER2標的化CAR T細胞製品で処置した最初の2人の患者が注入直後に死亡したことを思い出されたい。後続の研究により、致死性は、HER2に対して極めて高い親和性を有する抗体の使用によるものであることが示された。比較的最近では、さらに別の患者が、異なるHER2標的化ADCで処置された後に死亡した。これらの結果は、こうした生命を脅かす毒性を回避するために、優れたがん選択性を有する抗体を選択することの重要性を強調する。MNC2およびMN20A10は、意外にも、極めて高度のがん特異性を有し、動物試験において毒性を誘発せず、試験では、各抗体はいくつかのADCフォーマットに組み込まれた。

10

【0230】

リンカー

ある実施形態では、リンカー-Lは、炭素原子、窒素原子、硫黄原子、酸素原子、およびこれらの組合せのうちの1つまたは複数を含む。ある実施形態では、リンカー-Lは、1つまたは複数のアミノ酸を含む。ある実施形態では、リンカー-Lは、エーテル結合、チオエーテル結合、アミン結合、アミド結合、炭素-炭素結合、炭素-窒素結合、炭素-酸素結合、炭素-硫黄結合、およびそれらの組合せのうちの1つまたは複数を含む。ある実施形態では、リンカー-Lは直鎖構造を含む。特定の実施形態において、リンカー-Lは、ジペプチド、トリペプチド、またはテトラペプチドペプチド結合部分を含む。

20

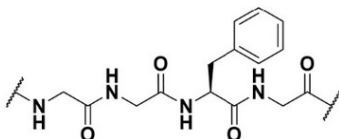
【0231】

リンカーは、少なくとも1つのグリシンを含み得る。リンカーは、少なくとも1つのグリシンおよびフェニルアラニンを含み得る。リンカーは、

【0232】

【化22】

30

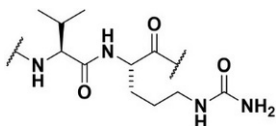


の構造を含み得る。リンカーはバリンを含み得る。リンカーはシトルリンを含み得る。リンカーは、バリンおよびシトルリンを含み得る。リンカーは、

【0233】

【化23】

40



の構造を有するジペプチド結合部分であり得る。

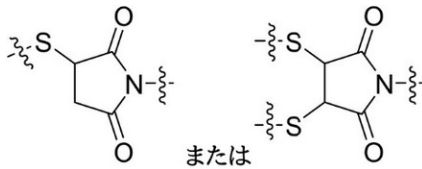
【0234】

ある実施形態では、Zは、ポリペプチドのアミノ酸と共有結合を形成することができるコンジュゲート部分である。Zは、リンカーのN末端に結合することができる。Zはマレイミドを含み得る。特定の実施形態では、アミノ酸はシステインである。ある実施形態では、Zは、

【0235】

50

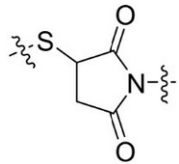
【化 2 4】



である。ある実施形態では、Zは、

【0 2 3 6】

【化 2 5】

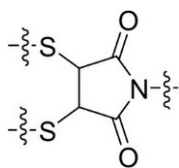


10

である。ある実施形態では、Zは、

【0 2 3 7】

【化 2 6】



20

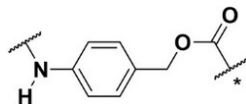
である。

【0 2 3 8】

リンカーは、結合部分Rを含み得る。ある実施形態では、Rは、リンカーのC末端にペイロードを結合させることができる結合部分である。Rは、

【0 2 3 9】

【化 2 7】

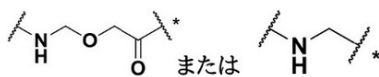


30

の構造を有する部分を含み得、式中、\*はペイロードの結合点を示す。Rは、

【0 2 4 0】

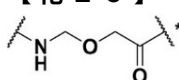
【化 2 8】



の構造の基を含み得、式中、\*はペイロードの結合点を示す。Rは、

【0 2 4 1】

【化 2 9】

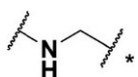


40

の構造を有する基を含み得、式中、\*はペイロード（例えば、細胞毒性基）の結合点を示す。Rは、

【0 2 4 2】

【化 3 0】



50

の構造を有する基を含み得、式中、＊はペイロードの結合点を示す。

【0243】

図26は、ペイロードモノメチルアウリスタチンE、すなわちMMAE、ならびにペイロードの抗体への化学結合を促進する有用なリンカー分子および反応性分子の化学構造を示す。この例では、MMAEはパラアミノベンジル（PAB）部分を介して抗体に結合し、バリナーシトルリン（VC）部分に結合し、次に抗体上のシステインとの結合を促進する、マレイミドカプロイル（MC）部分に結合する。ADCが内在化されると、カテプシンBは、抗体からペイロードを酵素的へと切断し、これは、PABおよびVCの両方によって促進される。ペイロードであるモノメチルアウリスタチンE（MMAE）は、チューブリンの重合を遮断することによって細胞分裂を阻害する。

10

【0244】

MMAFと呼ばれるモノメチルアウリスタチンFは、チューブリンの重合を遮断することによって細胞分裂を阻害する毒性ペイロードの別の例である。図27に示す例では、ペイロードであるMMAFは、パラアミノベンジル（PAB）部分を介して抗体に結合し、バリナーシトルリン（VC）部分に結合し、次に抗体上のシステインとの結合を促進する、マレイミドカプロイル（MC）部分に結合する。ADCが内在化されると、カテプシンBは、抗体からペイロードを酵素的へと切断する。MMAEとは異なり、MMAFはカルボン酸を含有するため、ペイロードが抗体から切断された後にペイロードが細胞から出ることが困難になる。

【0245】

デルクステカンなどのADCフォーマットにおいて用いられる、比較的最近の毒性ペイロードの一部は、トポイソメラーゼI阻害剤のエキサテカンファミリーに属する。ADCフォーマットにおいて用いられる、1つのこのような最近のペイロード結合剤構成は、図28A～28Eに示されるデルクステカンである。ここで、マレイミドカプロイル（MC）部分は、抗体上のシステインへの結合を促進する。マレイミドカプロイルは、グリシンフェニルアラニンリンカーGGFG、Dxdに結合する結合剤HN-CH<sub>2</sub>-を介して、毒性ペイロードであるDxdに結合する。DxdはトポイソメラーゼI阻害剤であり、これは細胞分裂を阻害する機構である。図29A～29Eに示す別の例では、パラアミノベンジル（PAB）部分を介してエキサテカンペイロードを抗体に結合させ、バリナーシトルリン（VC）部分に結合し、次に抗体上のシステインとの結合を促進するマレイミドカプロイル（MC）部分に結合させた。

20

30

【0246】

医薬組成物

別の態様では、本明細書には、本明細書に開示されるようなコンジュゲート（例えば、ADC）および多特異性抗体を含む医薬組成物が提供される。一部の実施形態では、医薬組成物は、式（I）のコンジュゲートと薬学的に許容可能な担体とを含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、本明細書に開示されるような多特異性抗体と、薬学的に許容可能な担体とを含む。

【0247】

本明細書における医薬組成物は、薬学的に使用され、活性薬剤の製剤への加工を容易にする、賦形剤および補助剤を含む1つまたは複数の生理学的に許容可能な担体を用いて製剤化される。適切な製剤は、選択される投与経路に応じて異なる。

40

【0248】

ある実施形態では、本明細書に開示される医薬組成物は、薬学的に許容可能な希釈剤、賦形剤、または担体をさらに含む。一部の実施形態では、薬組成物は、他の薬効剤もしくは医薬剤、担体、保存剤、安定化剤、湿潤剤もしくは乳化剤などのアジュバント、溶解促進剤（solution promoter）、浸透圧を調節するための塩、および／または緩衝剤を含む。

【0249】

ある実施形態では、本明細書に開示される薬学的組成物は、非経口（静脈内、皮下、腹

50

腔内、筋内、血管内、髄腔内、硝子体内、点滴、または局所）投与を含むがこれらに限定されない、任意の適切な投与経路によって対象に投与される。

【0250】

筋内、皮下、腫瘍周囲、または静脈内注射に適した製剤としては、生理学的に許容可能な滅菌水性もしくは非水性溶液、分散液、懸濁剤、または乳剤、および滅菌注射用溶液もしくは分散液に再構成するための滅菌粉末が挙げられる。適切な水性および非水性の担体、希釈剤、溶媒、またはビヒクルの例としては、水、エタノール、ポリオール（プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、グリセロール、クレモホルなど）、それらの適切な混合物、植物油（オリーブ油など）、およびオレイン酸エチルなどの注射可能な有機エステルが挙げられる。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティング剤の使用、分散液の場合には必要な粒径の維持、および界面活性剤の使用によって、維持される。皮下注射に適した製剤は、保存剤、湿潤剤、乳化剤、および分配剤（dispensing agent）などの任意の添加剤も含む。

10

【0251】

静脈内注射の場合、活性薬剤は任意選択で水溶液、好ましくはHank's溶液、Ringer's溶液、または生理的食塩緩衝剤などの生理学的に適合可能な緩衝剤中に製剤化される。

【0252】

非経口注射には、ボラス注射または持続注入が任意選択で含まれる。注射用の製剤は、任意選択で、単位剤形、例えば、アンプルまたは複数回用量の容器中、追加の保存剤とともに提供される。一部の実施形態では、本明細書に記載される医薬組成物は、油性又は水性のビヒクル内で無菌の懸濁剤、溶液又は乳剤のように、非経口注入に適した形態にあり、懸濁剤、安定化剤および／または分散剤などの製剤化剤（formulatory agents）を含有する。非経口投与用の医薬製剤は、水溶性形態の活性薬剤の水溶液を含む。加えて、懸濁剤は、任意選択で適切な油性の注射懸濁剤として調製される。

20

【0253】

一部の実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物は、正確な投与量の単回投与に適した単位剤形である。単位剤形において、製剤は、本明細書に開示される適量の活性薬剤を含む単位用量に分割される。一部の実施形態では、単位用量は、離散量の製剤を含有するパッケージ形状である。非限定的な例は、包装された錠剤またはカプセル剤、および、バイアルまたはアンプル中の粉末剤である。一部の実施形態では、水性懸濁組成物は、単回用量用の再密閉できない容器に包装される。あるいは、複数回用量用の再密閉可能な容器が使用され、その場合、組成物に保存剤が含まれることが一般的である。ほんの一例として、非経口注射用の製剤は、アンプルを含むがこれに限定されない単位剤形で、あるいは、追加の保存剤とともに複数回用量容器で提示される。

30

【実施例】

【0254】

実施例1．抗MUC1＊内在化実験

MNC2の内在化が示された（図25A～25B）。

【0255】

8ウェルチャンバースライド（Nunc（商標）Lab-Tek（商標）II Chamber Slide（商標）System Thermo カタログ番号154534 PKまたはIbidi（商標）8ウェルμスライドibiTreat：＃1．5ポリマーカバースリップ、表面処理済み（tissue culture treated）、滅菌済み）をコラーゲン（Sigma＃C3867）でコーティングし、ここで、ウェルあたり300μLのコラーゲンを添加し、4℃で一晩インキュベートし、PBSで1回、次いで水で1回洗浄し、次いでバイオセーフティーフード中で風乾させた。フード下でウェルを乾燥させる。

40

【0256】

T47D乳がん細胞を10％RPMI中、30,000～50,000細胞／ウェルで

50

プレーティングし、48時間または約70%コンフルエントになるまで培養した。培地を除去し、細胞を2%RPMI中で24時間血清欠乏させた。細胞を氷冷PBSで洗浄した。

【0257】

抗体を、冷PBS+2%FBSで300ug/mLの最終濃度に希釈した。200uLの抗体溶液を各ウェルに添加し、速度6のロッキングプラットフォームシェーカー上、暗所で、4℃で2時間インキュベートした。次いで、細胞を冷PBSで3回洗浄した。

【0258】

10ug/mLの抗マウスAlexa488抗体または抗ヒトAlexa555抗体を、2%FBSを含むPBSで1:200に希釈し、暗所、4℃で1時間、振盪しながらインキュベートした。細胞を冷PBSで3回洗浄した。

【0259】

内在化のために、温かい10%RPMI+75nMのlysotracker deep red (1/13, 333)を添加し、CO<sub>2</sub>インキュベータ中37℃で2時間インキュベートした。細胞を冷PBSで3回洗浄した。

【0260】

細胞を、PBS中の新鮮な4%ホルムアルデヒドを用いて室温で15分間固定し、次いで冷PBSで3回洗浄した。PBS中のHoescht dye 33342を1ug/mLで添加し、室温で10分間インキュベートし、その後、洗浄工程を行わずに培地を除去した。Nunc (商標) Lab-Tek (商標) については、カバーガラス (#1.5) を封入剤 (Prolong Diamond antifade) とともにチャンバースライドに封入し、気泡を回避した。次いで、スライドを平らな表面上、室温で24時間保存した。長期保存は、暗所、4℃で行った。Ibidiスライドについては、Ibidi封入剤を添加する。

【0261】

共焦点顕微鏡で写真を撮影した。

【0262】

実施例2. MNC2-ADCまたはMN20A10-ADC (抗体-薬剤コンジュゲートの小規模 (3mg) 調製についての概説)

非コンジュゲートMNC2、IgG1抗体、またはMN20A10、IgG2b抗体の溶液を、pH8.0のホウ酸緩衝剤中、過剰ジチオトレイトール (DTT) で還元した。37℃で2時間還元した後、エルマンのチオール試験 (Ellman's thiol test) を用いて、存在する遊離チオールの量についてアリコートを試験した。抗体のアイソタイプに応じて、遊離チオールの数は異なる。エルマン試薬を用いた遊離チオールの分析が、遊離チオールの数が不十分であることを示した場合、さらにDTTを添加し、37℃でさらなる期間インキュベートした。遊離チオールの測定およびさらなる還元剤添加のプロセスを、十分な数の遊離チオールが得られるまで繰り返した。MN20A10はMNC2よりも多くの還元剤を要し、MNC2よりも長い還元時間を要した。次いで、還元化抗体をpH6.0の2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸 (MES) 緩衝剤に入れ、遊離システインを11モル当量のマレイミド結合毒剤を用いて約1時間アルキル化した。次いで、粗ADCを脱塩カラムにより精製することで、過剰な毒剤、DMSOおよび他の小分子量汚染物質などの低分子量汚染物質を除去した。薬剤抗体比 (DAR) を、248nm (またはデルクステカンの場合は370nm) での毒素のUV吸光度と280nmでの抗体吸光度との比から計算した。薬剤抗体比 (DAR)、すなわち [薬剤:mAb] モル比を決定するためのコンジュゲートの分析は、文献的方法 (Effects of drug loading on antitumor activity of a monoclonal antibody drug conjugate. Hambl et al., K. J., Senter, P. D., Chace, D. F., Sun, M. M. C., Lenox, J., Cervený, C. G., Kissler, K. M., Bernhardt, S. X., Kopcha, A. K., Zabinski, R. F., M

10

20

30

40

50

eyer, D. L., and Francisco, J. A. Clin Cancer Res. 2004 Oct 15; 10 (20): 7063-70. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0789) に従い、疎水性相互作用クロマトグラフィー高速液体クロマトグラフィーにより行った。

【0263】

この手順に従い、MNC2-MMAE、MNC2-MMAF、MNC2-デルクステカン、MNC2-エキサテカン、MN20A10-MMAE、MN20A10-MMAF、MN20A10-デルクステカンおよびMN20A10-エキサテカンの小規模調製物を生成した。

【0264】

実施例3：MNC2-デルクステカンの小規模（3mg）調製物の生成の詳細な例

IgG1 MNC2抗体（3.00mg、1.578mL、1.9mg/mL、20nM）を37℃の水浴中で-80℃から1分間解凍した。マウスIgG1抗体について、タンパク質濃度を、14,000L/g-cmの吸光係数を用いてナノドロップにより決定した。抗体溶液を、遠心分離フィルタ（Amicon Ultra 0.5ML 50,000mw カットオフ（カタログ番号UFC505024）（14,000xg、4℃で8分間）を用いて濃縮し、100μL以下の体積を得た。次いで、緩衝剤を、100μL未満に濃縮し、約300μLの新鮮な緩衝剤に再懸濁することによって、pH8.0のホウ酸緩衝剤（25mMのテトラホウ酸ナトリウム、25mMのNaCl、1mMのEDTA）に交換した。このプロセスを合計3回繰り返した。濃縮した抗体（約100μL）を0.5mLのスクリュキャップ遠沈チューブに移し、pH8.0のホウ酸緩衝剤（25mMのテトラホウ酸ナトリウム、25mMの塩化ナトリウム、1mMのEDTA）で300μLにして、10mg/mLの抗体溶液を作製した。

【0265】

DTT（5mg、32.4mmol）を秤量し、これを5mL、pH8.0のホウ酸緩衝剤（25mMのテトラホウ酸ナトリウム、25mMの塩化ナトリウム、1mMのEDTA）に溶解することにより、ジチオトレイトール（DTT）の溶液（6.48mM）を調製した。DTT溶液（6.48mM、30.9μL、200nmol、10当量）を抗体溶液に添加し、チューブを37℃の水浴中で2時間加熱した。温かい反応混合物を15分ごとに定期的にボルテックスした。2時間後、反応混合物のアリコート（6μL）を取り出してエルマンのチオール分析を行い、IgG1について存在し得る合計8個のチオールのうち、抗体あたり7.68の遊離チオールが認められた。

【0266】

抗体還元混合物を氷浴中で4℃まで冷却し、溶液を遠心分離フィルタ（Amicon Ultra 0.5ML 50,000mw カットオフ）に移し、緩衝剤をpH6.0のMES緩衝剤（50mM）に3回切り替えた。[14,000xg、4℃で8分間]。濃縮した還元化抗体をpH6.0のMES緩衝剤（50mM）で640μLに希釈した。

【0267】

DMSO中のデルクステカンのストック溶液（10mg/mL、9.7mM）を、1.80mg、1.74μmolを秤量し、これをDMSO（180μL）に溶解することによって調製した。デルクステカン溶液（22.8μL、DMSO中10mg/mL）をDMSO（32.3μL）で希釈し、次いで50mMのMES pH6.0（50mM、55.1μL）でさらに希釈して、50%DMSO/50% pH6.0のMES緩衝剤（50mM）中の2nMのデルクステカンの溶液を作製することにより、50%DMSO/pH6.0のMES緩衝剤（50mM）中のデルクステカンの溶液（2mM、110.2μL、220nmol）を調製した。デルクステカン溶液（110.1μL、50%DMSO/50% pH6.0のMES緩衝剤、2mM、73.4nmol、11当量）を、640μLの還元化抗体を含む管に添加した。反応物を、縦軸回転体上で、室温で1時間ゆっくりと混合し、疎水性相互作用クロマトグラフィー（HIC）HPLCによってモニタリングし、これにより、未反応の抗体が残っているか否かが示された。微量の未反応抗体

の保持時間を反応生成物と比較して、未反応抗体が残っているかどうかを判定し、残っている場合、反応を継続させる。小規模の場合、時間は典型的には1～2時間である。大規模調製は、8～12時間にわたって反応させることを必要とする可能性がある。

【0268】

約1時間後、反応物を脱塩カラム (Cytiva PD miditrap g-25 中型、カタログ番号28918008) で精製した。カラムの頂部の蓋を外し、充填緩衝剤を廃棄した。カラム底部の蓋を外し、カラムを重力フロースルーによりGibco PBS pH7.4 (参照番号10010-023) (3x5mL) でコンディショニングした。抗体溶液 (750uL) をカラムにロードし、樹脂床 (resin bed) に完全に入るようにし、続いてPBS (250uL) に入れた。次いで、精製したADCをpH7.4のPBS (1.25mL) でカラムから溶出した。ナノドロップによるタンパク質濃度の測定は、1.25mLのPBS中で1.76mg/mLの抗体を示し、すなわち最初の3.0mgの非コンジュゲート抗体から2.2mg (収率73%) のコンジュゲート抗体を回収した。精製したADCをUV-VIS分光法により370nmおよび280nmで分析することで、6.7の薬剤抗体比 (DAR) を得た。

10

【0269】

実施例4: MN20A10-デルクステカン

MN20A10-デルクステカンと同様の方法であるが、20当量のDTTを用いて調製し、これにより抗体あたり4.77の遊離チオールを得た。デルクステカンとの結合後、精製したADCは、370nmおよび280nmでのUV-VIS分光法によって4.60のDARを示した。

20

【0270】

実施例5: MNC2-MC-VC-PAB-MMAE

MNC2-MC-VC-PAB-MMAEと同様の方法であるが、5当量のDTTを用いて調製し、これにより抗体あたり6.12の遊離チオールを得た。MC-VC-PAB-MMAEとの結合後、精製したADCは、HIC-HPLCにより4.39のDAR、248nmおよび280nmでのUV-VIS分光法により5.12のDARを示した。

【0271】

例6: MNC2-MC-VC-PAB-MMAF

MNC2-MC-VC-PAB-MMAFと同様の方法であるが、5当量のDTTを用いて調製し、これにより抗体あたり4.53の遊離チオールを得た。MC-VC-PAB-MMAFとの結合後、精製したADCは、HIC-HPLCにより3.65のDARを示した。

30

【0272】

実施例7: MNC2-MC-VC-PAB-エキサテカン

MNC2-MC-VC-PAB-エキサテカンと同様の方法であるが、10当量のDTTを用いて調製し、これにより抗体あたり6.20の遊離チオールを得た。MC-VC-PAB-エキサテカンとの結合後、精製したADCは、370nmおよび280nmでのUV-VIS分光法によって8.40のDARを示した。

【0273】

40

実施例8: MN20A10-VC-PAB-MMAE

MN20A10-MC-VC-PAB-MMAEと同様の方法であるが、7.5当量のDTTを用いて調製し、これにより抗体あたり4.08の遊離チオールを得た。MC-VC-PAB-MMAEとの結合後、精製したADCは、HIC-HPLCにより3.81のDAR、248nmおよび280nmでのUV-VIS分光法により4.11のDARを示した。

【0274】

実施例9: MN20A10-MC-VC-PAB-MMAF

MN20A10-MC-VC-PAB-MMAFと同様の方法で調製したが、15当量のDTTを用いて抗体あたり3.87の遊離チオールを得た。MC-VC-PAB-MM

50

A Fとの結合後、精製したADCは、HIC-HPLCにより3.79のDARを示した。

#### 【0275】

実施例10. MNC2-ADCまたはMN20A10-ADC抗体-薬剤コンジュゲートの大規模(30mg)調製

小規模ADC調製と同様の方法で、非コンジュゲート抗体の溶液をpH8.0のホウ酸緩衝剤中、過剰のジチオトレイトール(DTT)で還元した。2時間還元した後、エルマンのチオール試験(Elman's thiol test)を用いて、存在する遊離チオールの量についてアリコートを試験した。次いで、還元化抗体をpH6.0のMES緩衝剤中に入れ、遊離システインを、11モル当量のマレイミド結合毒剤で一晩アルキル化した。次いで、粗ADCを脱塩カラムにより精製した。

10

#### 【0276】

IgG1 MNC2抗体(15.7mLの1.92mg/mL、30.1mg、200nmol)のアリコートを37℃の水浴中で-80℃から1分間解凍した。体積を統合し、バックグラウンド減算をオフにしたマウスIgG1抗体環境を用いて、ナノドロップにより濃度を測定した。16.17mL中に30mgの抗体(1.9mg/mL 200nmol)。溶液を3枚の遠心分離フィルタ(Amicon Ultra 4mL 30,000mw カットオフ(参照番号UFC803024))を用いて濃縮し、緩衝剤をpH8.0のホウ酸緩衝剤(25mMのテトラホウ酸ナトリウム、25mMのNaCl、1mMのEDTA)に3回交換し、スイング型ローターを備えたEppendorf 5804R遠心分離機中4000gで15~25分間回転させた。濃縮した抗体を5mLのスクリーキャップチューブに移し、pH8.0のホウ酸緩衝剤(25mMのテトラホウ酸ナトリウム、25mMの塩化ナトリウム、1mMのEDTA)で3mLにして、10mg/mLの抗体溶液を作製した。

20

#### 【0277】

DTT(5mg)を秤量し、これを、pH8.0のホウ酸緩衝剤(5mL)(25mMのテトラホウ酸ナトリウム、25mMの塩化ナトリウム、1mMのEDTA)に溶解することにより、DTTの溶液(6.48mM)を調製した。DTT溶液(6.48mM、617uL、4000nmol、20当量)を抗体溶液に添加し、チューブを37℃のシェーカーインキュベータ中で2時間加熱した。2時間後、反応混合物のアリコート(6uL)を取り出してエルマンのチオール分析を行った。これらの結果の分析により、抗体1モルあたり7.12モルの遊離チオールが認められた。

