

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】令和 5 年 6 月 30 日(2023.6.30)

【国際公開番号】WO2020/264200

【公表番号】特表 2022-537824(P2022-537824A)

【公表日】令和 4 年 8 月 30 日(2022.8.30)

【年通号数】公開公報(特許)2022-159

【出願番号】特願 2021-576275(P2021-576275)

【国際特許分類】

10

C 1 2 N 15/62(2006.01)

C 1 2 N 15/63(2006.01)

C 1 2 N 1/21(2006.01)

C 0 7 K 19/00(2006.01)

C 0 7 K 16/28(2006.01)

A 6 1 K 39/395(2006.01)

A 6 1 P 35/02(2006.01)

A 6 1 P 35/00(2006.01)

A 6 1 P 43/00(2006.01)

A 6 1 P 15/00(2006.01)

20

A 6 1 P 1/04(2006.01)

A 6 1 P 1/02(2006.01)

A 6 1 P 11/02(2006.01)

A 6 1 P 11/04(2006.01)

A 6 1 P 13/08(2006.01)

A 6 1 P 27/16(2006.01)

A 6 1 P 17/00(2006.01)

A 6 1 P 13/02(2006.01)

A 6 1 P 15/02(2006.01)

A 6 1 P 1/16(2006.01)

30

A 6 1 P 1/18(2006.01)

A 6 1 P 27/02(2006.01)

A 6 1 P 19/08(2006.01)

A 6 1 P 21/04(2006.01)

A 6 1 P 37/06(2006.01)

C 1 2 N 15/12(2006.01)

C 1 2 N 15/13(2006.01)

C 0 7 K 14/00(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/62 Z Z N A

40

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 1/21

C 0 7 K 19/00

C 0 7 K 16/28