30

#### 【0278】

同様の方法で、MN20A10を、遊離チオール試験を数回繰り返しながら、3時間かけて合計20当量のDTTで還元した。

#### 【0279】

次いで、還元化抗体のチューブを氷浴中で4℃まで冷却し、溶液を3枚の遠心分離フィルタ(Amicon Ultra 4mL 30,000~mw カットオフ(参照番号UFC803024))に均等に移し、緩衝剤をpH6.0のMES(50mM)緩衝剤に3回交換し、Eppendorf 5804R遠心分離機中4000gで15~25分間、pH6.0のMES(50mM)で回転させた。濃縮物を15mLのファルコンチューブに移し、濃縮器を緩衝剤で2回すすぎ、pH6.0のMES(50mM)緩衝剤で最終体積を6400uLにした。

40

#### 【0280】

デルクステカン(3.4mg、3.29uモル)を秤量し、これをDMSO(340uL)に溶解することにより、DMSO中のデルクステカンのストック溶液(10mg/mL、9.67mM)を調製した。DMSOストックデルクステカン溶液(9.67mMの227.5uL、2.22uモル)をDMSO(322.5uL)で希釈し、次いでpH6.0のMES(50mM、550uL)でさらに希釈して、50%DMSO/50%pH6.0のMES(50mM)中1100uLの2.068mg/mL(2mM)のデ

50

ルクステカンを作製することにより、50% DMSO / pH 6.0 の MES (50 mM) 中 2 mM の 1100  $\mu$ L 溶液を調製した。6400  $\mu$ L の還元化抗体を含む管にデルクステカン溶液 (2 mM、1000  $\mu$ L、2200 nmol、11 当量) を添加した。反応物を、縦型回転機上、室温で 18 時間混合し、1 時間後および翌日に HIC HPLC によりモニタリングした。

【0281】

18 時間後、反応物を脱塩カラム (Cytiva Sephadex G-25 中型、カタログ番号 17003301) で精製した。Sephadex g-25 中グレードゲル (10.13 g) を、丸底フラスコ中の Gibco PBS pH 7.4 (Gibco カタログ番号 10010-023、50 mL) で、室温で 3 時間膨張させた。25 g の Teledyne Isco Redi-Sep サンプルロードカートリッジ (Isco カタログ番号 693873240) をリングスタンドに取り付け、底部から PBS を注入することでカートリッジをプライミングした。樹脂を 3 時間膨潤させた後、フラスコをアルゴン / 真空で 3 回真空脱気した。次いで、膨潤させた樹脂をカートリッジに流し込み、底部のキャップを外して PBS を溶出させた。丸底フラスコを PBS で洗浄することで、すべての樹脂をカートリッジに移した。廃棄物容器はカラムの下方に置いた。カラムを、重力フロースルーにより Gibco PBS pH 7.4 (参照番号 10010-023) 3 x 50 mL でコンディショニングした。フィルタをカートリッジの上に配置し、ゲルをほんのわずかだけ圧迫するように注意しながら、カラム充填器具を押し下げた。カラムの高さは約 74 mm であった。抗体溶液 (7500  $\mu$ L) をカラムにロードし、樹脂床に完全に入るようにした。PBS (2500  $\mu$ L) をカラムに添加した。新しい 50 mL のファルコンチューブをカラムの下方に配置し、精製した ADC を PBS pH 7.4 (14 mL) で溶出した。カラム効率のため、50 mL の総量がカラムを通過するまで 1 mL の画分を通過させた。回収した溶液をナノドロップにより分析したところ、17.5 mL の PBS 中 1 mg / mL の抗体濃度、すなわち 17.5 mg の抗体が認められ、非コンジュゲート MNC 2 からの収率は 58 % であった。

【0282】

実施例 11 : MNC 2 - MMAE

MNC 2 - MMAE を同様の方法で調製したが、10 当量の DTT を用いて抗体あたり 6.32 の遊離チオールを得た。MC-VC-PAB-MMAE との結合後、精製した ADC は、HIC-HPLC により 4.10 の DAR、248 nm および 280 nm での UV-VIS 分光法により 5.20 の DAR を示した。

実施例 12 : MN20A10 - MMAE

【0283】

MN20A10 - MMAE を同様の方法で調製したが、20 当量の DTT を用いて抗体あたり 3.67 の遊離チオールを得た。MC-VC-PAB-MMAE との結合後、精製した ADC は、HIC-HPLC により 2.96 の DAR、248 nm および 280 nm での UV-VIS 分光法により 3.57 の DAR を示した。

【0284】

10

20

30

40

50

【表 8】

表8 : ADCのDAR

|     |          | DAR            | DAR           |           |        |
|-----|----------|----------------|---------------|-----------|--------|
| 実施例 | ADC      | HIC<br>HPLCによる | による           | DTT<br>当量 | 遊離チオール |
| 2   | MNC2-    | -              | 6.7 (370/280  | 10        | 7.68   |
| 3   | MN20A10- | -              | 4.6 (370/280  | 20        | 4.77   |
| 4   | MNC2-MC- | 4.39           | 5.12 (248/280 | 5         | 6.12   |
| 5   | MNC2-MC- | 3.65           | -             | 5         | 4.53   |
| 6   | MNC2-MC- | -              | 8.40 (370/280 | 10        | 6.2    |
| 7   | MN20A10- | 3.81           | 4.11 (370/280 | 7.5       | 4.08   |
| 8   | MN20A10- | 3.79           | -             | 15        | 3.87   |
|     |          |                |               |           |        |
| 9   | MNC2-    | -              | 4.5 (370/280  | 20        | 7.12   |
| 10  | MNC2-MC- | 4.10           | 5.20 (248/280 | 10        | 6.32   |
| 11  | MN20A10- | 2.96           | 3.57 (248/280 | 20        | 3.67   |

10

20

## 【0285】

概して、MN20A10は、MNC2抗体と比較して、同じ数の遊離チオールを得るのに予想外に多量の還元剤（DTT）を必要とした。

## 【0286】

MN20A10は、3.67～4.2の遊離チオールを得るのに20当量のDTTを必要とした（実施例11および3）。

## 【0287】

20当量のDTTでMN20A10をスケールアップすると、小規模の場合（4.2）より遊離チオールが少なくなった（3.67）。

30

## 【0288】

実施例7および8は、MN20A10の還元に伴う課題を示している。

## 【0289】

実施例7では、7.5当量のDTTで4.08の遊離チオールが得られたのに対し、実施例8では、さらに多く（15当量）使用した結果、同等またはより少ない還元（3.87の遊離チオール）であった。

## 【0290】

対照的にMNC2は、4.5～6.1の遊離チオールを得るのにわずか5当量のDTTしか必要としなかった（実施例5および4）。

40

## 【0291】

20当量のDTTをMNC2-デルクステカン（3mgおよび30mg）に使用し、可能な限り高いDARまで強制的に反応させた。（実施例2および9）

## 【0292】

結果を実施例2と直接比較するため、MNC2-MC-VC-PAB-エキサテカン（実施例6）を10当量のDTTで還元した。

## 【0293】

実施例13：ADC還元における遊離チオールの数を測定するためのエルマンのチオール試験

31.7mgのエルマン試薬（5，5'-ジチオビス（2-ニトロ安息香酸、Ther

50

moScientific カタログ番号22582) および164mgの酢酸ナトリウムを40mLの水に溶解し、2mMのエルマン試薬の40mL溶液を調製する。エルマンのストック溶液を4℃に保つ。

【0294】

還元化抗体アリコートの脱塩：スピンカラム (Zeba スピン脱塩カラム 参照番号89882) を2本取り、底部を折ってキャップを緩める。これらをスピン遠沈チューブ内に置く。微量遠心機 (Spectrafuge 24D) 中、 $1.5 \times g$  で1分間回転させ、緩衝剤を除去する。溶出した緩衝剤を廃棄する。400  $\mu$ Lの緩衝剤 (25mMのテトラホウ酸ナトリウム、25mMのNaCl、1mMのEDTAからなるpH8.0のホウ酸緩衝剤) を添加することによりカラムをコンディショニングし、5分間コンディショニングした後、 $1.5 \times g$  で1分間遠心分離する。回転の合間に溶出液を廃棄する。コンディショニングおよび遠心分離を繰り返す。

【0295】

エルマン試薬を調製：1mLのエルマン試薬を作製するために、850  $\mu$ Lの水をピペットで移す。100  $\mu$ Lの1M Tris-HCl pH8.0を、その後50  $\mu$ Lの上記で調製したエルマンストックを添加する。2本の新しい遠沈チューブ (Protein LoBind Tube, Eppendorf カタログ番号022431102) の底部に70  $\mu$ Lを添加し、一方をサンプル、他方を対照とラベル付けする。カラムのコンディショニングが完了したら、これをサンプルおよび対照とラベル付けした清潔な新しい遠沈チューブに移す。

【0296】

サンプルおよび対照の調製：希釈後のチオール最終濃度は10~50  $\mu$ Mの範囲内であるものとする。抗体の還元反応を、10mg/mLまたは66.7  $\mu$ Mで実施する。希釈は、濃度を13.3  $\mu$ Mにする5倍希釈である。過去のデータに基づく、約0.24 mAという数値は、対照が約0.03である場合、抗体あたり約4チオールに相当する。さらなる当量の還元剤を添加する場合、新しい濃度はその次のチオール試験に反映されるものとする。

【0297】

試験を実施する直前に対照溶液を調製する。対照は、抗体が存在しない反応と同じ濃度のDTTまたはTCEPを有するものとする。24  $\mu$ Lのホウ酸緩衝剤 (または適切な緩衝剤) をサンプル調製物および対照調製物とラベル付けされた2本のチューブにピペットで移す。6  $\mu$ Lの還元化抗体溶液および6  $\mu$ Lの対照溶液をそれぞれのチューブに添加する。各チューブから30  $\mu$ Lを、脱塩カラムを備えたそれぞれのチューブにゆっくりとロードする。脱塩樹脂の側面に触れないように、中央まで液体を分注する。チューブを $1.5 \times g$  で2分間回転させ、100  $\mu$ Lのキュベット中のフロースルーを、分光光度計で、412 nmで分析する。

【0298】

チオール試験における抗体の濃度を、 $C_1 \times V_1 = MNC_2 \times V_2$  を用いることにより計算した。式中、 $C_1$  は初期濃度 (66.7  $\mu$ M)、 $V_1$  はサンプルから取り出した6  $\mu$ L、および $V_2$  は希釈した30  $\mu$ Lである。MNC<sub>2</sub>について解くことで、チオールアッセイにおける抗体の濃度13.34  $\mu$ Mを得た。412 nmの吸光度を用いて、サンプル中の遊離チオールの濃度を測定する。まず、対照の吸光度をサンプルから減算する。次いで、対照の減算した吸光度を、ベールの法則  $A = \epsilon b c$  に当てはめ、式中、 $A$  は吸光度、 $\epsilon$  は抗体のモル吸光係数、 $b$  はキュベットの光路長、 $c$  はモル濃度である。エルマン試薬のモル吸光係数は14,150 L/mol-cmである。キュベットの光路長は1 cmである。サンプル中の遊離チオールのモル濃度を計算する。

【0299】

濃度が決定されると、カラムを通過する30  $\mu$ L~70  $\mu$ Lのエルマン試薬への希釈倍率は3.333となる。希釈倍率で調整したチオール濃度を抗体濃度で割ることで、抗体あたりの遊離チオール数を計算する。

10

20

30

40

50

## 【0300】

実施例14：UVによる薬剤抗体比（DAR）の測定

DARを推定するために、ADCのUV吸光度比（R）を石英キュベットの248nmと280nmで測定する。 $R = (248\text{nmでの吸光度}) / (280\text{nmでの吸光度})$ 。

## 【0301】

Rの値を以下の式に当てはめ、DARを計算する： $DAR = (21 \times R - 9) / (1.615 - 0.1425 \times R)$

## 【0302】

実施例15：HIC-HPLCによる薬剤抗体比（DAR）の測定

ADCのDARを推定するのに使用可能な別の方法は、HIC-HPLC分析を使用することによるものである。簡潔には、ADCと非コンジュゲート抗体のサンプルをHPLCに注入する。異なる保持時間で観察されるピークは、異なる薬剤抗体比に対応する。HPLCの保持時間およびピーク面積は表計算ソフトで分析され、ピークのDARをIgG1では1～8、IgG2では1～10に任意に設定する。ピーク間の時間を、抗体に結合した特定の数の薬剤に対応する整数にこれらのピークを当てはめようとする分析者と組み合わせ使用。このプロセスは、各DARに複数の異なるADCが存在するという事実によって複雑化する。例えば、DARが1の場合、8個のACD（マレイミド結合部位）が考えられる。一般に、異なるDAR間の保持時間の差は、同じDARを有するACDの群における保持時間の差よりも大きい。分析者が各ピークのDARを設定した後、ピーク面積を合計し、各DARピーク面積からの寄与を計算する。次いで、全ピークに基づいてサンプルの平均DARを決定する。

## 【0303】

疎水性相互作用クロマトグラフィおよび逆相高速液体クロマトグラフィによる薬剤抗体比（DAR）ならびに薬剤負荷分布、Jun Ouyang, Methods Mol. Biol. 2013; 1045: 275-83。

## 【0304】

実施例16. xCELLigenceアッセイによる、MNC2-ADCまたはMN20A10-ADCによる標的細胞死滅の測定

乳がん細胞（T47D）、非小細胞肺癌細胞（NCI-H1975）、および膀胱がん細胞（HPAF II）を含む標的がん細胞のリアルタイム死滅を評価するため、xCELLigence RTCA MP機器（Agilent）でアッセイを行った。標的がん細胞を、多電極ウェルプレートに5000細胞／ウェル（50,000細胞／mLのストック100μL）の密度で播種し、37℃／5%CO2インキュベータで24時間培養した。mAb MNC2 ADCまたはmAb MN20A10-ADCを、対応する増殖培地中で2X溶液として調製し、各濃度の100μLを標的細胞に添加した。陽性対照（100%細胞死滅）として、ADCの代わりに1%トリトンまたは1μMのタキソールで細胞を処理した。37℃／5%CO2インキュベータで40～120時間インキュベーションした後、細胞死滅を評価した。本アッセイでは、インピーダンスをリアルタイムで測定する。付着したがん細胞が死滅して電極表面から剥がれ落ちると、インピーダンス（絶縁性）が低下する。

## 【0305】

xCELLigence機器を用いてリアルタイムで死滅をモニタリングすることにより、MNC2-ADCおよびMN20A10-ADCを、低MUC1\*発現細胞と高MUC1\*発現細胞との両方の死滅化能力についてアッセイした。xCelligenceシステムでは、付着性の標的がん細胞を電極アレイ96ウェルプレートにプレーティングする。付着細胞は電極を絶縁し、インピーダンスを増加させる。付着したがん細胞の数はインピーダンスに正比例する。抗体および抗体-薬剤コンジュゲートははるかに小さく、インピーダンスに大きく寄与しない。したがって、インピーダンスの増加はがん細胞の増殖を反映し、インピーダンスの減少はがん細胞の死滅を反映する。

## 【0306】

乳がん細胞株 T47D-wt は、MUC1\* を低レベル～低中レベルで発現する。膵がん細胞株 HPAF II-wt は、さらに低レベルの MUC1\* を発現し、肺がん細胞株 NC-IH1975 は、いっそう低レベルの MUC1\* を発現する。図 24、図 26、および図 27 に示されるように、初期のがん細胞と一致する、低レベルの MUC1\* を発現するこれらのがん細胞は、MNC2-ADC および MN20A10-ADC が中程度のナノモル用量で投与された場合、これらにより効果的に死滅する。乳がん細胞株 T47D-MUC1\* および HPAF II-MUC1\* は、後期がんと一致する高レベルの MUC1\* を発現するように操作されている。図 25 および図 28 に示されるように、高レベルの MUC1\* を発現するがん細胞は、非常に低いナノモル用量で完全に死滅する。図 49A～49D は、低～中レベルの MUC1\* を発現する T47D 乳がん細胞に対する MNC2-MMAE、MN20A10-MMAE、MNC2-MMAF、および MN20A10-MMAF の死滅化抗力を示す。図に見られるように、抗 MUC1\* 抗体 MNC2 および MN20A10 はどちらも、40 時間の時間枠内に 500 nM の濃度で投与された場合、標的細胞を効果的に死滅させる。図 49E～49J に見られるように、120 時間後、167 nM という低濃度でも強力な死滅が見られる。実際、MN20A10-MMAE は、56 nM で有効な死滅を示す。ここで、MNC2-デルクステカン および MN20A10-デルクステカンとの比較により、同じ濃度、すなわち 167 nM で、MNC2-MMAE、MNC2-MMAF、MN20A10-MMAE、および MN20A10-MMAF と同等の死滅が示される。

10

20

30

40

50

#### 【0307】

次の実験セットでは、MNC2-ADC および MN20A10-ADC を、高レベルの MUC1\* を発現するがん細胞を死滅させる能力について試験する。MUC1\* は、これらの細胞の増殖を駆動する増殖因子受容体であるため、MUC1\* のレベルが高いほど、細胞を死滅させることがより困難になることが予想される。意外なことに、実験は、より多くの MUC1\* が発現されるほど、細胞を死滅させることがより容易であることが示している。図 50A～50D は、後期がんを示す、高レベルの MUC1\* を発現するように操作された T47D 乳がん細胞が、19 nM という低濃度、さらには 6 nM という低濃度でも、MNC2-MMAE、MNC2-MMAF、および MN20A10-MMAE により効率的に死滅することを示す。図 N25E～N25J に例示されるように、実験を 120 時間継続させた場合、MNC2-MMAE、MNC2-MMAF、および MNC2-デルクステカンでは、6 nM という低濃度でも、高レベルの MUC1\* を発現するがん細胞のほぼ完全な死滅が見られる。付着可能な MMAF とデルクステカンの数が少なかった MN20A10 では、19 nM～167 nM の間のより高濃度でがん細胞の死滅が見られた。

#### 【0308】

低レベルの MUC1\* を発現する乳がん細胞と同様に、低レベルの MUC1\* を発現する NC-IH1975 非小細胞肺がん細胞は、MNC2-MMAE、MNC2-MMAF、MNC2-デルクステカン、MN20A10-MMAE、または MN20A10-MMAF で処置した場合、40 時間で静止状態となるが、120 時間で死滅する（図 51A～図 51I）。MUC1\* を、低レベルながら H1975 肺がん細胞よりは高レベルで発現する HPAF II-wt 膵がん細胞は、MNC2-MMAE、MNC2-MMAF、MN20A10-MMAE、および MN20A10-MMAF により、167 nM～500 nM の濃度で、40 時間で死滅し、これは 120 時間後に 56 nM の濃度での死滅に改善する（図 52A～図 52I）。しかし、膵臓細胞が高レベルの MUC1\* を発現するように操作される場合、MNC2-ADC および MN20A10-ADC は、がん細胞の死滅化においてはるかに強力である。約 40 時間後、167 nM～56 nM の間の濃度でがん細胞のほぼ完全な死滅が見られ、120 時間後には 19 nM～56 nM の間の濃度でほぼ完全な死滅が達成される（図 53A～図 53I）。

#### 【0309】

次いで、図 N4E～N4H に示されるように、マレイミドカプロイル、バリナーシトル

リン、およびパラアミノベンジルを含むリンカーを介して毒素エキサテカン (toxin Exatecan) をMNC2にコンジュゲートさせた。さらに、プロピレングリコールMES pH6.0緩衝剤を含む溶液中でコンジュゲートを行った。

【0310】

図65A～65Dに例示されるように、動物に移植された腫瘍細胞は、腫瘍が早期から後期に発達するにつれて、MUC1\*発現を大幅に増加させる。移植された腫瘍細胞はT47D-wt乳がん細胞であり、これは、数十前に死亡した乳がん患者由来の細胞株である。ATCCにより提供される細胞株は、数百万回ではないにしても数千回は増殖している。本質的にすべてのT47D細胞は同一である。0日目の細胞を染色すると、細胞はMUC1\*よりも完全長MUC1をより多く発現し、染色強度が弱く、MUC1\*受容体の数が少ないことが認められ、これは早期がんであることを示す。腫瘍移植後62日、つまりヒトの時間で約7年に相当する日数で、MUC1\*の発現が、発現の範囲および発現の強度の点で、後期腫瘍 (latest stage tumor) において低発現から高発現へと劇的に変化したことを容易に認識することができる。対照的に、腫瘍の連続切片を染色すると、完全長MUC1が発現しており、これは、表面発現後にMUC1\*へと切断されるためであると予想される。しかし、染色の強度は増加しておらず、発現したMUC1の大部分が後期腫瘍において増殖因子受容体型MUC1\*へと切断されたことを示している。

10

【0311】

がん臨床医および病理学者に既知であるように、患者において発生する腫瘍は、細胞株がそうであるように、単一クローンの均質な集団ではない。実際の腫瘍は、低抗原発現細胞および高抗原発現細胞から構成されるという点で、多少不均質である。しかし、早期がんは、低発現体である大部分の細胞により特徴付けられ、一方後期がんは、高発現体である大部分の細胞により特徴付けられることも既知である。

20

【0312】

実施例17. PrestoBlue生/死細胞アッセイによる、MNC2-ADCまたはMN20A10-ADCによる標的細胞死滅の測定

T47D乳がん細胞、NCI-H1975非小細胞肺がん細胞、HPAF II膵がん細胞を含む標的がん細胞に対するmAb MNC2-ADCおよびmAb MN20A10-ADCの死滅活性を測定する別の方法は、PrestoBlue生/死細胞アッセイ (ThermoFisher) を用いることである。標的がん細胞を、黒色壁の透明底96ウェル組織培養プレートに5000細胞/ウェル (50,000細胞/mLのストック100μL) の密度で播種し、37℃/5%CO<sub>2</sub>インキュベータ中で一晚インキュベートした。MNC2 ADCおよびMN20A10 ADCを、対応するがん細胞増殖培地中で2X溶液として調製し、各濃度の100μLを標的がん細胞に添加した。陽性対照 (100%死滅) として、ADCの代わりに1μMのタキソールで細胞を処理した。37℃/5%CO<sub>2</sub>インキュベータ中で72時間～120時間インキュベートした後、PrestoBlue HSアッセイ (ThermoFisher) を用いて蛍光により細胞生存率を測定した。簡潔には、インキュベート期間後、20μLのPrestoBlue HS溶液を添加した。蛍光 (Ex560nm/Em590nm) を、30～90分間のインキュベート後にテカンププレートリーダーを用いて記録した。生存率をPrestoBlue HS染色によって判定し、1μMのタキソール処置細胞に対して正規化した。

30

40

【0313】

正規化蛍光値をグラフプログラムSigma Plotにインポートし、データをMNC2-ADCまたはMN20A10-ADC濃度対正規化蛍光シグナルとしてプロットし、4パラメータのヒルの方程式:  $f = y_0 + a * x^b / (c^b + x^b)$  を用いてカーブフィットした。

【0314】

標的がん細胞に対するMNC2-ADCおよびMN20A10-ADCの死滅化能力についてのフィットされたデータからIC50値を計算し、nMで記録する。

50

## 【0315】

標的細胞の死滅またはがん細胞の形態の変化を視覚的に評価するため、T47D乳がん細胞、NCI-H1975非小細胞肺癌細胞、HPAF II膵がん細胞を含む標的がん細胞の明視野画像を、MNC2-ADCまたはMN20A10-ADCの示した濃度で120時間培養した後、オリンパスIX-71顕微鏡で、4倍または20倍の倍率で撮影した。

## 【0316】

図46A～図48Nは、MNC2-ADCまたはMN20A10-ADCのいずれかによる処置後の、様々な型のがん細胞の拡大写真を示す。死滅効果は、細胞数の大幅な減少、特徴的な平たく広がった形態から小円化形態への細胞形態の変化、および細胞の浮き上がりとして容易に認識され得る。対照的に、対照ウェルは、通常の平たく広がった形態を有するコンパクトな細胞の融合性単層を示し、浮遊死細胞は見られなかった。図46A～46Cおよび図46G～46Fは、MNC2-MMAEで処置したT47D-MUC1\*乳がん細胞を示す。図46D～46Fおよび図46G～46Jは、MNC2-デルクステカンで処置したT47D-MUC1\*乳がん細胞を示す。図47A～47Bは、MNC2-MMAEで処置したDU145ホルモン抵抗性前立腺がん細胞を示す。図47C～47Dは、MNC2-デルクステカンで処置したDU145ホルモン抵抗性前立腺がん細胞を示す。図48A～48Bおよび図48G～48Hは、MN20A10-MMAEで処置したT47D-MUC1\*乳がん細胞を示す。図48C～48Dおよび図48I～48Jは、MN20A10-デルクステカンで処置したT47D-MUC1\*乳がん細胞を示す。図48K～48Lは、MN20A10-MMAEで処置したDU145ホルモン抵抗性前立腺がん細胞を示す。図48M～48Nは、MN20A10-デルクステカンで処置したDU145ホルモン抵抗性前立腺がん細胞を示す。視覚的に明らかであるように、図46A～48Nに示される抗MUC1\*-ADCの死滅効果は、図38A～45Dに示されるフローサイトメトリーにより測定された死滅と一致する。

## 【0317】

実施例18．動物試験：In VivoでのMNC2-ADCまたはMN20A10-ADCによる標的細胞死滅の測定

MNC2-ADCまたはMN20A10-ADCによる異種移植の標的がん細胞死滅を測定するためにIn Vivo実験を行った。

## 【0318】

乳がん異種移植では、90日放出のエストロゲンペレット (Innovative Research Laboratories) をあらかじめ移植した雌NOD/SCIDマウス (体重18～22g、6～8週齢、Charles River Laboratories) に、イソフルラン麻酔 (ISOTHEsia, 250ml (HENRY SCHEN, NDC: 11695-6776-2) 下で、中～高レベルのMUC1\* (ATCC) を発現するルシフェラーゼ-mCherry陽性T47D乳がん細胞100万個を、BD 26G Insulin Syringes with Detachable Needle (Fisher cat: 329652) またはBD 28G Low Dose U-100 Insulin Syringes (Fisher cat: 329461) を用いて皮下注射した。

## 【0319】

肺癌異種移植または膵がん異種移植では、雌NU/NUマウス (体重18～22g、6～8週齢、Charles River Laboratories) に、イソフルラン麻酔 (ISOTHEsia, 250ml (HENRY SCHEN, NDC: 11695-6776-2) 下で、低～中レベルのMUC1\*を発現するルシフェラーゼ-mCherry陽性NCI-H1975非小細胞肺癌細胞 (ATCC) 100万個、またはルシフェラーゼ-mCherry陽性HPAF II膵がん細胞 (ATCC) 100万個を皮下注射した。

## 【0320】

異種移植後4～6日後、マウスの首筋に150  $\mu$ l、30 mg/mLのD-ルシフェリン (Xenolight (商標) D-ルシフェリンカリウム塩、PerkinElmer P/N122799) を腹腔内注射し、その後イソフルラン麻酔下に置き、その後Xenogen IVIS-Spectrumシステム (Perkin Elmer) を用いて生物発光画像を取得した。偽処置 (mock-treated) 群およびADC処置群が同等の初期腫瘍サイズを有することを確実にするために、異種移植マウスを均等に振り分けるために群選択を行った。

#### 【0321】

異種移植後5～7日目に、マウスにリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) または5～10 mg/kgのMNC2-ADCまたは5～10 mg/kgのMN20A10-ADCを腹腔内注射した。その後、マウスにMNC2-ADCまたはMN20A10-ADCの週1回、合計4回の注射を行った。

#### 【0322】

生物発光イメージングを週1回行うことで、腫瘍増殖を非侵襲的にリアルタイムで測定した。腫瘍移植後の日数の関数として放射輝度 (光子/秒) で、データをグラフで表した。

#### 【0323】

腫瘍増殖の一部の測定では、マウスにおける腫瘍のカリパス測定を行った。各異種移植腫瘍のx/y平面における2つの最長の垂直軸を、2人の独立した観察者により0.1 mm単位で測定した。深さは、yとして定義される垂直軸のうちの最短軸に相当すると仮定した。マウスの意識がある間にデジタルノギスを用いて測定を行い、以下の式：異種移植体積 =  $xy^2/2$  に従って算出した。

#### 【0324】

安楽死の人道的基準は、(IACUCの方針に従って) 腫瘍量の直径が20 mmに達したか、もしくはそれを超えた場合、腫瘍が潰瘍化したか、もしくは腫瘍位置が正常な歩行、摂食/飲水/もしくは排泄を妨げた場合、ボディコンディションスコアが2であった場合、または異種移植前の体重から15%以上体重が減少した場合に遵守した。

#### 【0325】

いくつかの異なる型のヒトがんを移植した免疫不全マウスにおけるMNC2-ADCおよびMN20A10-ADCの死滅化抗力を評価するために、in vivo実験も行ったすべての場合において、ヒトがん細胞株は、mCherry、およびルシフェラーゼも発現するように操作されており、生物発光による腫瘍の測定が可能となった。腫瘍体積を光学的に測定するために、ルシフェラーゼ基質であるルシフェリンを動物に注射し、ルシフェリン注射後10分以内にIVIS機器で生物発光を撮影する。ルシフェラーゼの発現レベルは、場合によっては大きく変化し、異なる細胞株にわたって腫瘍サイズを比較することを困難にしている。その場合、細胞株間の腫瘍サイズの比較を可能にするために、腫瘍のカリパス測定も行った。加えて、その場合、細胞株間の腫瘍サイズの目視比較を行えるように、動物の写真を撮影した。

#### 【0326】

ある実験では、MNC2-MMAEを、90日のエストロゲン放出ペレットを有する雌NOD/SCID/GAMMA (NSG) マウスに投与し、次いで、早期がんを示す低～中レベルのMUC1\*を発現する1MのT47D-wt乳がん細胞、または後期がんを示す高レベルのMUC1\*を発現するように操作された1MのT47D-MUC1\*細胞のいずれかを移植した。5 mg/kgの用量でMNC2-MMAEを最初に注射する前に、腫瘍を7日間生着させた。14日目および20日目に、用量を10 mg/kgに増加させた。まず、低レベルのMUC1\*を発現するT47D-wt腫瘍をマウスに移植した。図57Aの対照マウスを、図57BのMNC2-MMAE処置マウスと比較すると、処置マウスは、実験が終了する56日目まで、腫瘍量がほとんどない状態で生存したことを容易に認識することができる。対照的に、未処置対照マウスにおける腫瘍は増殖し続け、過剰な腫瘍量のために56日目にマウスを殺しなければならなかった。次に、高レベルのM

10

20

30

40

50

UC1\*を発現するT47D-MUC1\*腫瘍を移植したマウスを再検討した。T47D-wtを移植した対照動物（図57Aおよび図57E）対T47D-MUC1\*を移植した動物（図57Cおよび図57F）の生物発光を比較すると、T47D-MUC1\*株は、T47D-wt細胞株よりもわずかに少ないルシフェラーゼを発現する。しかし、腫瘍の目視検査は、2つの細胞株間で腫瘍サイズが同等であったことを示した。T47D-wt腫瘍を有する動物と同一のスケジュールに従って、T47D-MUC1\*腫瘍を有する動物にMNC2-MMAEを投与した。しかし、図57Dを見ると、対照マウスは過剰な腫瘍量を有し、殺しなければならなかったため、MNC2-MMAE処置動物は34日目から実験が終了する56日目まで無腫瘍であることは明らかである。この同一実験を並行して行ったが、動物にはMN20A10-MMAEを投与した（図58A～58F）。MN20A10-MMAEの結果は、MNC2-MMAEの結果と同じ傾向に従うが、ただしこの実験ではMNC2-MMAEがMN20A10よりも有効である。この相違に対する1つの考えられる説明は、MNC2抗体に結合した毒素の数（DAR3.85）対MN20A10（DAR2.96）に結合した毒素の数の差である。

【0327】

別の実験では、雌nu/nuマウスに、早期がんを示す低～中レベルのMUC1\*を発現する1MのヒトNCI-H1975非小細胞肺癌細胞を移植した。腫瘍移植後7日目および14日目、5mg/kgのMNC2-MMAEを動物に注射した。19日目に、用量を10mg/kgに増加させた。生物発光写真は、19日目および27日目にMNC2-MMAEの用量を10mg/kgに増加させると、腫瘍細胞の死滅が増加したことを明確に示す（図59A～59C）。MNC2-MMAE処置の有効性は、対照群の殺動物の腫瘍重量対処置群の腫瘍重量を比較することによって評価することができる。対照動物は、生命を脅かす腫瘍サイズのため、移植後20日目に殺しなければならず、腫瘍の重量は0.82、0.3グラム、0.49グラム、0.41グラムおよび0.5グラムであった。対照的に、処置群において54日目に殺する必要があった動物は0.28グラムおよび0.4グラムであった。処置群の2匹のマウスは、実験を任意に終了した67日目にも腫瘍のないままであった。動物をMN20A10-MMAEで処置した、並行して行った実験の結果（図60A～60D）は、おそらくMN20A10-MMAEのDARが低かったため、MN20A10-MMAEはMNC2-MMAEよりも効果が弱かったものの、同一の傾向を示した。それでもなお、処置は、生物発光写真、および26日目に殺しなければならなかった対照動物から切除された腫瘍の重量に見られるように、腫瘍増殖を抑制した。腫瘍重量は、2.2グラム～0.65グラムに及んだ。図60Dのグラフは、用量を19日目に10mg/kgに増加させた後、腫瘍体積が劇的に下降したことを示す。データは、用量が開始時により高かった場合、腫瘍増殖がより劇的に減少したであろうことを示唆する。

【0328】

さらに別の実験では、早期がんを示す低～中レベルのMUC1\*を発現する0.5MのHPAF II-wt膵がん細胞、または後期がんを示す高レベルのMUC1\*を発現するように操作された0.5MのHPAF II-MUC1\*膵がん細胞のいずれかを移植した雌nu/nu（NSG）マウスに、MNC2-MMAEを投与した。腫瘍を5日間生着させた後、5日目、12日目および19日目に10mg/kgの用量でMNC2-MMAEを3回注射した。まず、低レベルのMUC1\*を発現するHPAF II-wt腫瘍を移植したマウスを試験した。図61Aの対照マウスを、図61BのMNC2-MMAE処置マウスと比較すると、18日目に、処置マウスが対照マウスよりも小さい腫瘍を有していることを容易に認識することができる。IVIS機器は、25日目に正常に機能せず、対照動物において不自然に低い読み取り値をもたらした。このため、25日目にカリパス測定も行った。図61Hに見られるように、カリパスにより測定された平均腫瘍体積は、対照動物とHPAF II-wt腫瘍を移植された処置動物との間で大幅に異なる。

【0329】

次に、高レベルのMUC1\*を発現するT47D-MUC1\*腫瘍を移植したマウスを

試験した。T47D-wtを移植した対照動物（図57Aおよび図57E）対T47D-MUC1\*を移植した動物（図57Cおよび図57F）の生物発光を比較すると、T47D-MUC1\*株は、T47D-wt細胞株よりもわずかに少ないルシフェラーゼを発現する。しかし、腫瘍の目視検査は、2つの細胞株間で腫瘍サイズが同等であったことを示した。T47D-wt腫瘍を有する動物と同一のスケジュールに従って、T47D-MUC1\*腫瘍を有する動物にMNC2-MMAEを投与した。しかし、図57Dを見ると、対照マウスは過剰な腫瘍量を有し、殺しなければならなかったため、MNC2-MMAE処置動物は34日目から実験が終了する56日目まで無腫瘍であることは明らかである。

【0330】

実施形態

実施形態1. 式(I)：

【0331】

【化31】

[Ab]-[Z-L-R-X]<sub>y</sub> 式(I)

のコンジュゲートであって、式中、Xは、トポイソメラーゼIを阻害することができる化合物またはチュープリン形成を阻害することができる化合物から誘導される部分であり、Rは結合部分であり、Lは、N末端に結合したZおよびC末端に結合したRを有する、ジペプチドまたはトリペプチドまたはテトラペプチド連結部分であり、[Ab]は、3つの重鎖(HC)相補性決定領域(CDR)：MUC1\* HC-CDR1、MUC1\* HC-CDR2、and MUC1\* HC-CDR3を含む抗MUC1\*結合ドメインを含む抗体であり、ここで、MUC1\*結合ドメインのMUC1\* HC-CDR1、MUC1\* HC-CDR2、およびMUC1\* HC-CDR3は、表1に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含み、MUC1\*結合ドメインは、3つの軽鎖(LC)相補性決定領域(CDR)：MUC1\* LC-CDR1、MUC1\* LC-CDR2、およびMUC1\* LC-CDR3を含み、MUC1\*結合ドメインのMUC1\* LC-CDR1、MUC1\* LC-CDR2、およびMUC1\* LC-CDR3は、表1に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含み、Zは、システイン残基の硫黄原子と共有結合を形成することができるコンジュゲート部分であり、yは1~10の整数である、コンジュゲート。

【0332】

実施形態2. Lが、バリンおよびシトルリンを含む、実施形態1に記載のコンジュゲート。

【0333】

実施形態3. Lが、グリシンおよびフェニルアラニンを含む、実施形態1に記載のコンジュゲート。

【0334】

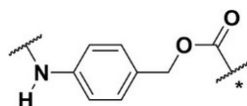
実施形態4. Rがパラ-アミノベンジルを含む、実施形態1に記載のコンジュゲート。

【0335】

実施形態5. Rが、

【0336】

【化32】



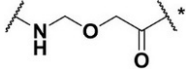
を含んだ部分を含み、式中、\*はX基の結合点を示す、実施形態1に記載のコンジュゲート。

【0337】

実施形態 6 . R が、以下：

【 0 3 3 8 】

【 化 3 3 】



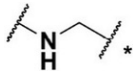
の構造を含んだ部分を含み、式中、\*はX基の結合点を示す、実施形態 1 に記載のコンジュゲート。

【 0 3 3 9 】

実施形態 7 . R が、以下：

【 0 3 4 0 】

【 化 3 4 】



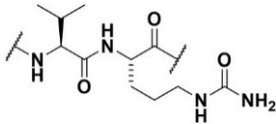
の構造を含んだ部分を含み、式中、\*はX基の結合点を示す、実施形態 1 に記載のコンジュゲート。

【 0 3 4 1 】

実施形態 8 . L が、

【 0 3 4 2 】

【 化 3 5 】



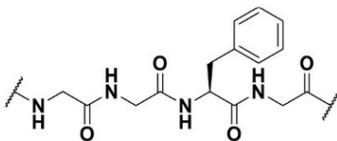
の構造を含んだジペプチド結合部分である、実施形態 1 に記載のコンジュゲート。

【 0 3 4 3 】

実施形態 9 . L が、

【 0 3 4 4 】

【 化 3 6 】



の構造を含んだテトラペプチド結合部分である、実施形態 1 に記載のコンジュゲート。

【 0 3 4 5 】

実施形態 1 . O X が、MMA E または MMA F である、実施形態 1 に記載のコンジュゲート。

【 0 3 4 6 】

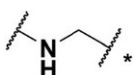
実施形態 1 1 . X が、エキサテカンまたは D x d である、実施形態 1 に記載のコンジュゲート。

【 0 3 4 7 】

実施形態 1 2 . R が、

【 0 3 4 8 】

【 化 3 7 】



の構造を含んだ部分を含み、式中、\*はX基の結合点を示し、XはD x dである、実施形

10

20

30

40

50

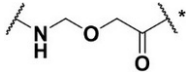
態 1 に記載のコンジュゲート。

【 0 3 4 9 】

実施形態 1 3 . R が、

【 0 3 5 0 】

【 化 3 8 】



の構造を含んだ部分を含み、式中、\* は X 基の結合点を示し、X はエキサテカンである、  
実施形態 1 に記載のコンジュゲート。

【 0 3 5 1 】

実施形態 1 4 . 抗体が、アイソタイプ I g G 1 または I g G 2 である、実施形態 1 に記載のコンジュゲート。

【 0 3 5 2 】

実施形態 1 5 . 抗体が、アイソタイプ I g G 2 b である、実施形態 1 に記載のコンジュゲート。

【 0 3 5 3 】

実施形態 1 6 . 抗 M U C 1 \* 結合ドメインが、配列番号 3 8 または 4 4 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含んだ重鎖を含む、実施形態 1 に記載のコンジュゲート。

【 0 3 5 4 】

実施形態 1 7 . 抗 M U C 1 \* 結合ドメインが、配列番号 3 9 または 4 5 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含んだ重鎖可変ドメインを含む、実施形態 1 に記載のコンジュゲート。

【 0 3 5 5 】

実施形態 1 8 . 抗 M U C 1 \* 結合ドメインが、配列番号 4 1 または 4 7 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含んだ軽鎖を含む、実施形態 1 に記載のコンジュゲート。

【 0 3 5 6 】

実施形態 1 9 . 抗 M U C 1 \* 結合ドメインが、配列番号 4 2 または 4 8 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含んだ軽鎖可変ドメインを含む、実施形態 1 に記載のコンジュゲート。

【 0 3 5 7 】

実施形態 2 0 . 抗 M U C 1 \* 結合ドメインが、配列番号 1 2 9 または 1 3 0 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する配列を含んだ単鎖可変フラグメント ( s c F v ) を含む、実施形態 1 に記載のコンジュゲート。

【 0 3 5 8 】

実施形態 2 1 . 抗 M U C 1 \* 結合ドメインを含んだ抗体を含む抗体コンジュゲートであって、抗体が、マレイミド-システイン結合を介してペイロードにコンジュゲートされ、ペイロードが、リンカーおよび細胞毒性化合物を含み、細胞毒性化合物が、チューブリン

10

20

30

40

50

阻害剤またはトポイソメラーゼⅠ阻害剤を含む、抗体コンジュゲート。

【0359】

実施形態22．リンカーが、バリンを含む、実施形態21に記載の抗体コンジュゲート。

【0360】

実施形態23．リンカーが、シトルリンを含む、実施形態21に記載の抗体コンジュゲート。

【0361】

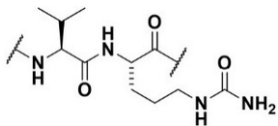
実施形態24．リンカーが、バリンおよびシトルリンを含む、実施形態21に記載の抗体コンジュゲート。

【0362】

実施形態25．リンカーが、

【0363】

【化39】



の構造を含んだジペプチド結合部分である、実施形態21に記載の抗体コンジュゲート。

【0364】

実施形態26．リンカーが、少なくとも1つのグリシンを含む、実施形態21に記載の抗体コンジュゲート。

【0365】

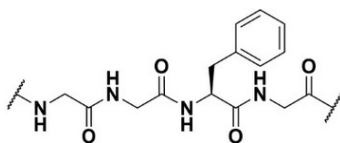
実施形態27．リンカーが、少なくとも1つのグリシンおよびフェニルアラニンを含む、実施形態21に記載の抗体コンジュゲート。

【0366】

実施形態28．リンカーが、

【0367】

【化40】



の構造を含む、実施形態21に記載の抗体コンジュゲート。

【0368】

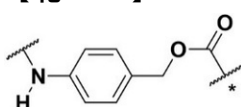
実施形態29．リンカーがパラ-アミノベンジルを含む、実施形態21に記載の抗体コンジュゲート。

【0369】

実施形態30．リンカーが、

【0370】

【化41】



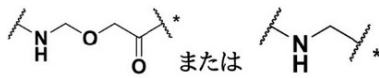
の構造の基を含み、式中、\*は細胞毒性基の結合点を示す、実施形態21に記載の抗体コンジュゲート。

【0371】

実施形態31．リンカーが、

【 0 3 7 2 】

【 化 4 2 】



の構造の基を含み、式中、\*は細胞毒性基の結合点を示す、実施形態 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

【 0 3 7 3 】

実施形態 3 2 . チューブリン阻害剤が MMA E または MMA F である、実施形態 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

【 0 3 7 4 】

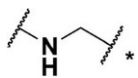
実施形態 3 3 . トポイソメラーゼ I 阻害剤が、エキサテカンもしくはデルクステカン、またはそれらの誘導体である、実施形態 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

【 0 3 7 5 】

実施形態 3 4 . リンカーが、

【 0 3 7 6 】

【 化 4 3 】



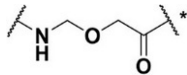
の構造を含んだ基を含み、式中、\*は X 細胞毒性基の結合点を示し、トポイソメラーゼ I 阻害剤が D x d である、実施形態 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

【 0 3 7 7 】

実施形態 3 5 . リンカーが、

【 0 3 7 8 】

【 化 4 4 】



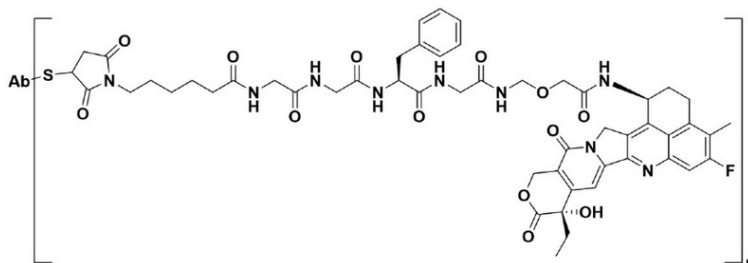
の構造を含んだ基を含み、式中、\*は X 細胞毒性基の結合点を示し、トポイソメラーゼ I 阻害剤がエキサテカンである、実施形態 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

【 0 3 7 9 】

実施形態 3 6 . 以下に提供される構造：

【 0 3 8 0 】

【 化 4 5 】



を含み、式中、n は 1 ~ 1 0 である、実施形態 2 1 に記載の抗体コンジュゲート。

【 0 3 8 1 】

実施形態 3 7 . 以下に提供される構造：

【 0 3 8 2 】

10

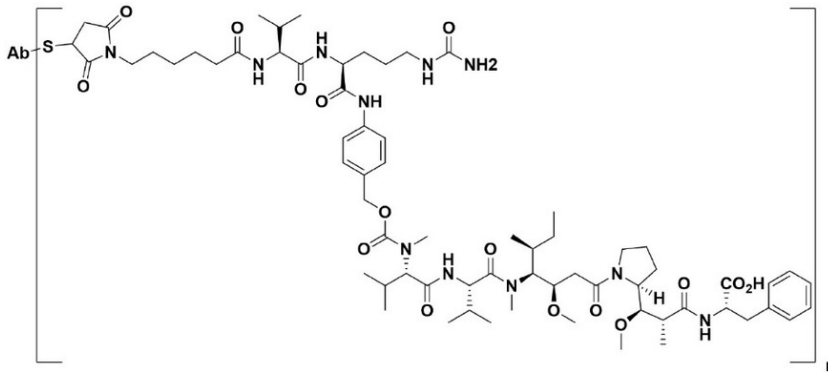
20

30

40

50

## 【化 4 6】



10

を含み、式中、 $n$  は 1 ～ 10 である、実施形態 21 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【0383】

実施形態 38．抗体のアイソタイプが IgG1 または IgG2 である、実施形態 21 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【0384】

実施形態 39．抗体のアイソタイプが IgG2b である、実施形態 21 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【0385】

実施形態 40．抗体が少なくとも 2 つのペイロードにコンジュゲートされる、実施形態 21 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【0386】

実施形態 41．抗体が少なくとも 3 つのペイロードにコンジュゲートされる、実施形態 21 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【0387】

実施形態 42．抗体が少なくとも 4 つのペイロードにコンジュゲートされる、実施形態 21 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【0388】

実施形態 43．抗体が少なくとも 5 つのペイロードにコンジュゲートされる、実施形態 21 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【0389】

実施形態 44．抗体が少なくとも 6 つのペイロードにコンジュゲートされる、実施形態 21 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【0390】

実施形態 45．抗体が少なくとも 7 つのペイロードにコンジュゲートされる、実施形態 21 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【0391】

実施形態 46．抗体が少なくとも 8 つのペイロードにコンジュゲートされる、実施形態 21 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【0392】

実施形態 47．抗 MUC1 \* 結合ドメインが、3 つの軽鎖 (LC) 相補性決定領域 (CDR) : LC-CDR1、LC-CDR2、および LC-CDR3 を含み、MUC1 \* 結合ドメインの LC-CDR1、LC-CDR2、および LC-CDR3 は、表 1 に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含み、LC-CDR1、LC-CDR2、および LC-CDR3 のうちの少なくとも 1 つは、0 ～ 2 個のアミノ酸修飾を含む、実施形態 21 に記載の抗体コンジュゲート。

## 【0393】

実施形態 48．抗 MUC1 \* 結合ドメインが、3 つの重鎖 (HC) 相補性決定領域 (CDR) : HC-CDR1、HC-CDR2、および HC-CDR3 を含み、MUC1 \* 結

20

30

40

50

合ドメインのHC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3は、表1に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含み、HC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3のうちの少なくとも1つは、0～2個のアミノ酸修飾を含む、実施形態21に記載の抗体コンジュゲート。

【0394】

実施形態49．抗MUC1＊結合ドメインが、表2に示される配列に対して少なくとも約80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、または99％の同一性を有する配列を含んだ重鎖可変ドメインを含む、実施形態21に記載の抗体コンジュゲート。

【0395】

実施形態50．抗MUC1＊結合ドメインが、表2に示される配列に対して少なくとも約80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、または99％の同一性を有する配列を含んだ軽鎖可変ドメインを含む、実施形態21に記載の抗体コンジュゲート。

【0396】

実施形態51．抗MUC1＊結合ドメインが、表3に示される配列に対して少なくとも約80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、または99％の同一性を有する配列を含んだ単鎖可変フラグメント（scFv）を含む、実施形態21に記載の抗体コンジュゲート。

【0397】

実施形態52．MUC1＊結合ドメインおよびCD3結合ドメインを含んだ抗体であって、抗MUC1＊結合ドメインは、3つの重鎖（HC）相補性決定領域（CDR）：MUC1＊HC-CDR1、MUC1＊HC-CDR2、およびMUC1＊HC-CDR3を含み、MUC1＊HC-CDR1が、配列番号1のアミノ酸配列を含み、MUC1＊HC-CDR2が、配列番号2のアミノ酸配列を含み、MUC1＊HC-CDR3、配列番号3のアミノ酸配列を含み、MUC1＊結合ドメインが、3つの軽鎖（LC）相補性決定領域（CDR）：MUC1＊LC-CDR1、MUC1＊LC-CDR2、およびMUC1＊LC-CDR3を含み、MUC1＊LC-CDR1が、配列番号13のアミノ酸配列を含み、MUC1＊LC-CDR2が、配列番号14のアミノ酸配列を含み、MUC1＊LC-CDR3、配列番号15のアミノ酸配列を含み、CD3結合ドメインが、3つの重鎖（HC）相補性決定領域（CDR）：CD3HC-CDR1、CD3HC-CDR2、およびCD3HC-CDR3を含み、ここで、CD3結合ドメインのCD3HC-CDR1、CD3HC-CDR2、およびCD3HC-CDR3が、表2に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含み、CD3結合ドメインが、3つの軽鎖（LC）相補性決定領域（CDR）：CD3LC-CDR1、CD3LC-CDR2、およびCD3LC-CDR3を含み、CD3結合ドメインのCD3LC-CDR1、CD3LC-CDR2、およびCD3LC-CDR3が、表4に示されるものから選択されるアミノ酸配列を含む、抗体。

【0398】

実施形態53．Fcドメインを含む、実施形態52に記載の抗体。

【0399】

実施形態54．Fcドメインがヘテロ二量体Fcドメインである、実施形態52に記載の抗体。

【0400】

実施形態55．ヘテロ二量体Fcドメインがノブ鎖およびホール鎖を含み、ノブインホール（KiH）構造を形成する、実施形態52に記載の抗体。

【0401】

10

20

30

40

50

実施形態 56. ノブ鎖が、配列番号 121、122、123、または 124 から選択される配列に対して少なくとも約 95% の同一性を有する配列を含む、実施形態 55 に記載の抗体。

【0402】

実施形態 57. ホール鎖が、配列番号 125、126、127、または 128 から選択される配列に対して少なくとも約 95% の同一性を有する配列を含む、実施形態 55 に記載の抗体。

【0403】

実施形態 58. 抗 MUC1 \* 結合ドメインが、表 2 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の同一性を有する配列を含んだ重鎖可変ドメインを含む、実施形態 52 に記載の抗体。

10

【0404】

実施形態 59. 抗 MUC1 \* 結合ドメインが、表 2 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の同一性を有する配列を含んだ軽鎖可変ドメインを含む、実施形態 52 に記載の抗体。

【0405】

実施形態 60. 抗 MUC1 \* 結合ドメインが、表 3 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の同一性を有する配列を含んだ単鎖可変フラグメント (s c F v) を含む、実施形態 52 に記載の抗体。

20

【0406】

実施形態 61. CD3 結合ドメインが、配列番号 26 または 31 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の同一性を有する配列を含んだ重鎖を含む、実施形態 52 に記載の抗体。

30

【0407】

実施形態 62. CD3 結合ドメインが、配列番号 29 または 35 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の同一性を有する配列を含んだ軽鎖を含む、実施形態 52 に記載の抗体。

【0408】

実施形態 63. CD3 結合ドメインが、配列番号 131 または 132 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の同一性を有する配列を含んだ単鎖可変フラグメント (s c F v) を含む、実施形態 52 に記載の抗体。

40

【0409】

実施形態 64. 配列番号 50、52、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98、102、106、110、または 114 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の同一性を有する配列を含む、実施形態 52 に記載の抗体。

50

【0410】

実施形態65．実施形態1～64のいずれか一項に記載の抗体または抗体コンジュゲートのがんの処置を必要とする対象に投与する工程を含む、がんを処置する方法。

【0411】

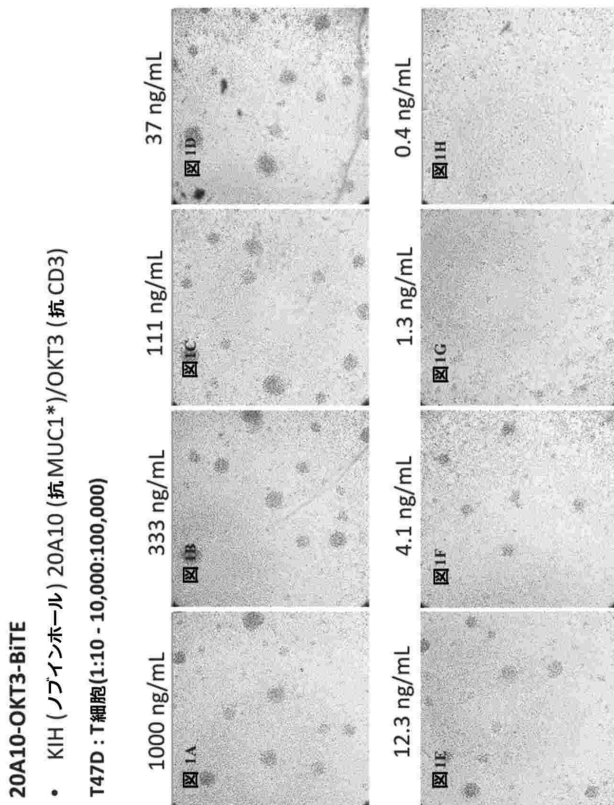
実施形態66．がんがMUC1＊を発現する、実施形態65に記載の方法。

【0412】

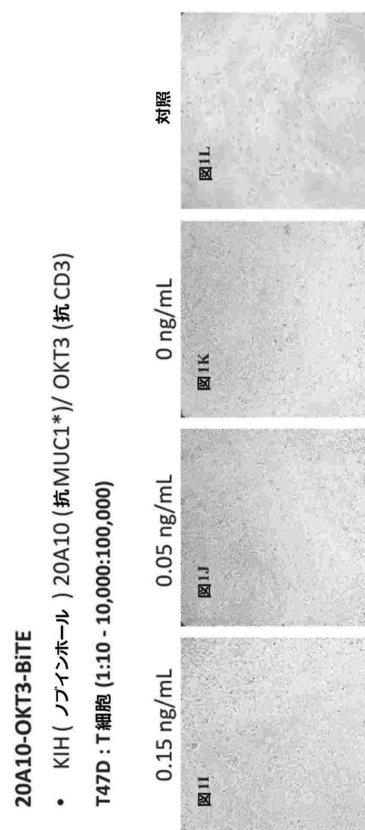
実施形態67．がんが、乳がん、結腸がん、前立腺がん、膵がん、または肺がんである、実施形態65に記載の方法。

【図面】

【図1-1】



【図1-2】



10

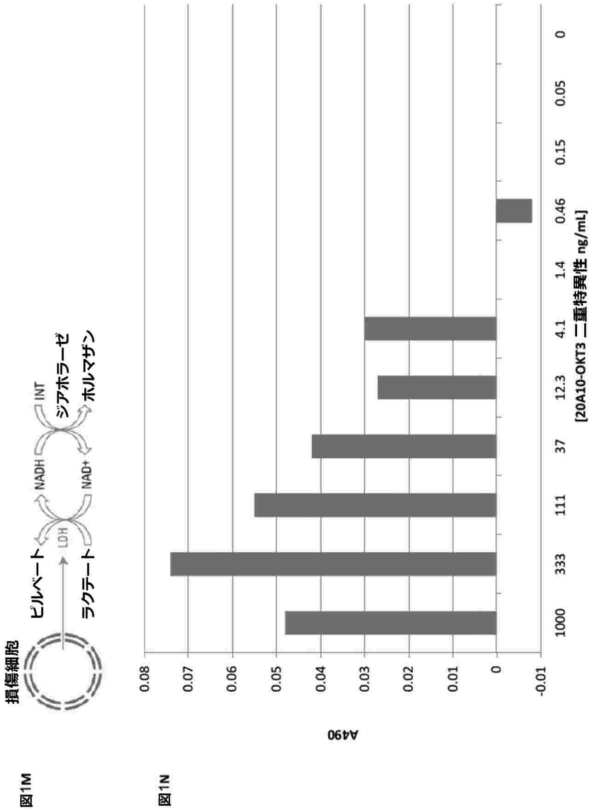
20

30

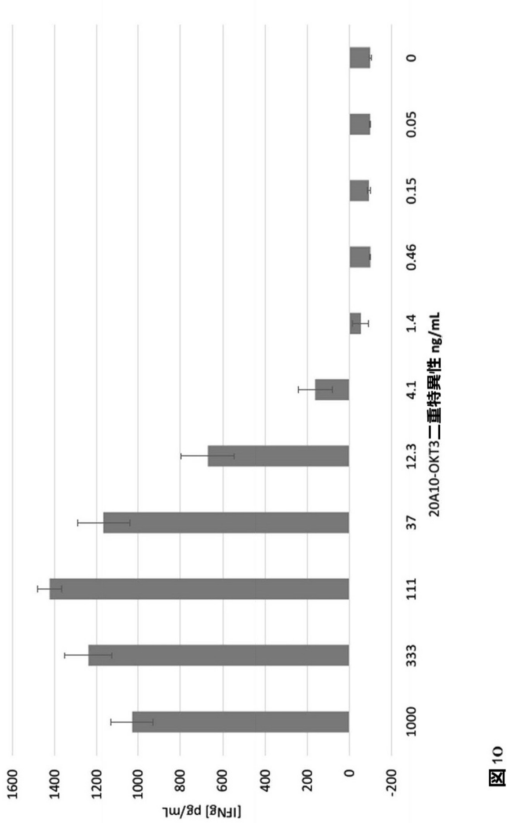
40

50

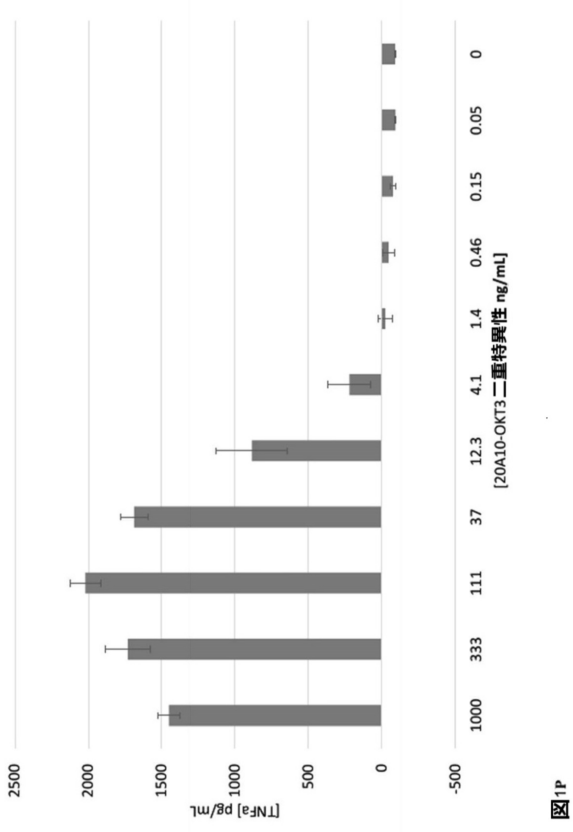
【図 1 - 3】



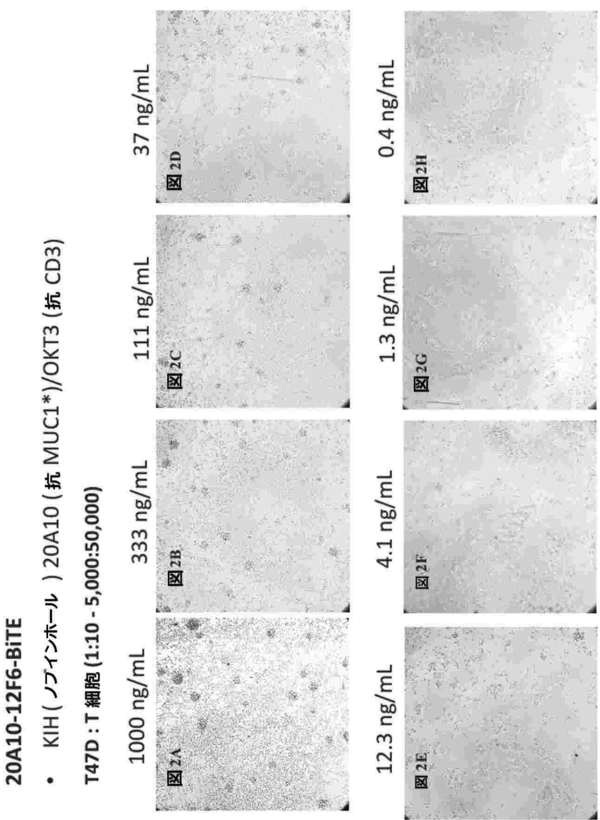
【図 1 - 4】



【図 1 - 5】



【図 2 - 1】



10

20

30

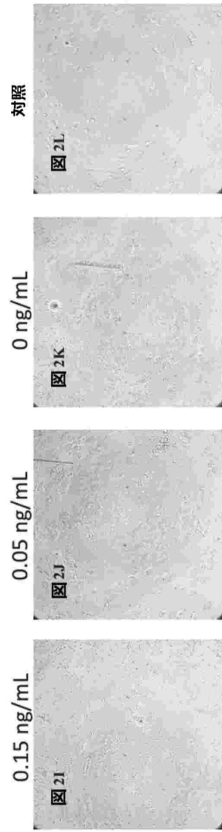
40

50

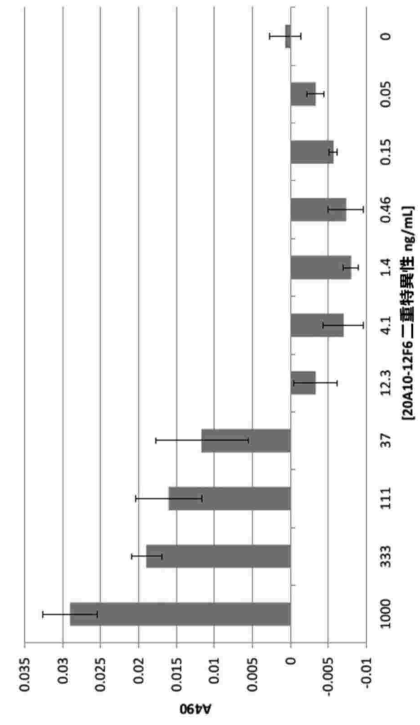
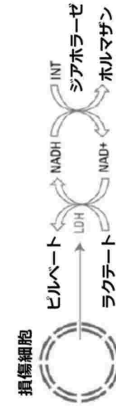
【圖 2-2】

**20A10-12F6-BiTE**

- KIH( ノブインホール ) 20A10 (抗 MUC1\*)/OKT3 ( 抗 CD3 )
- T47D : T細胞 (1:10 - 5,000:50,000)



【圖 2-3】



10

20

【圖 2-4】

## ELISA - IFNg 定量化

- 二重特異性濃度の関数としてのT細胞応答

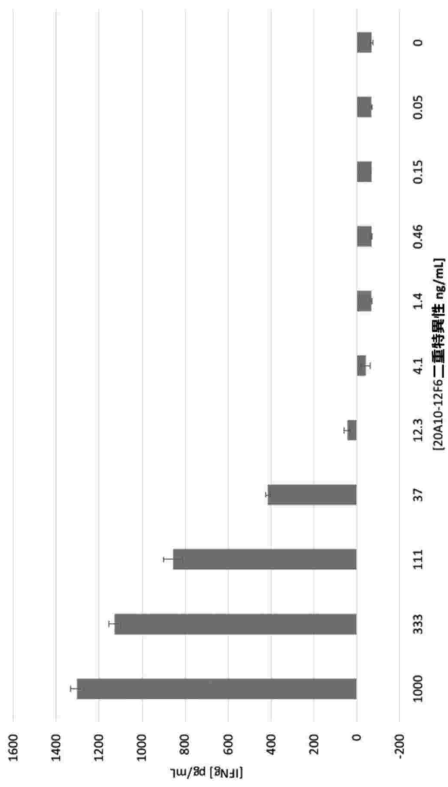
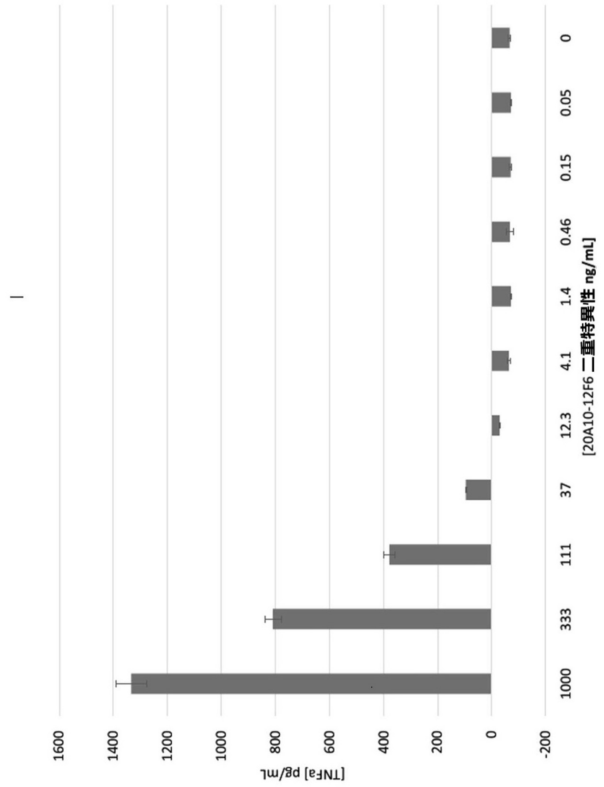


图 20

【圖 2-5】



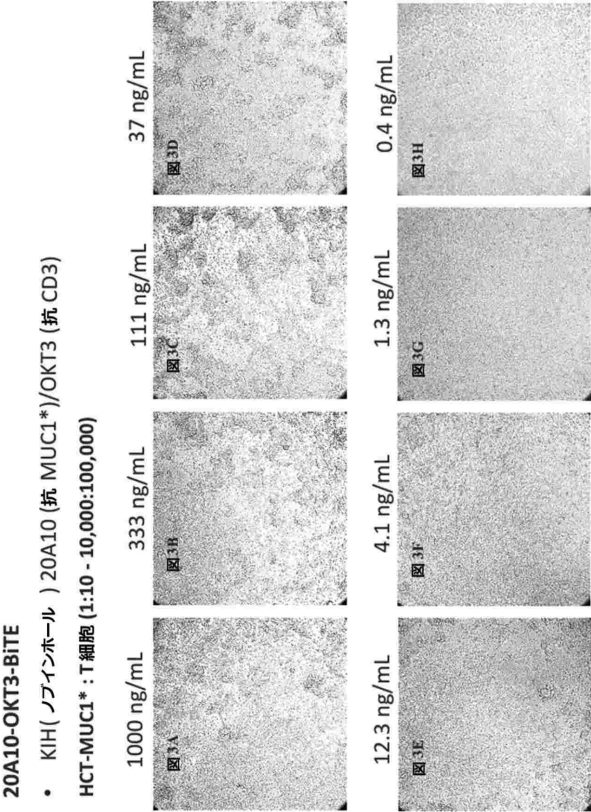
2P

30

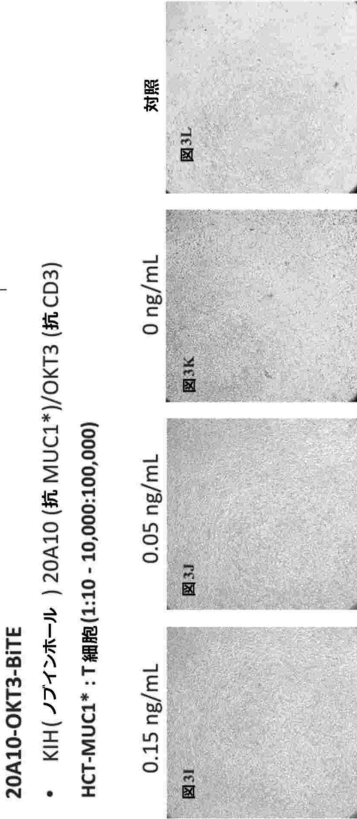
40

50

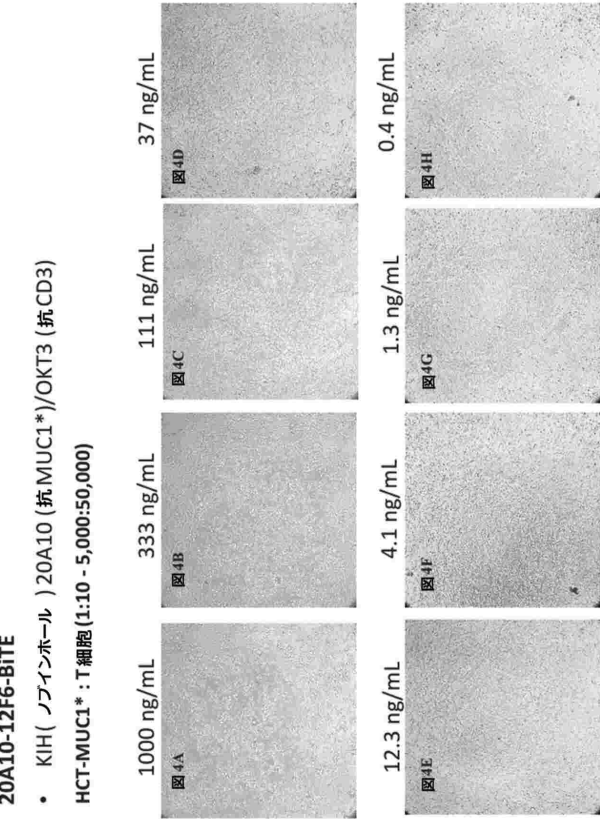
【図 3 - 1】



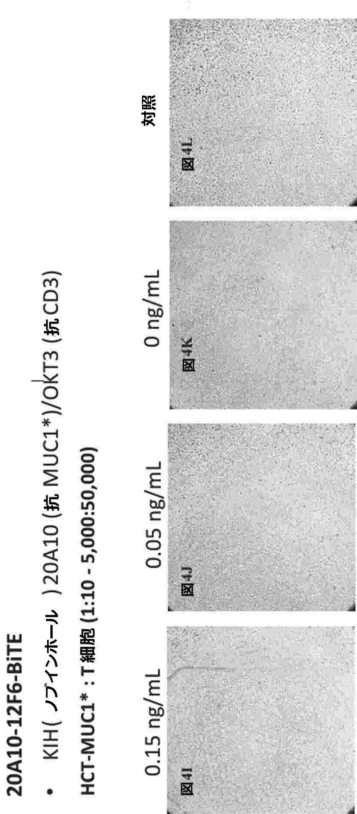
【図 3 - 2】



【図 4 - 1】



【図 4 - 2】



10

20

30

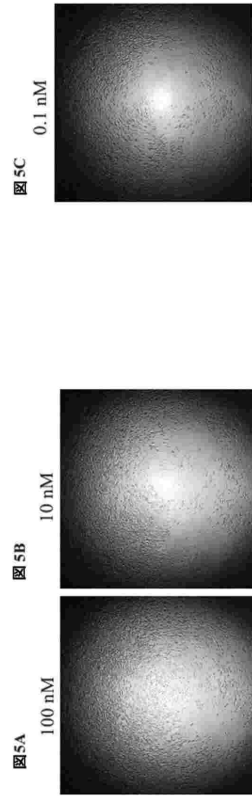
40

50

【図 5】

HCT-WT 陰性対象

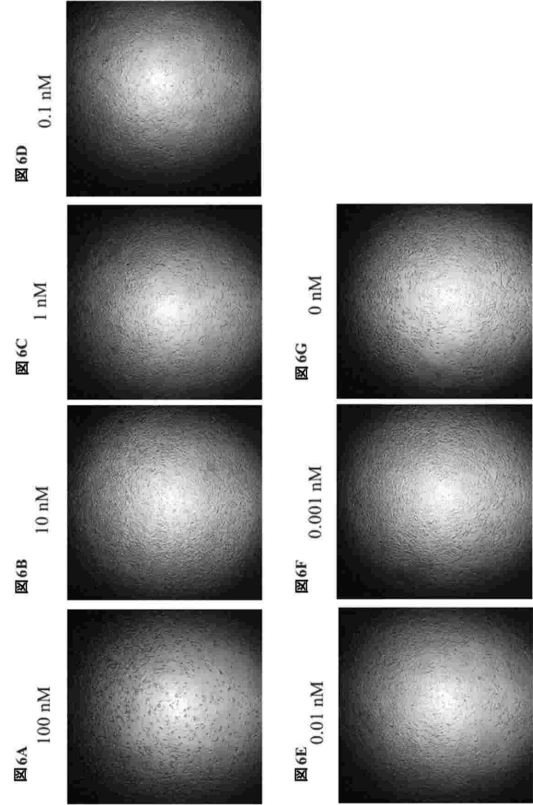
細胞 (10,000/ウェル) をMNC2-ADCと混合し、72時間インキュベートした。



【図 6】

HCT-MUC1\*陽性

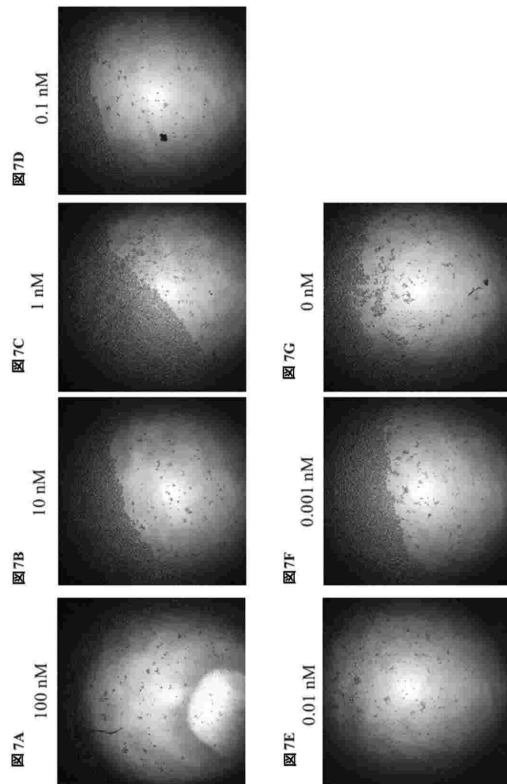
細胞 (10,000/ウェル) をMNC2-ADCと混合し、72時間インキュベートした。



【図 7】

K562-WT 陰性対象

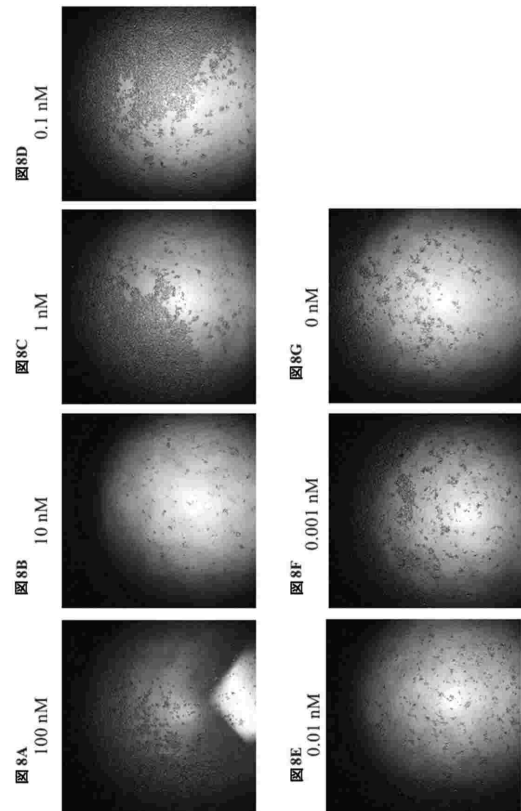
細胞 (10,000/ウェル) をMNC2-ADCと混合し、72時間インキュベートした。



【図 8】

K562-MUC1\*陽性

細胞 (10,000/ウェル) をMNC2-ADCと混合し、72時間インキュベートした。



10

20

30

40

50

【図 9 A】

72時間後の細胞生存性

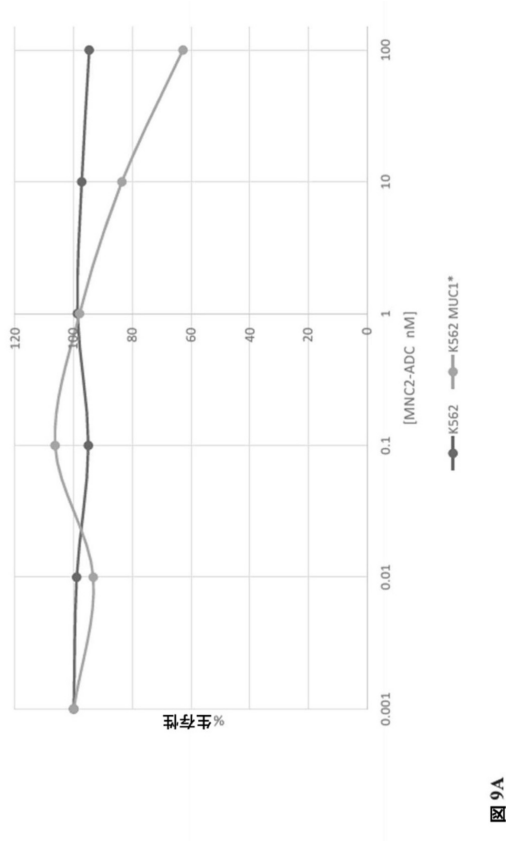


図 9A

【図 9 B】

72時間後の細胞生存性

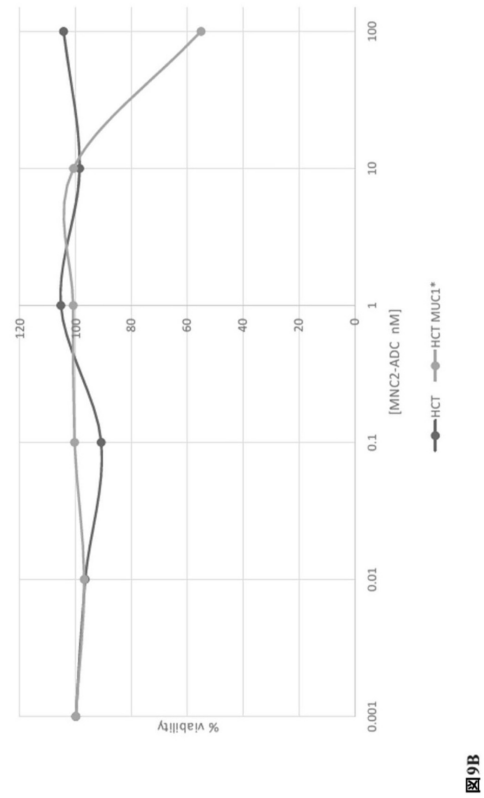
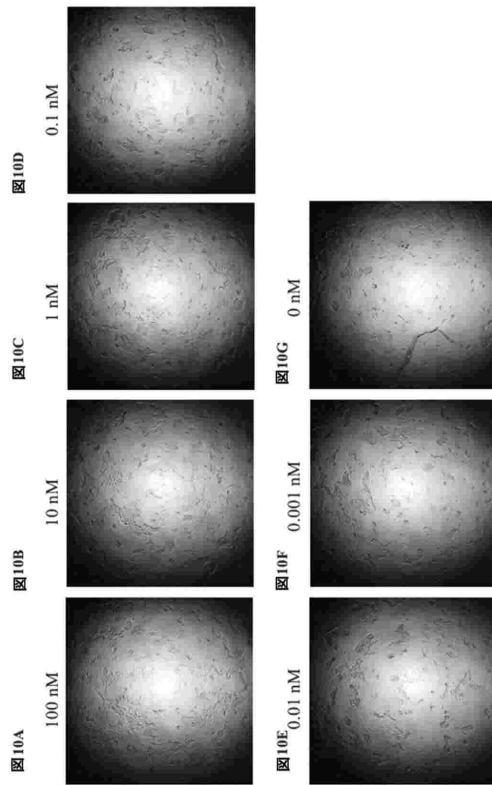


図9B

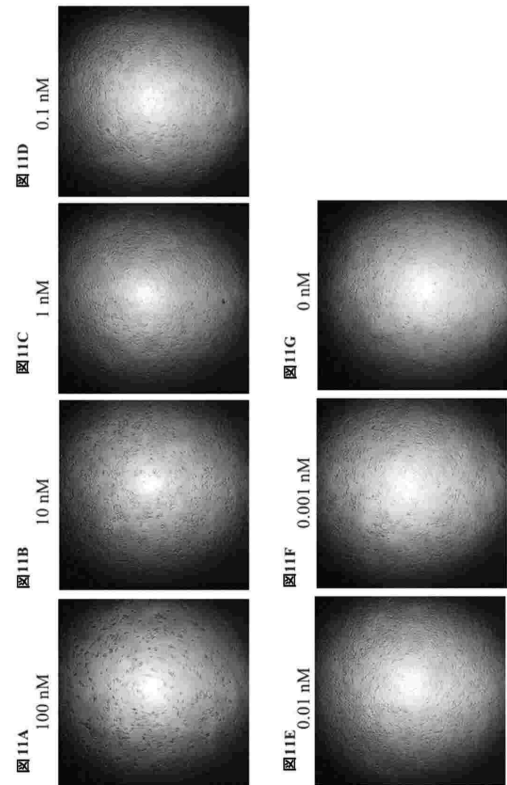
【図 1 0】

T47D-wt乳がん細胞株は、完全型MUC1(抗体で認識されない)とMUC1\*(部分的)との両方を発現する細胞 (10,000/ウェル) をMNC2-ADCと混合し、72時間インキュベートした。



【図 1 1】

さらに多くのMUC1\*を発現するように形質転換したT47D-MUC1\* T47D細胞 (10,000/ウェル) をMNC2-ADCと混合し、72時間インキュベートした。



10

20

30

40

50

【図 1 2】

72時間後の細胞生存性

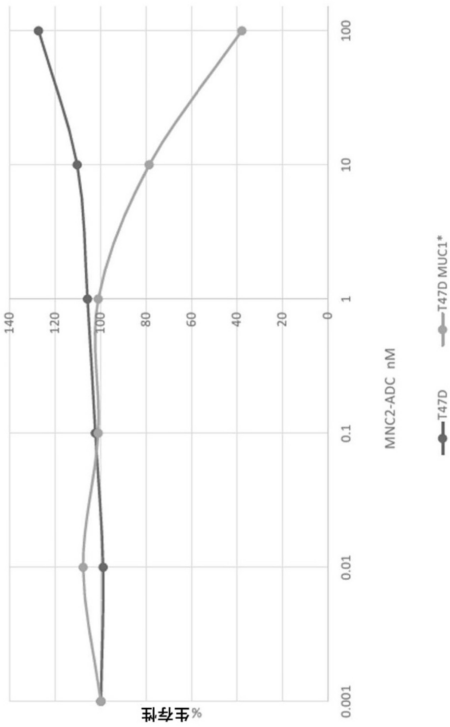
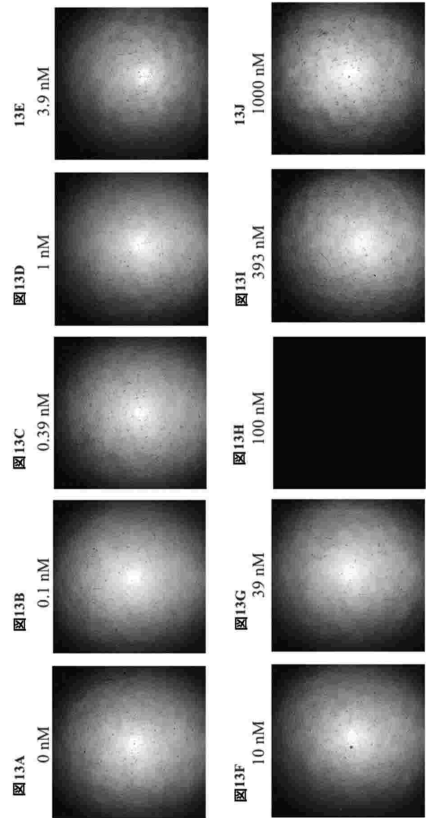


図 12

【図 1 3】

T47D-wt乳がん細胞株は、完全長MUC1 (抗体で認識されない)と MUC1\* (細胞的)との両方を発現する細胞 (10,000/ウェル) をMNC2-ADCと混し、72時間インキュベートした。

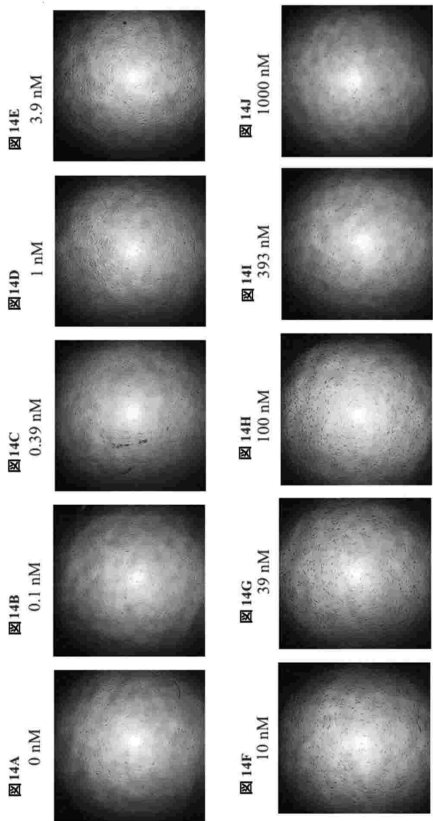


10

20

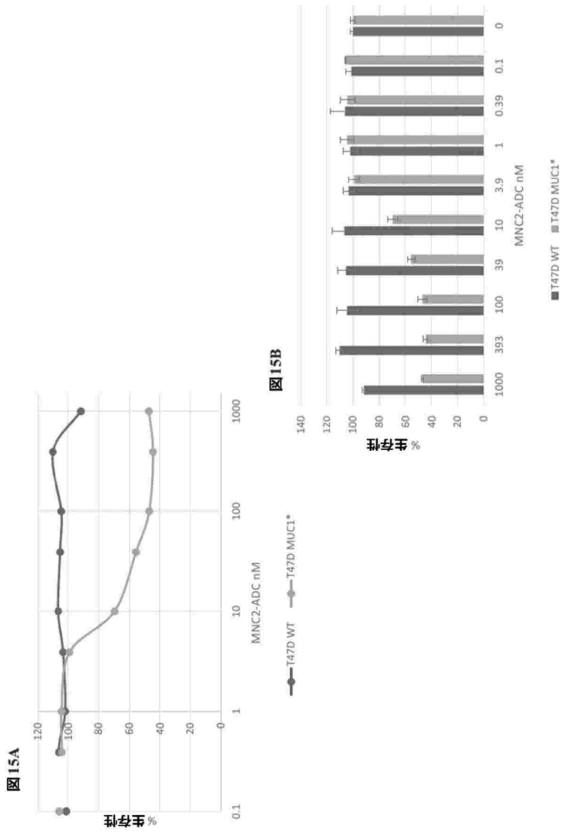
【図 1 4】

さらに多くのMUC1\*を発現するように形質転換したT47D-MUC1\* T47D細胞 (10,000/ウェル) をMNC2-ADCと混し、72時間インキュベートした。



【図 1 5】

72時間後の細胞生存性

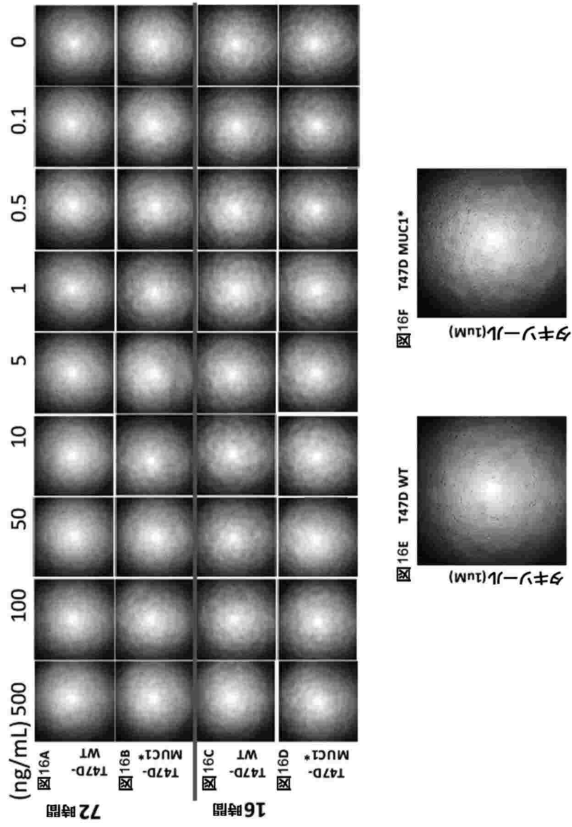


30

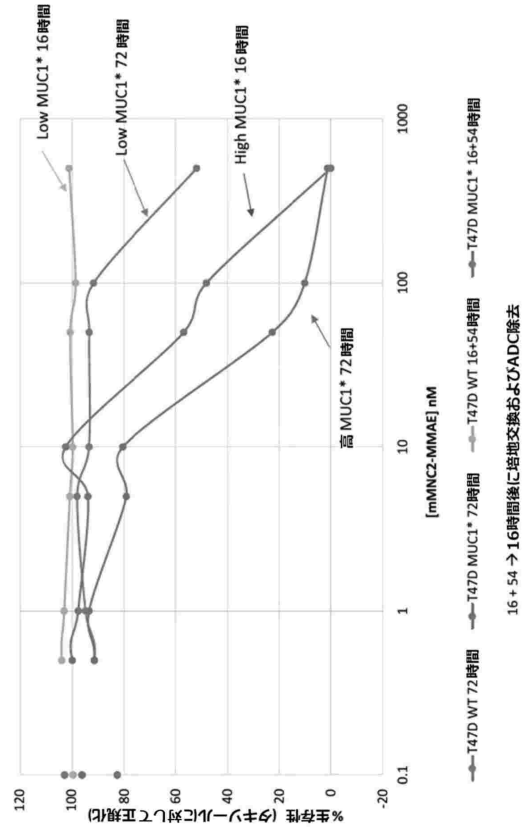
40

50

【図 16】



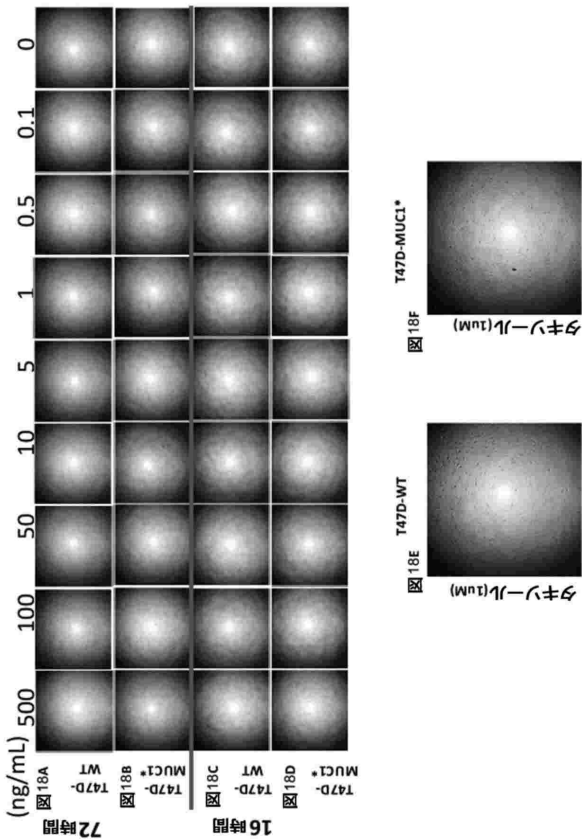
【図 17】



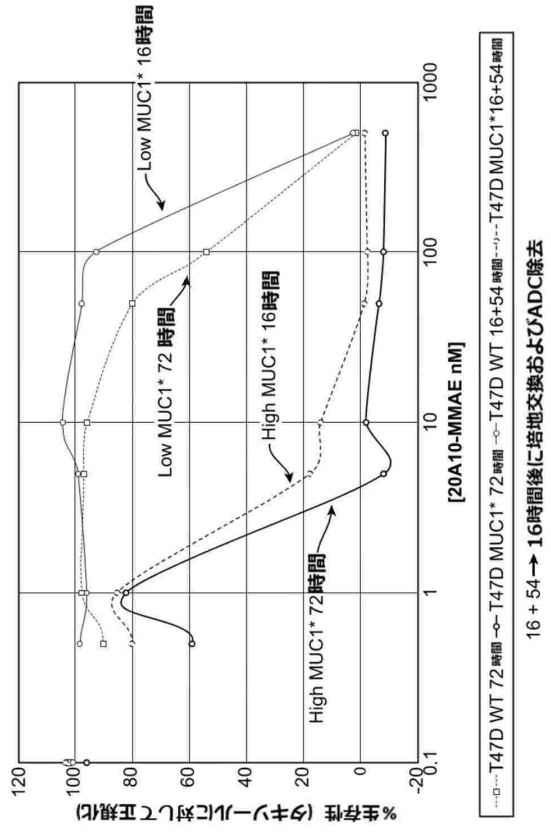
10

20

【図 18】



【図 19】

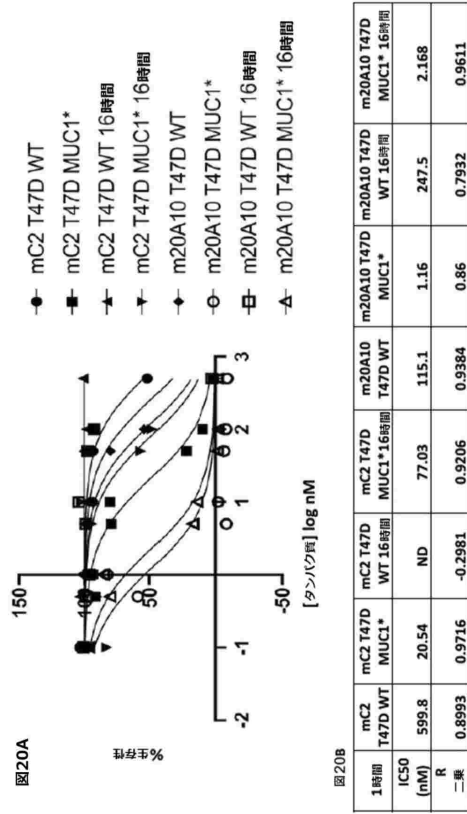


30

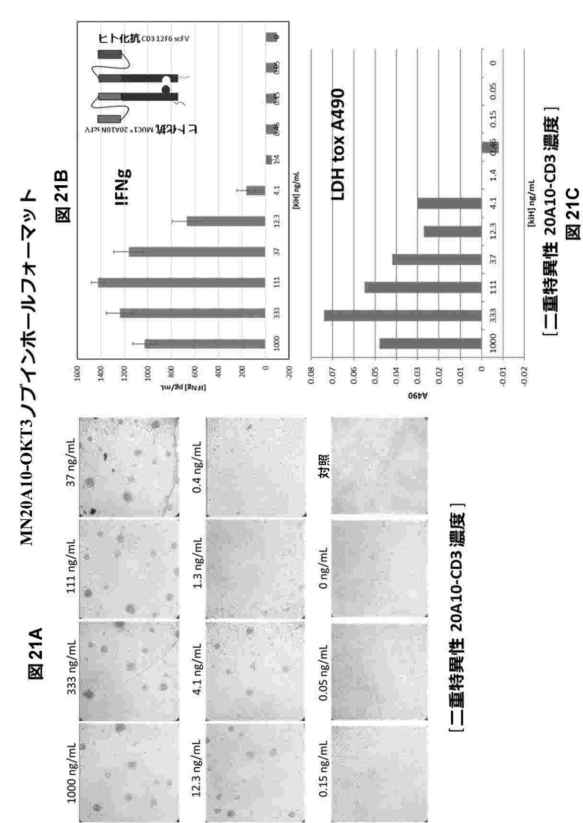
40

50

【図 2 0】

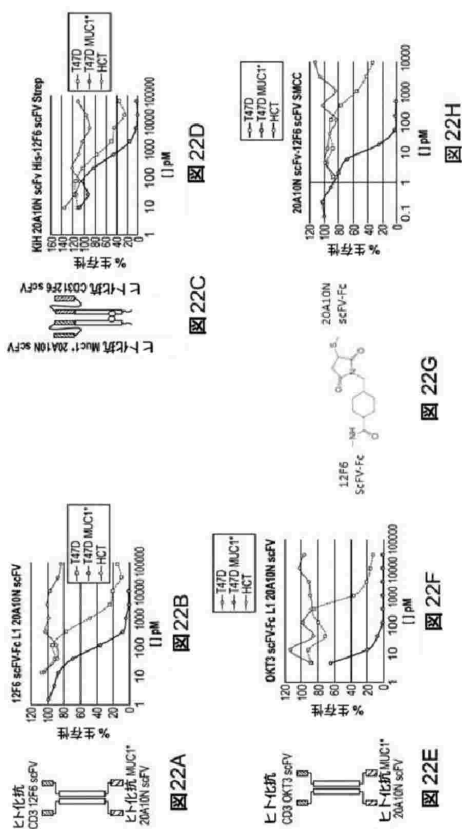


【図 2 1】



10

【図 2 2】



【図 2 3】

様々な二重特異性フォーマットの MN20A10-OKT3 または MN20A10-12F6 IC50

|                                              | T47D                                         | IC50 pM | T47D-MUC1*                                   | IC50 pM |
|----------------------------------------------|----------------------------------------------|---------|----------------------------------------------|---------|
| OKT3 IgG1 L1 MUC1* scFV                      | OKT3 IgG1 L1 MUC1* scFV                      | 3.7     | OKT3 IgG1 L1 MUC1* scFV                      | 1.6     |
| 12F6 IgG1 L1 MUC1* scFV                      | 12F6 IgG1 L1 MUC1* scFV                      | 710     | OKT3 scFV-Fc L1 MUC1* scFV                   | 5.4     |
| 12F6 scFV-Fc L1 MUC1* scFV                   | 12F6 scFV-Fc L1 MUC1* scFV                   | 773     | MUC1* scFV-Fc/12F6 scFV-Fc SMCC              | 8.3     |
| OKT3 scFV-Fc L1 MUC1* scFV                   | OKT3 scFV-Fc L1 MUC1* scFV                   | 873     | 12F6 IgG1 L1 MUC1* scFV                      | 25.6    |
| MUC1* scFV-Fc/12F6 scFV-Fc SMCC              | MUC1* scFV-Fc/12F6 scFV-Fc                   | 1983    | 12F6 scFV-Fc L1 MUC1* scFV                   | 76.5    |
| KH MUC1* scFV-Fc /<br>His/12F6 scFV-Fc-ホルル工程 | KH MUC1* scFV-Fc /<br>His/12F6 scFV-Fc-ホルル工程 | 4231    | KH MUC1* scFV-Fc /<br>His/12F6 scFV-Fc-ホルル工程 | 678     |

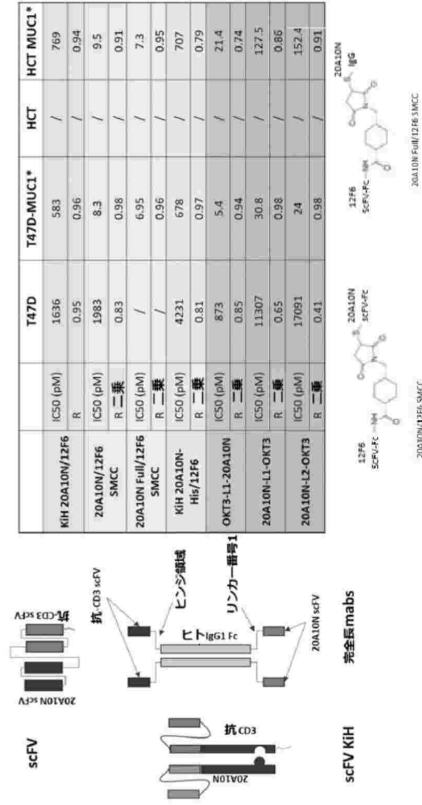
30

40

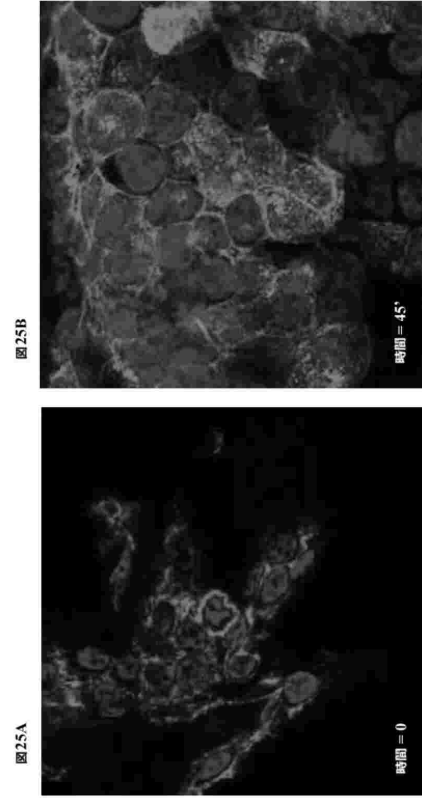
50

【図 2 4】

様々な二重特異性フォーマットのMN20A10-Okt3またはMN20A10-12F6 IC50  
抗MUC1\*二重特異性T細胞エンゲージャー：複数のフォーマット  
MN20A10はMUC1\*陽性がん細胞を標的とするが、抗CD3抗体Okt3および12F6で変換された

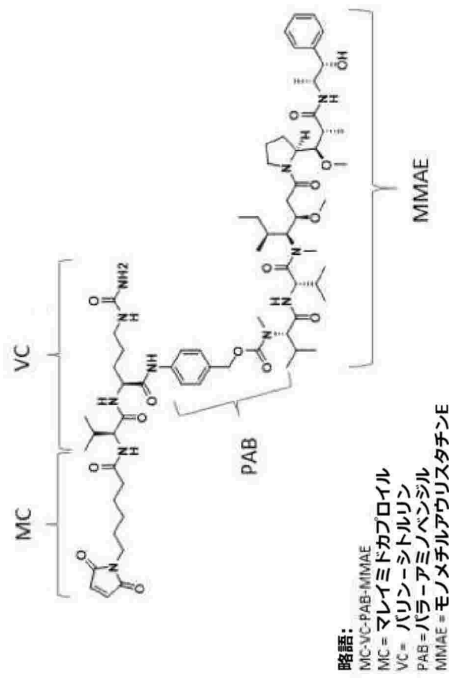


【図 2 5】



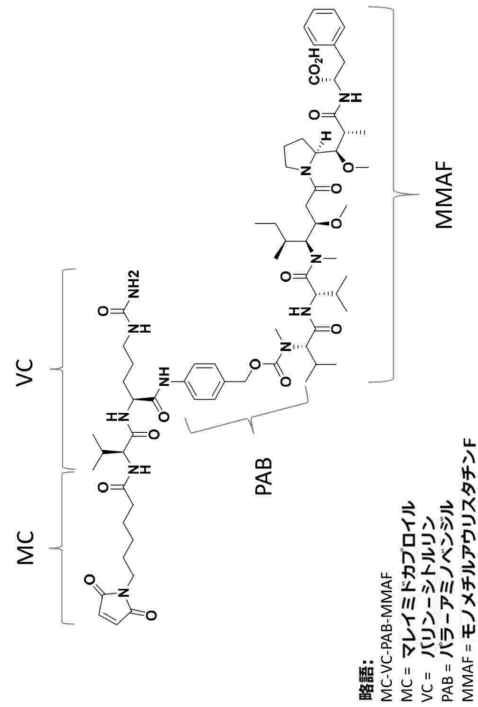
【図 2 6】

### MC-VC-PAB-MMAE の化学構造



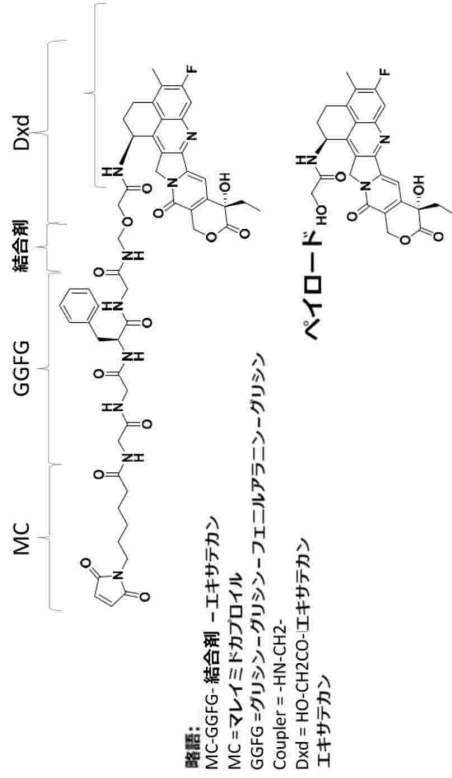
【図 2 7】

### MC-VC-PAB-MMAF の化学構造



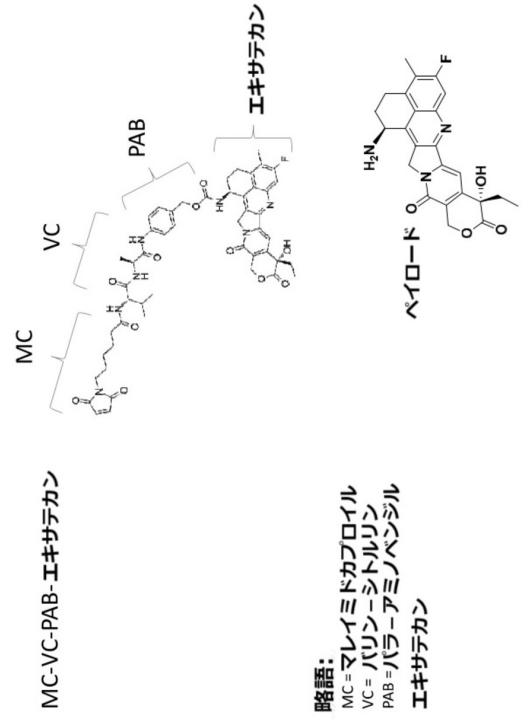
【図 28】

デルクステカンの化学構造



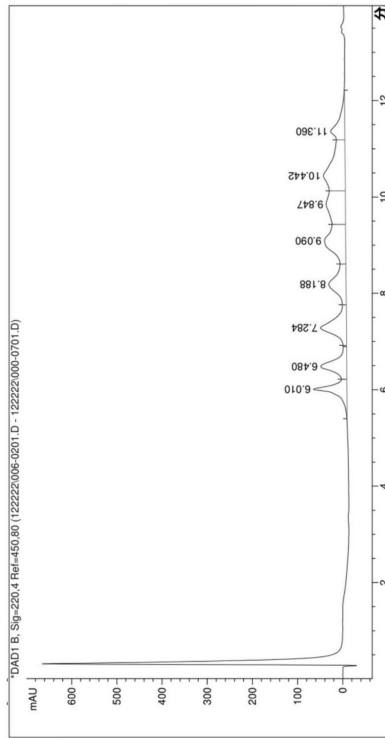
【図 29】

エキサテカンの化学構造



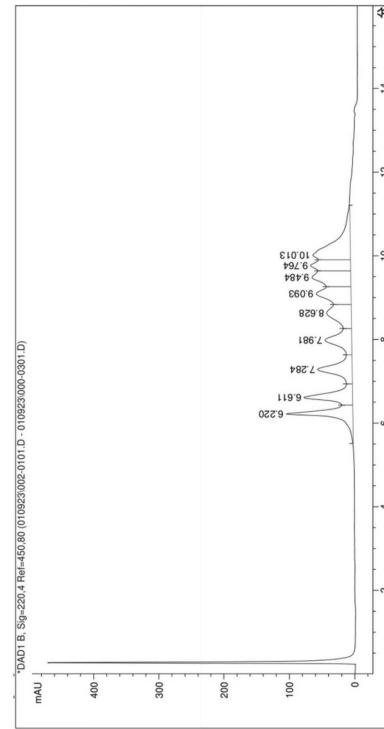
【図 30】

MNC2-MMAE: HIC クロマトグラム



【図 31】

MNC2-MMAF HIC クロマトグラム



10

20

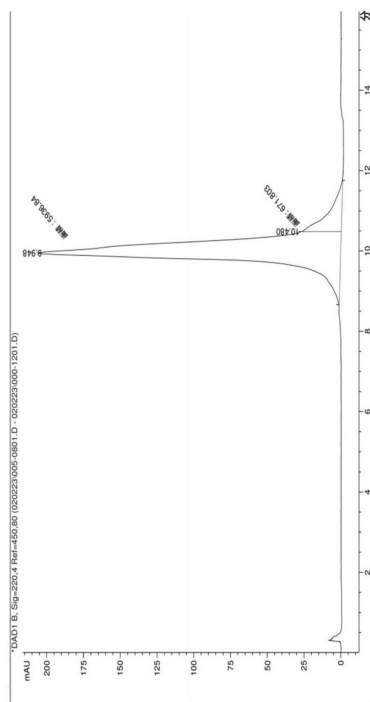
30

40

50

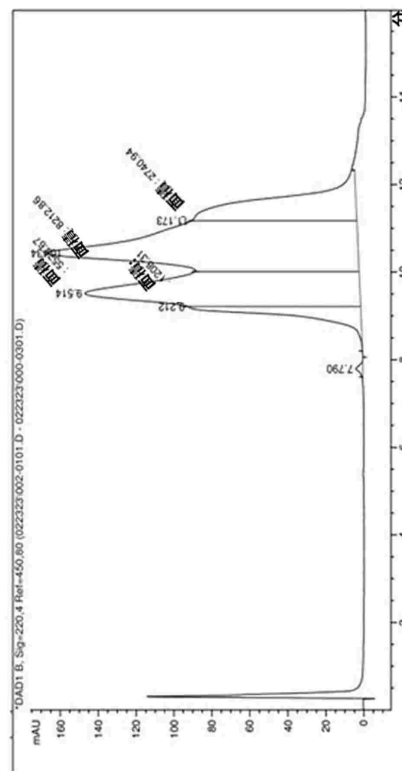
【図 3 2 A】

MNC2-デルクステカン HIC クロマトグラム



【図 3 2 B】

MNC2-MC-VC-PAB-エキサデカン HIC クロマトグラム

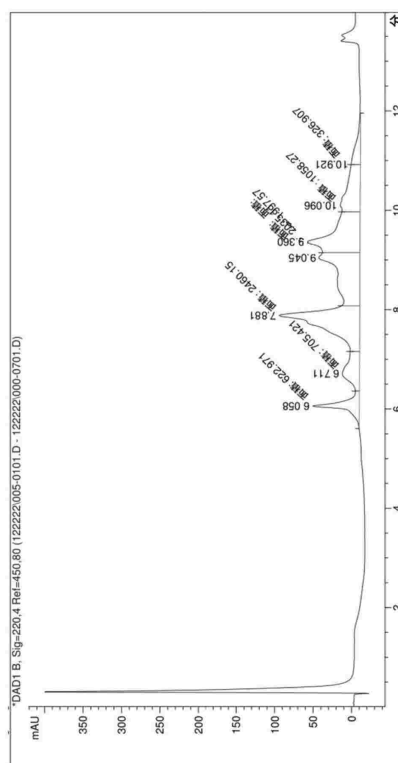


10

20

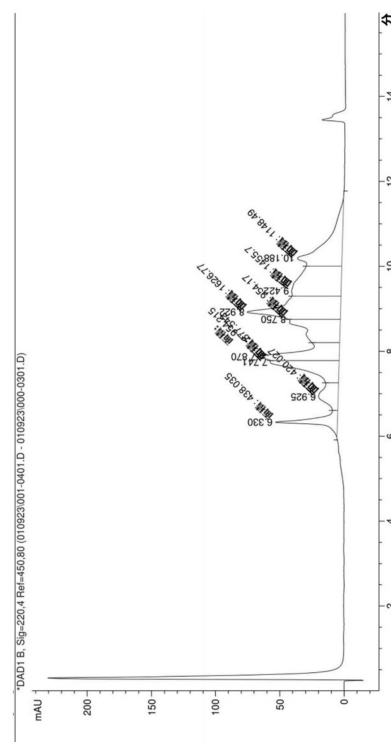
【図 3 3】

MN20A10-MMAE: HICクロマトグラム



【図 3 4】

MN20A10-MMAF HIC クロマトグラム



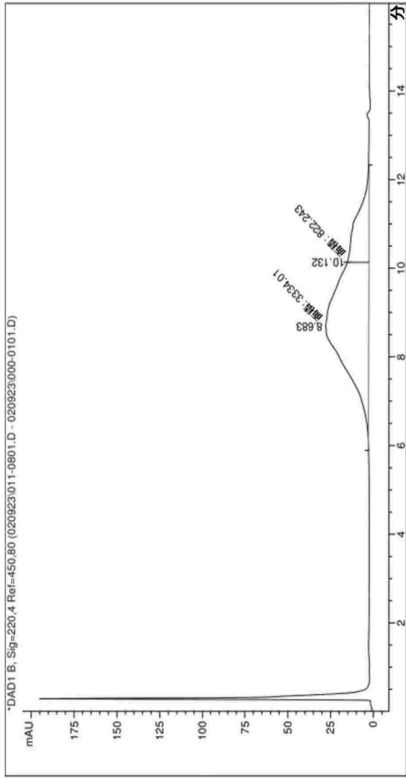
30

40

50

MN20A10-デルクステカンHICクロマトグラム

【図 3 5】



【図 3 7】

コンジュゲート前後のMN20A10-MMAEフロー

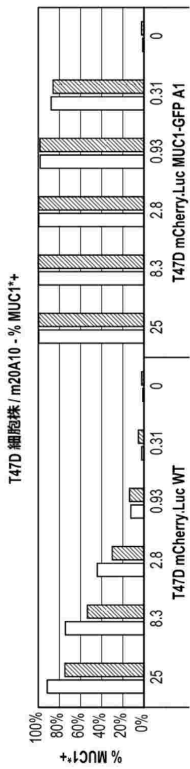


図 37B

コンジュゲート前後のMN20A10-MMAEフロー

図 37A

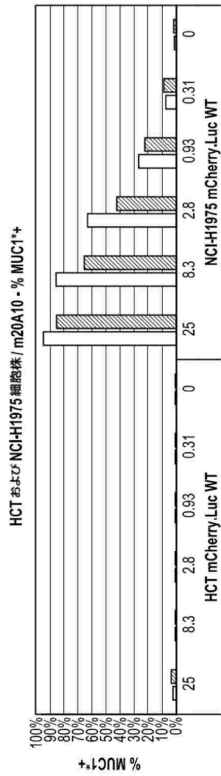


図 37D

コンジュゲート前後のMN20A10-MMAEフロー

図 37C

【図 3 8 - 1】

T47D.WT (低抗原): MNC2 ADC

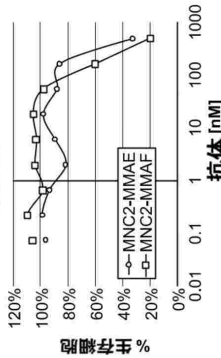


図 38A

T47D.MUC1+ (高抗原): MNC2 ADC

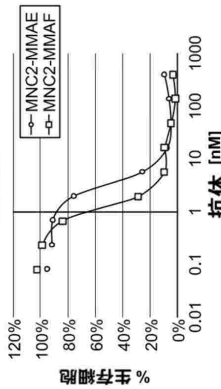


図 38B

HPAF.II.WT (低抗原): MNC2 ADC

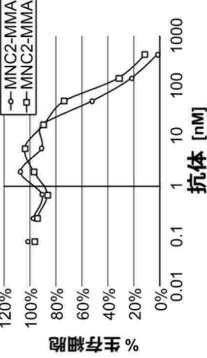


図 38C

HPAF.II.MUC1+ (高抗原): MNC2 ADC

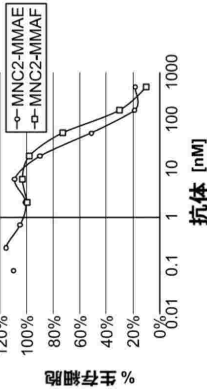


図 38D

MMAEのコンジュゲート前後のMNC2フローサイトメトリー

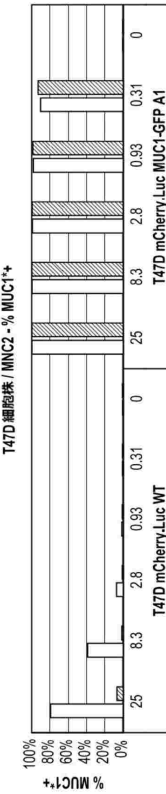


図 36A

コンジュゲート前後のMNC2フローサイトメトリー

図 36B

コンジュゲート前後のMNC2フローサイトメトリー

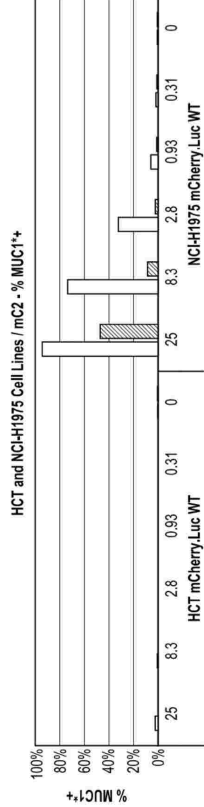


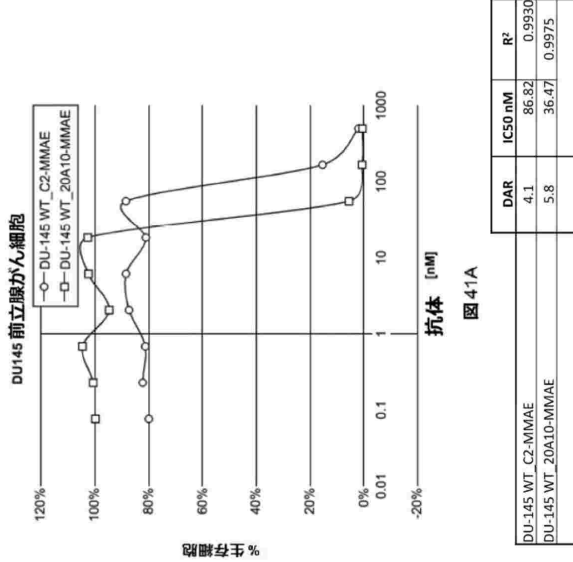
図 36C

コンジュゲート前後のMNC2フローサイトメトリー

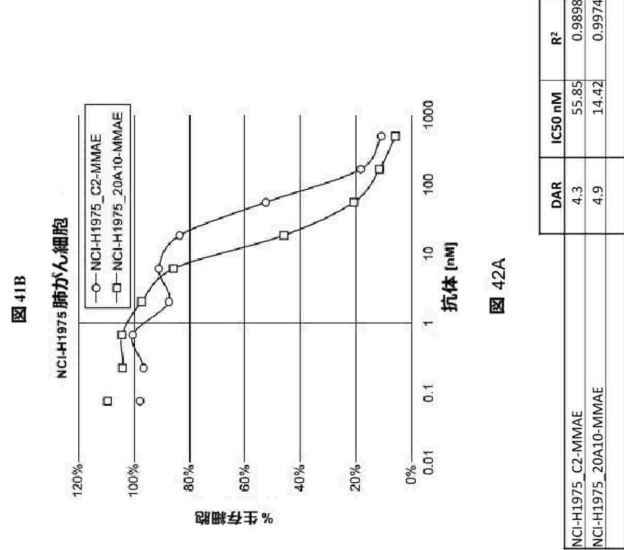
図 36D



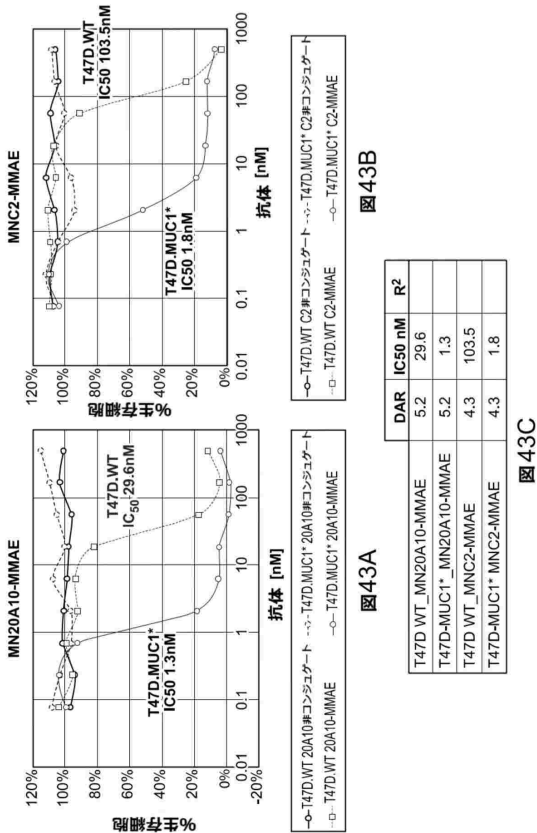
【図 4 1】



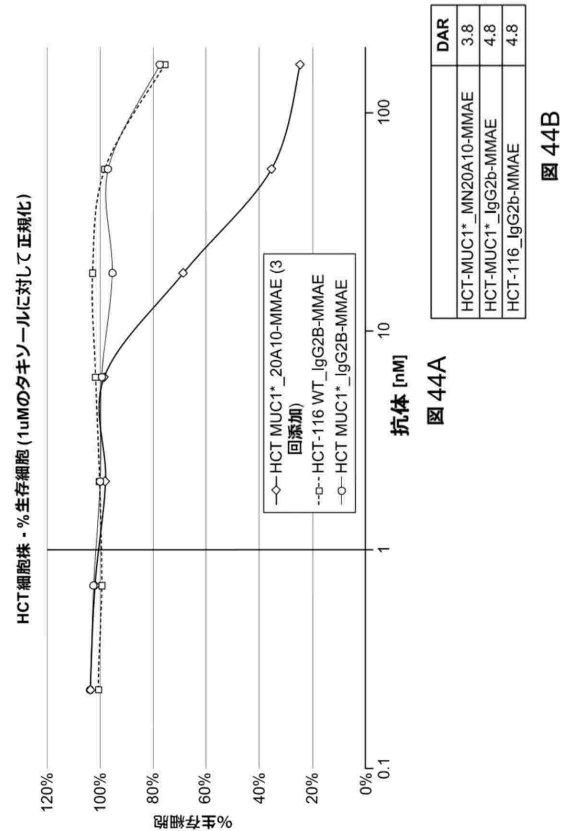
【図 4 2】



【図 4 3】



【図 4 4】



10

20

30

40

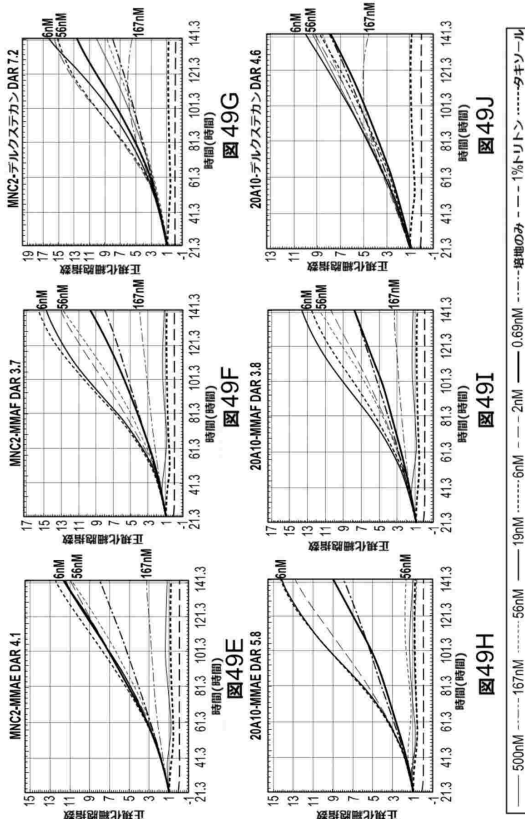
50





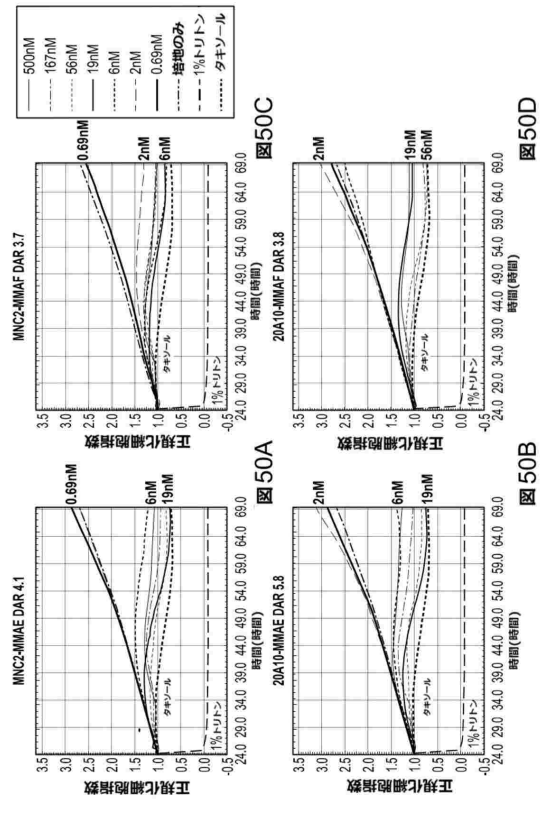
【図 49-2】

MNC2/MN20A10-MMAE、MMAF、またはデルゲストカンのxCELLigenceリアルタイム死滅アッセイ、  
T47D-WT乳がん細胞の120時間分析



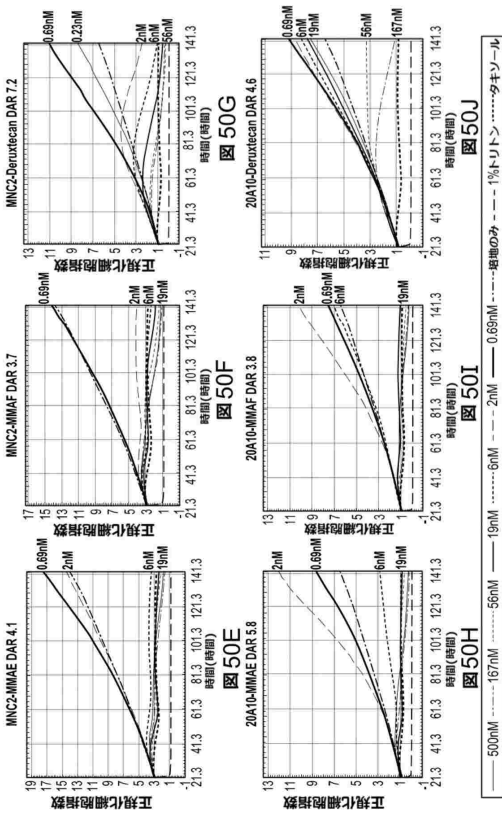
【図 50-1】

MNC2/MN20A10-MMAEまたはMMAFのxCELLigenceリアルタイム死滅アッセイ、  
T47D-MUC1\*乳がん細胞の40時間分析



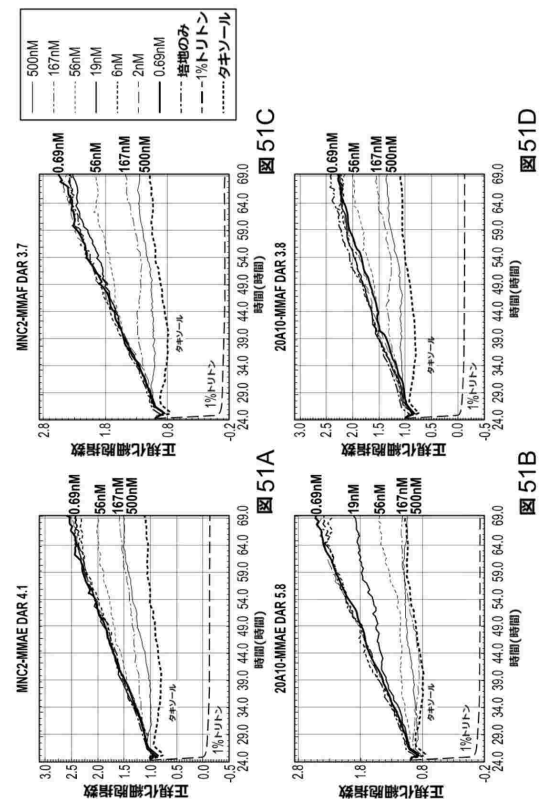
【図 50-2】

MNC2/MN20A10-MMAE、MMAF、またはデルゲストカンのxCELLigenceリアルタイム死滅アッセイ、  
T47D-MUC1\*高MUC1\*発現乳がん細胞の120時間分析



【図 51-1】

MNC2/MN20A10-MMAEまたはMMAFのxCELLigenceリアルタイム死滅アッセイ、  
NCI-H1975肺がん細胞の40時間分析



10

20

30

40

50

【図 5 1 - 2】

MNC2/MN20A10-MMAE、-MMAF、またはデルクスデカン<sup>®</sup>のxCELLigenceリアルタイム死滅アッセイ、  
NCT-H1975肺がん細胞の120時間分析

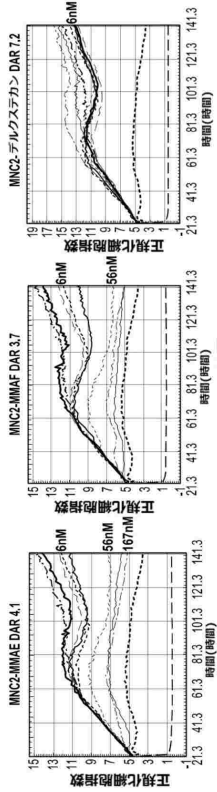


図 51E

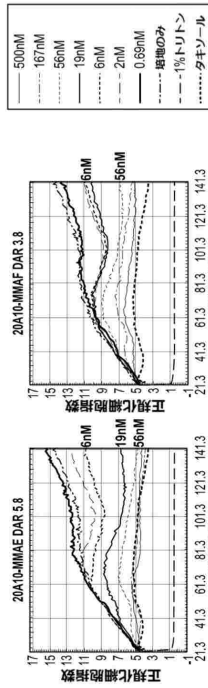


図 51F

図 51G

図 51H

図 51I

MNC2/MN20A10-MMAEまたは-MMAFのxCELLigenceリアルタイム死滅アッセイ、  
HPAF II-WT 肝がん細胞の40時間分析

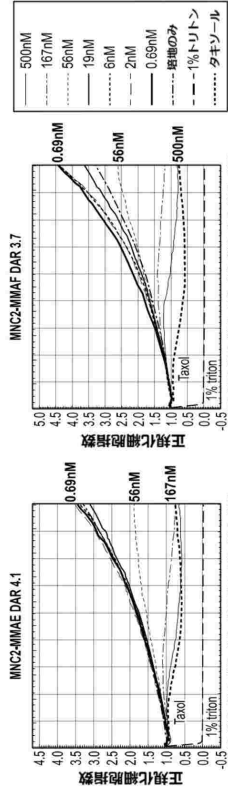


図 52A

図 52C

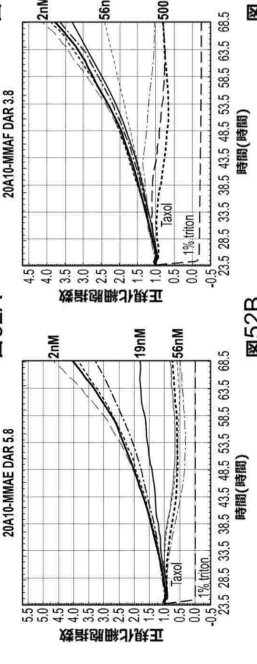


図 52B

図 52D

【図 5 2 - 2】

MNC2/MN20A10-MMAE、-MMAFまたはデルクスデカン<sup>®</sup>のxCELLigenceリアルタイム死滅アッセイ、  
HPAF II-WT肝がん細胞の120時間分析

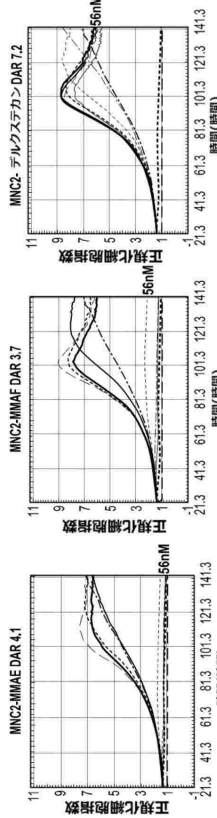


図 52E

図 52F

図 52G

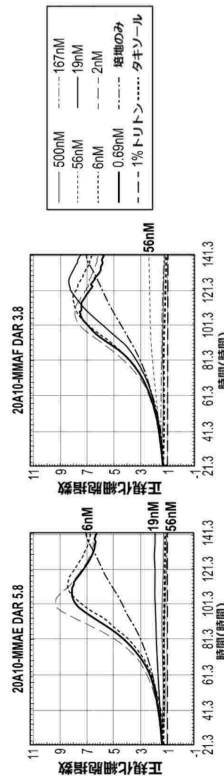


図 52H

図 52I

MNC2/MN20A10-MMAEまたは-MMAFのxCELLigenceリアルタイム死滅アッセイ、  
HPAF II-MUC1\*肝がん細胞の40時間分析

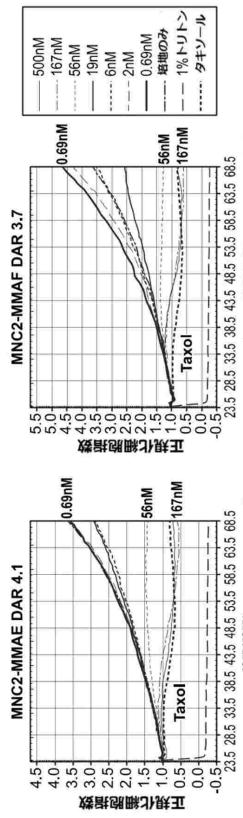


図 53A

図 53C

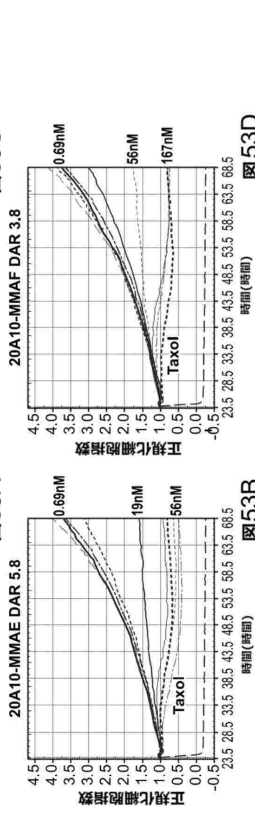


図 53B

図 53D

【図 5 3 - 1】

10

20

30

40

50

【図 5 3 - 2】

MNC2-MMAE、MNC2-デルクスデカン、またはMNC2-エキサデカンのxCELLigenceリアルタイム死滅アッセイ、HPAF II-MUC1\* 肺がん細胞の120時間分析

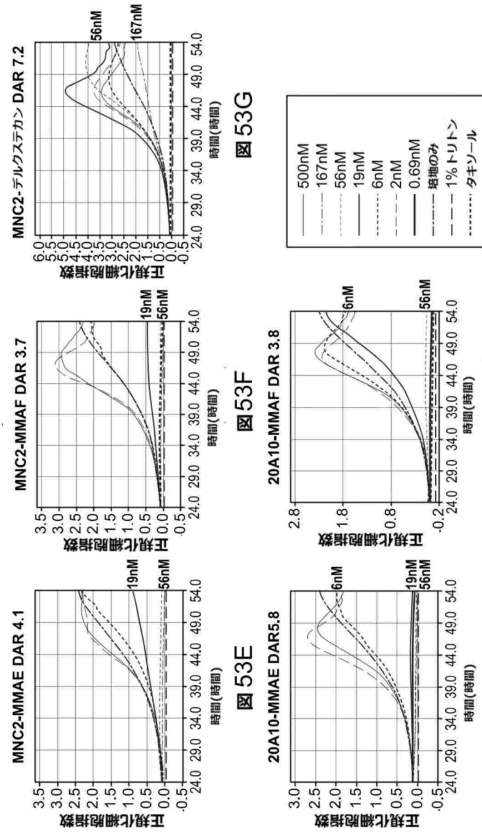


図 53G

図 53F

図 53E

図 53I

図 53H

【図 5 4】

MNC2-MMAE、MNC2-デルクスデカン、またはMNC2-エキサデカンで処置したT47D-wt乳がん細胞のxCELLigenceリアルタイム死滅アッセイ、120時間

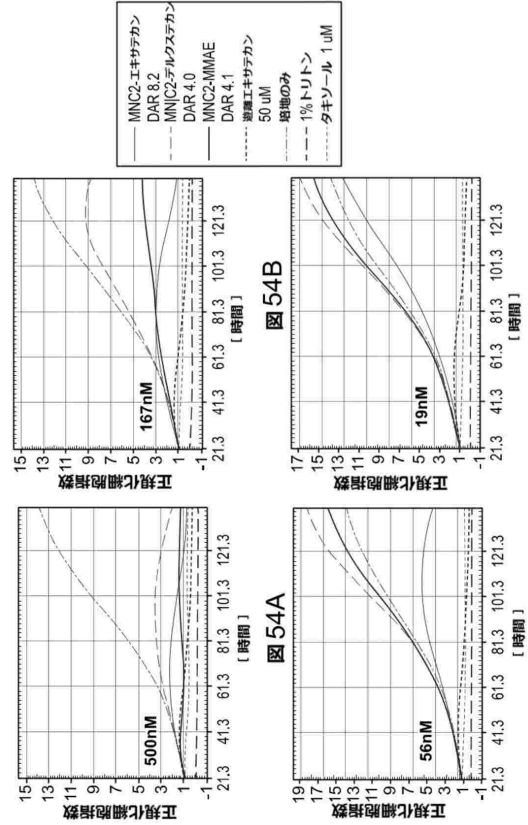


図 54B

図 54A

図 54D

図 54C

【図 5 5】

MNC2-MMAE、MNC2-デルクスデカン、またはMNC2-エキサデカンで処理したT47D-MUC1\*乳がん細胞のxCELLigenceリアルタイム死滅アッセイ、120時間

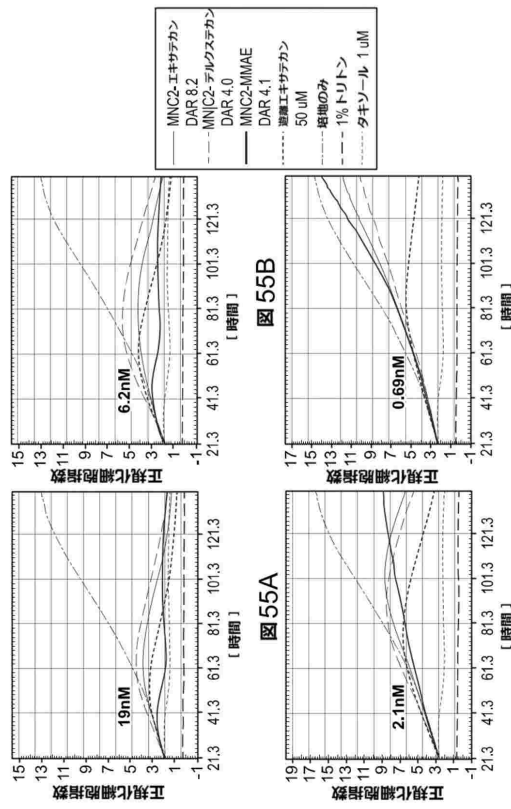


図 55A

図 55B

図 55D

図 55C

【図 5 6】

MNC2-MMAE、MNC2-デルクスデカン、またはMNC2-エキサデカンで処理したNCI-H1975肺がん細胞のxCELLigenceリアルタイム死滅アッセイ、120時間

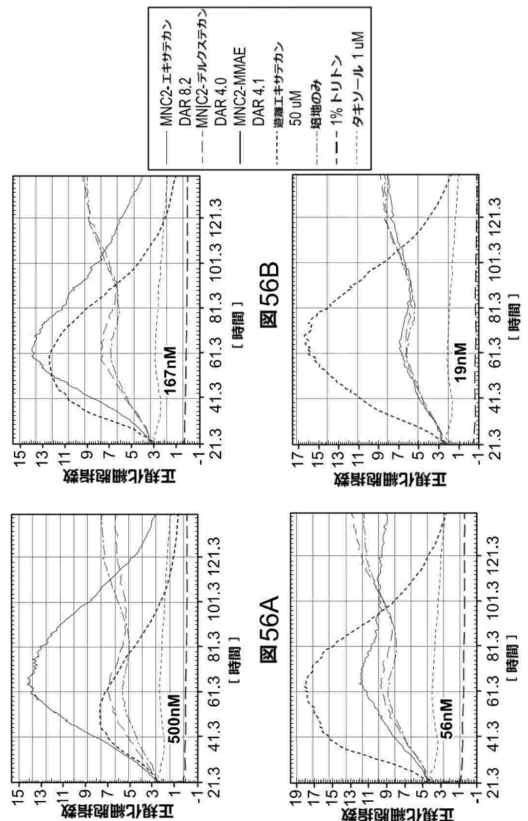


図 56A

図 56B

図 56C

図 56D

10

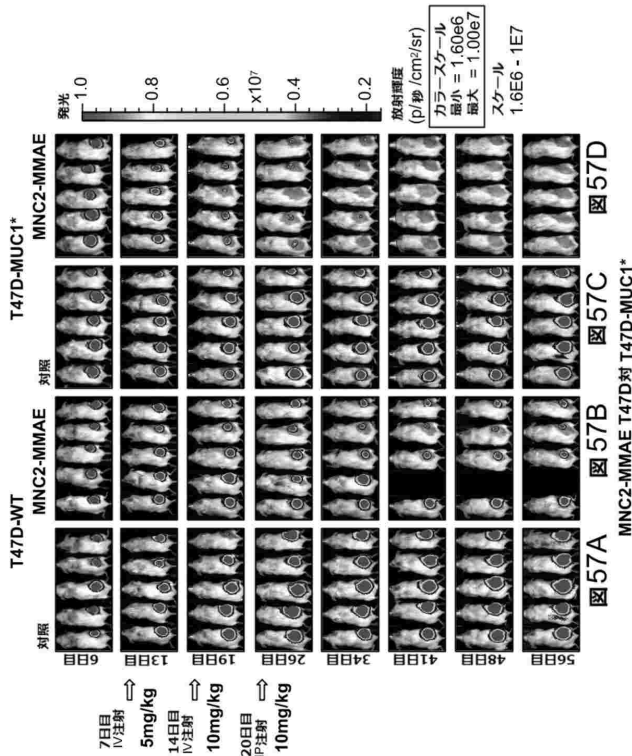
20

30

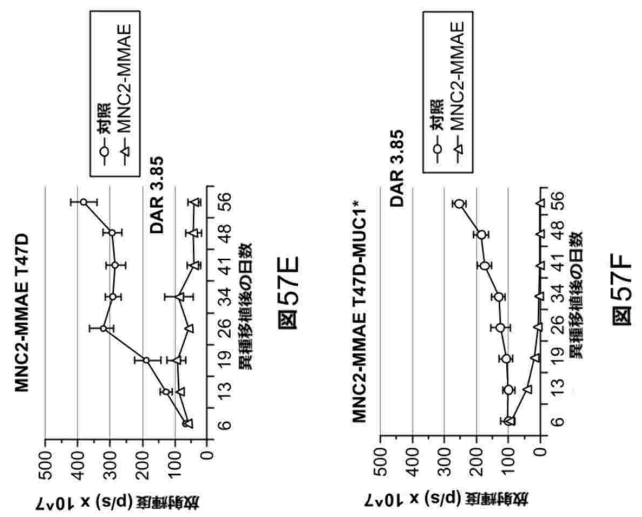
40

50

【図 57-1】



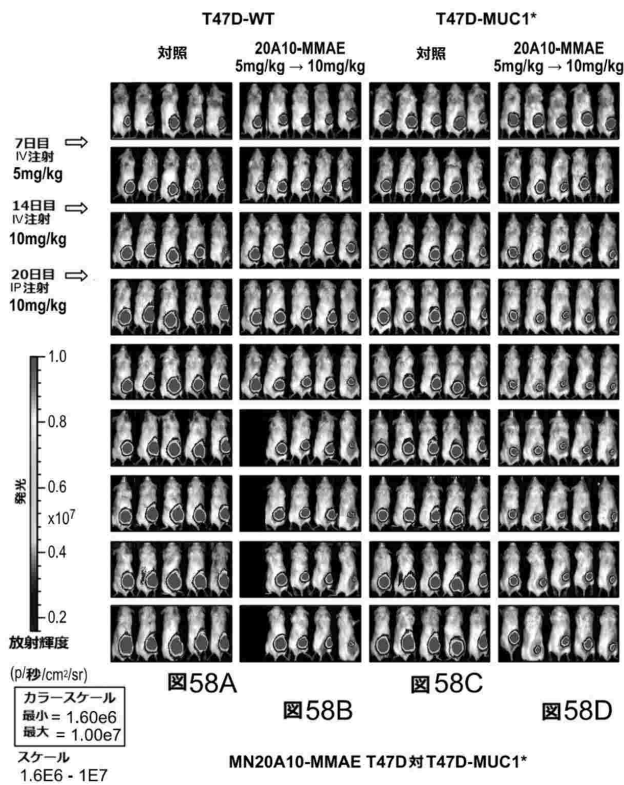
【図 57-2】



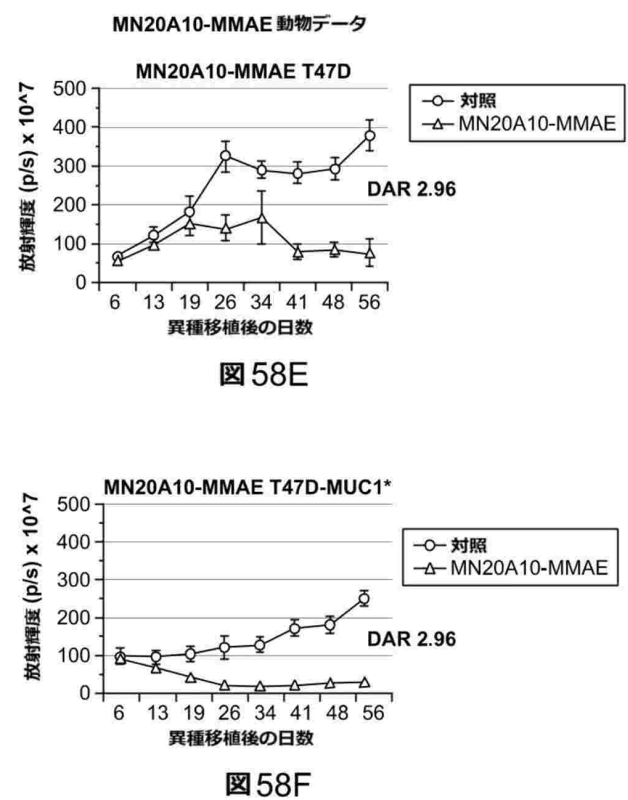
10

20

【図 58-1】



【図 58-2】

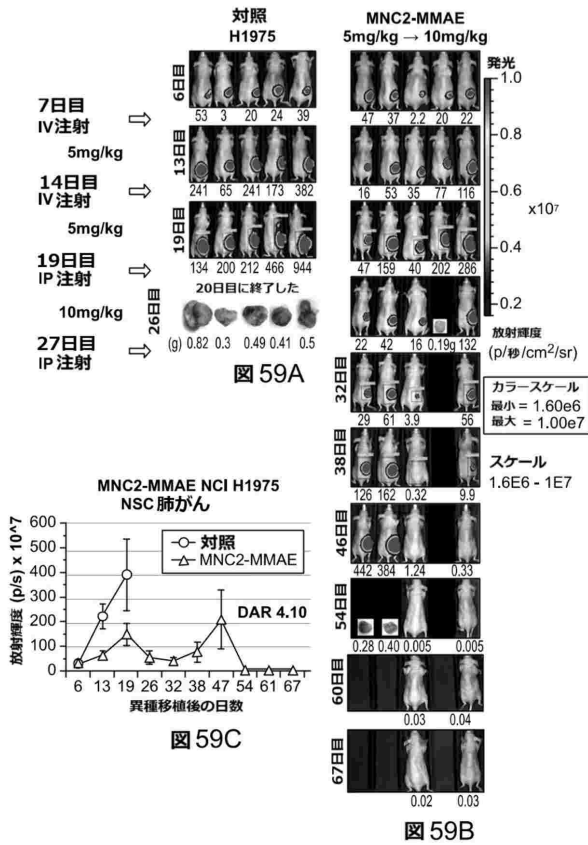


30

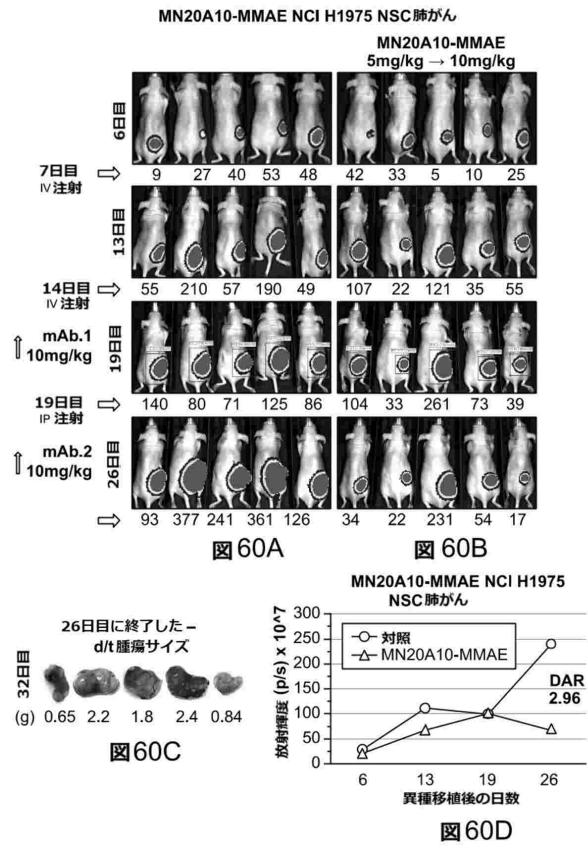
40

50

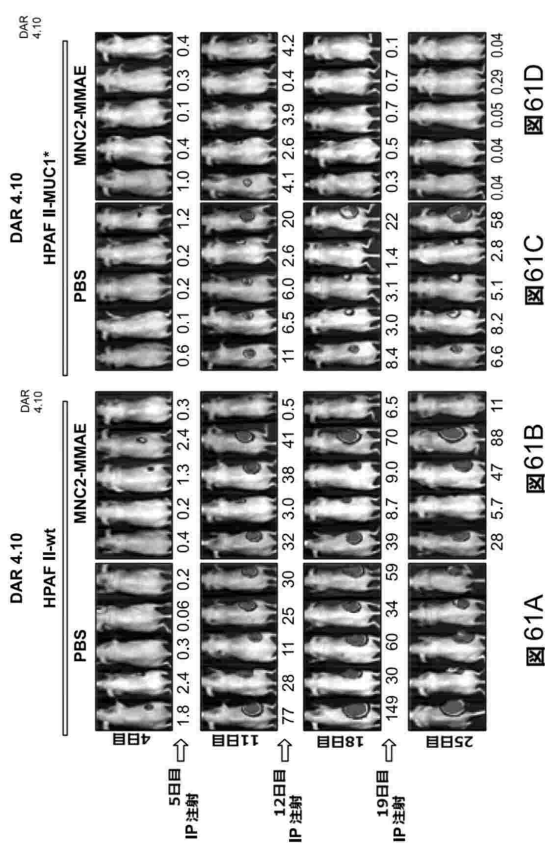
【図 59】



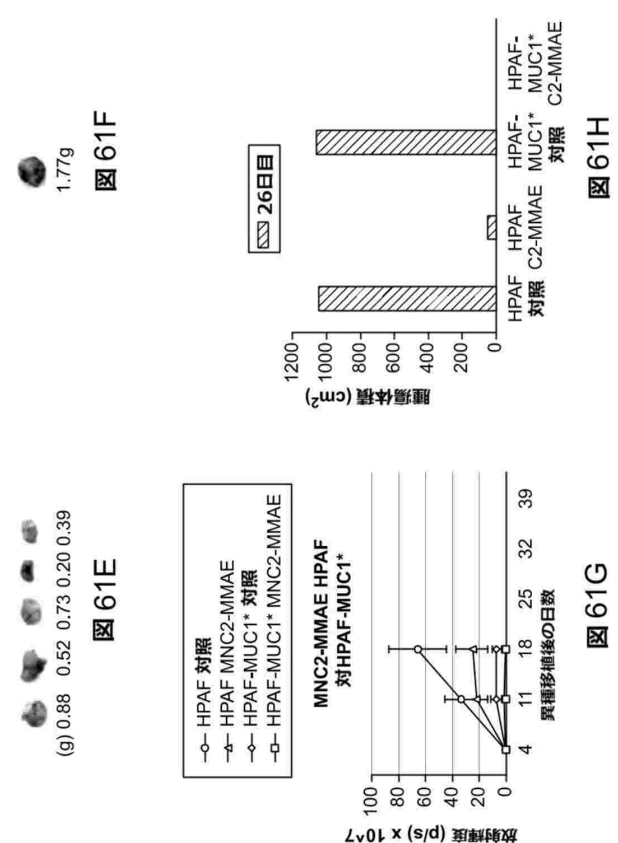
【図 60】



【図 61 - 1】



【図 61 - 2】



10

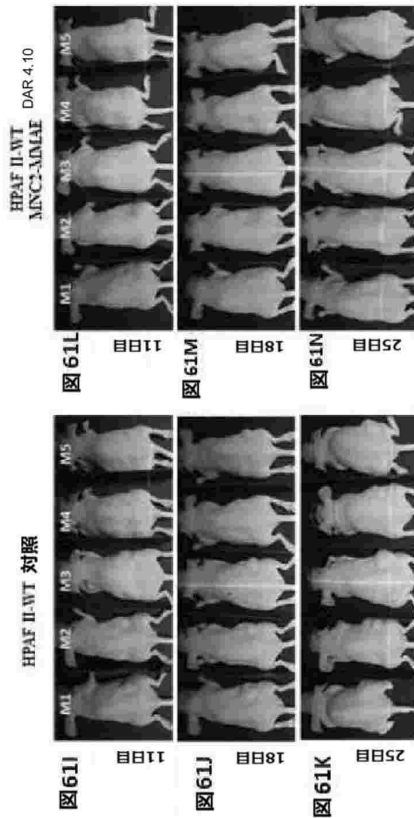
20

30

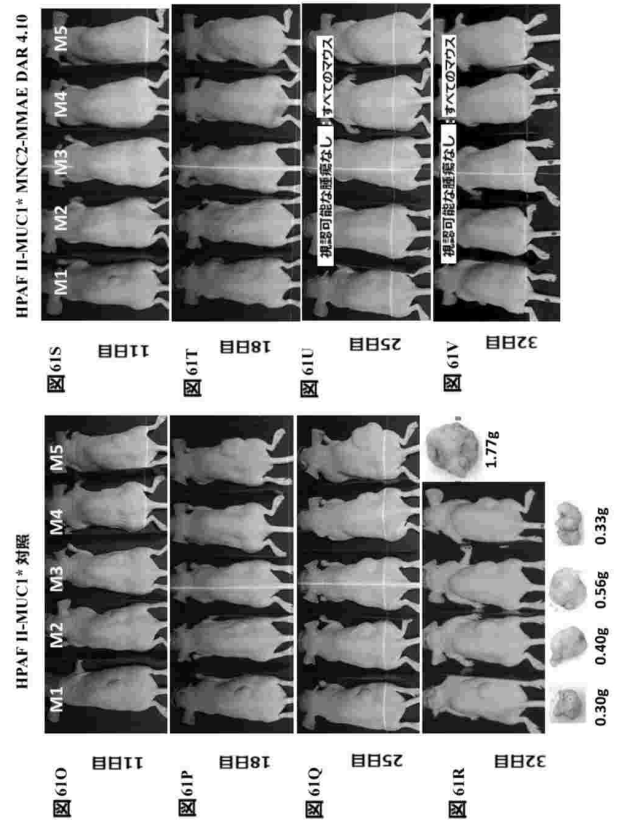
40

50

【図 6 1 - 3】



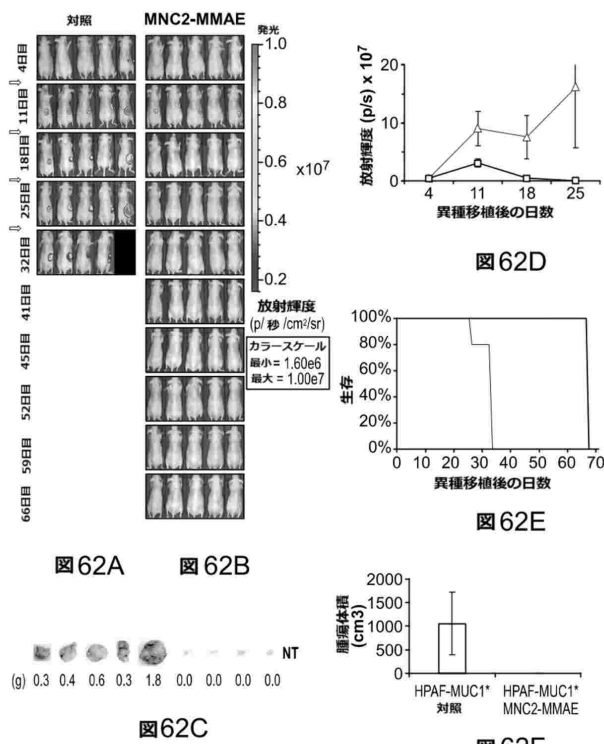
【図 6 1 - 4】



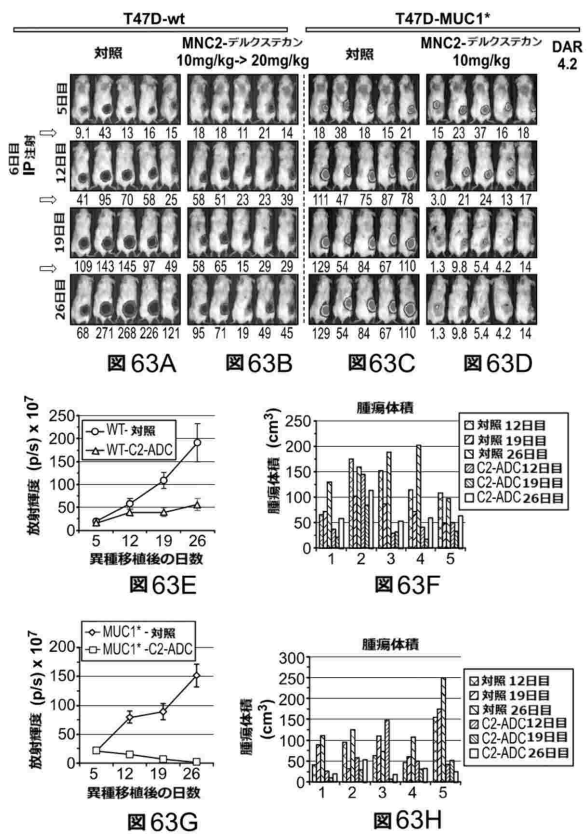
10

20

【図 6 2】



【図 6 3】

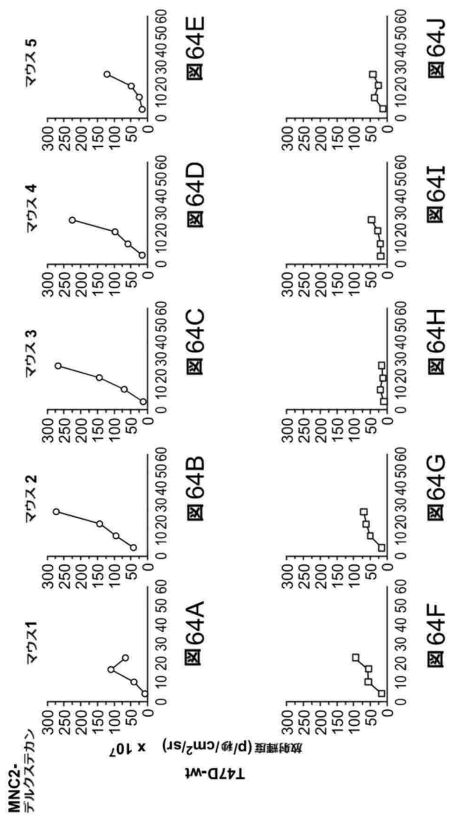


30

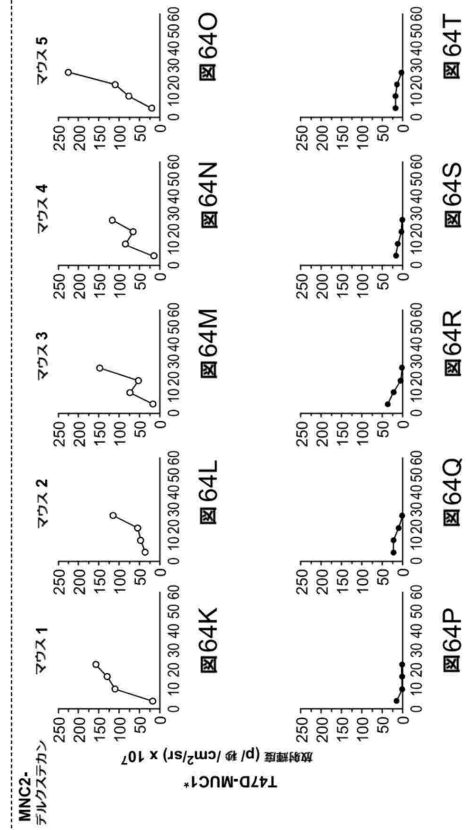
40

50

【図 64-1】

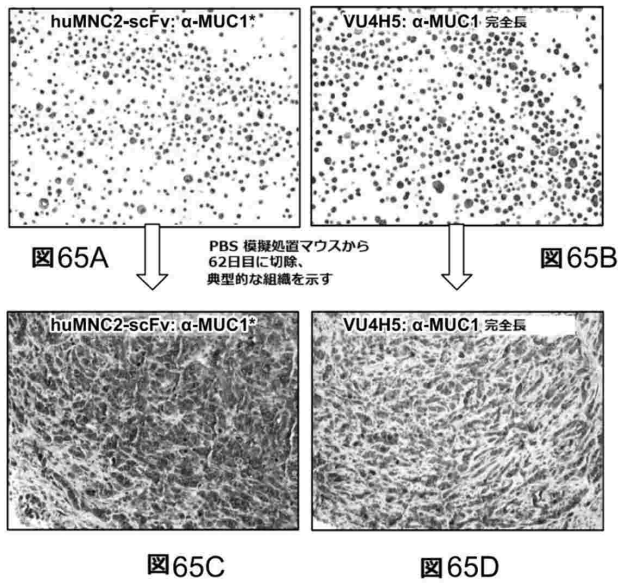


【図 64-2】



【図 65】

T47D 野生型細胞ペレット ← 移植; FFPE



【配列表】

202551246600001.xml

10

20

30

40

50

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/65637

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item I.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 23/66637

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

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

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

**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 supplemental page)

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.:  
1-8, 11, 13-16, 18, 21-27, 29-31, 33, 35, 38-39, 47-50 and (65-67)/(1-8, 11, 13-16, 18, 21-27, 29-31, 33, 35, 38-39, 47-50)

**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 23/65637

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - INV. A61K 47/22, A61K 47/54, A61K 47/65, A61K 47/68 (2023.01)

ADD. A61K 45/06, A61P 35/00 (2023.01)

CPC - INV. A61K 47/22, A61K 47/545, A61K 47/65, A61K 47/6803, A61K 47/6851

ADD. A61K 45/06, A61P 35/00

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         | US 2021/0353764 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.) 18 November 2021 (18.11.2021); para [0160], [0162], [0191]                                                                                                       | 1-8, 11, 13-16, 18, 21-27, 29-31, 33, 35, 38-39, 47-50, (65-67)/(1-8, 11, 13-16, 18, 21-27, 29-31, 33, 35, 38-39, 47-50) |
| A         | US 2021/0187118 A1 (DAIICHI SANKYO CO., LTD.) 24 June 2021 (24.06.2021); para [0130], [0135], [0195]                                                                                                                     | 1-8, 11, 13-16, 18, 21-27, 29-31, 33, 35, 38-39, 47-50, (65-67)/(1-8, 11, 13-16, 18, 21-27, 29-31, 33, 35, 38-39, 47-50) |
| A         | US 2022/0023436 A1 (DAIICHI SANKYO COMPANY LIMITED) 27 January 2022 (27.01.2022); para [0049], [0458], [0482], [0495]                                                                                                    | 1-8, 11, 13-16, 18, 21-27, 29-31, 33, 35, 38-39, 47-50, (65-67)/(1-8, 11, 13-16, 18, 21-27, 29-31, 33, 35, 38-39, 47-50) |
| A         | Pan et al. "An antibody-drug conjugate targeting a GSTA glycosite/signature epitope of MUC1 expressed by non-small cell lung cancer" Cancer Medicine. 20 October 2020 (20.10.2020) vol 9, pg. 9529-9540; entire document | 1-8, 11, 13-16, 18, 21-27, 29-31, 33, 35, 38-39, 47-50, (65-67)/(1-8, 11, 13-16, 18, 21-27, 29-31, 33, 35, 38-39, 47-50) |

☒ 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

28 August 2023

Date of mailing of the international search report

SEP 26 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

Kari Rodriguez

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

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

10

20

30

40

50

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/65637

| C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                     |                                                                                                                          |
|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Category*                                             | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                  | Relevant to claim No.                                                                                                    |
| A                                                     | US 2018/0112007 A1 (Milner Biotechnologies Corporation) 26 April 2018 (26.04.2018); entire document | 1-8, 11, 13-16, 18, 21-27, 29-31, 33, 35, 38-39, 47-50, (65-67)/(1-8, 11, 13-16, 18, 21-27, 29-31, 33, 35, 38-39, 47-50) |
| A                                                     | US 2021/0221910 A1 (GLYCOTOPE GMBH) 22 July 2021 (22.07.2021); entire document                      | 1-8, 11, 13-16, 18, 21-27, 29-31, 33, 35, 38-39, 47-50, (65-67)/(1-8, 11, 13-16, 18, 21-27, 29-31, 33, 35, 38-39, 47-50) |

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

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/65637

-continued from Box No. III-

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 1-51 and 65-67 (in part), directed to a compound of formula I. The compound of claim 1 will be searched to the extent that it encompasses the first species of claim 1, represented by a conjugate of formula I wherein X is a moiety derived from a compound capable of inhibiting topoisomerase I which is exatecan (instant claim 11); R is a coupling moiety; L is a di-peptide linking moiety having Z bonded to N-terminus and R bonded to the C-terminus; [Ab] is an antibody comprising wherein the anti-MUC1\* binding domain comprises a heavy chain which is SEQ ID NO 38 (instant claim 16) and a light chain which is SEQ ID NO 41 (instant claim 18); Z is a conjugation moiety capable of forming a covalent bond with a sulfur atom of a cysteine residue; and y is 1 (wherein optional groups are omitted). It is believed that claims 1-8, 11, 13-16, 18, 21-27, 29-31, 33, 35, 38-39, 47-50 and 65-67 (in part) read on this first named invention, and thus these claims will be searched without fee. 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 claim 1, 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 conjugate of formula I wherein X is a moiety derived from a compound capable of inhibiting topoisomerase I which is exatecan (instant claim 11); R is a coupling moiety; L is a di-peptide linking moiety having Z bonded to N-terminus and R bonded to the C-terminus; [Ab] is an antibody comprising wherein the anti-MUC1\* binding domain comprises a heavy chain which is SEQ ID NO 39 (instant claim 17) and a light chain which is SEQ ID NO 41 (instant claim 18); Z is a conjugation moiety capable of forming a covalent bond with a sulfur atom of a cysteine residue; and y is 1 (wherein optional groups are omitted) (i.e., claims 1-8, 11, 13-16, 18, 21-27, 29-31, 33, 35, 38-39, 47-50 and 65-67 (in part)).

Group II: Claims 52-64 and 65-67 (in part), directed to an antibody comprising a MUC1\* binding domain and a CD3 binding domain.

The group 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 I, which is not required by any other invention of Group I+ or II.

Group II includes the technical feature of an antibody comprising a MUC1\* binding domain and a CD3 binding domain, which is not required by any other invention of Group I+.

## Common technical features:

The inventions of Groups I+ share the technical feature of a compound of formula I.

The inventions of Groups I+ and II share the technical feature of an antibody comprising a MUC1\* binding domain wherein the MUC1\* binding domain comprises three heavy chain (HC) complementarity determining region (CDRs) and three light chain (LC) complementarity determining region (CDRs).

These shared technical features, however, do not provide a contribution over the prior art, as being obvious over US 2021/0187118 A1 to DAIICHI SANKYO CO., LTD (hereinafter Daiichi). Daiichi discloses a conjugate for Formula (I): X is a moiety derived from a compound capable of inhibiting topoisomerase I (para [0130]; [0119]: Exatecan); R is a coupling moiety; L is a tetra-peptide linking moiety having Z bonded to N-terminus and R bonded to the C-terminus; [Ab] is an antibody comprising an anti-MUC1\* binding domain comprising three heavy chain (HC) complementarity determining region (CDRs): MUC1\* HC-CDR1, MUC1\* HCCR2, and MUC1\* HC-CDR3; wherein the MUC1\* binding domain comprises three light chain (LC) complementarity determining region (CDRs): MUC1\* LC-CDR1, MUC1\* LC-CDR2, and MUC1\* LCCR3 (para [0051]); Z is a conjugation moiety capable of forming a covalent bond with a sulfur atom of a cysteine residue (para [0130]); and y is 1 to 10 (para [0135]), but does not disclose wherein the binding domains are selected from sequences in Table 1. However, it would have been obvious to one with skill in the art to utilize the conjugate disclosed and determine if binding sequences for the same target receptor disclosed match the sequences in Table 1; and optimization thereof in order to improve binding to said target through routine experimentation.

As said compound was known in the art at the time of the invention, these cannot be considered special technical features that would otherwise unify the inventions of Groups I+ or II. The inventions of Group I+ and II thus lack unity under PCT Rule 13.

## フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I  
C 1 2 N 15/13

テーマコード (参考)

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,  
ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,C  
O,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,I  
R,IS,IT,JP,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 モエ, スコット

アメリカ合衆国 0 2 4 5 1 マサチューセッツ州 ウォルサム ベアー・ヒル・ロード 4 0

(72)発明者 ジョン, トーマス

アメリカ合衆国 0 2 4 5 1 マサチューセッツ州 ウォルサム ベアー・ヒル・ロード 4 0

F ターム (参考) 4C076 AA95 CC27 CC41 EE41 EE59 FF70

4C085 AA14 AA26 BB11 BB31 DD62 EE01

4H045 AA10 AA30 BA09 CA40 DA76 EA20 EA50 FA74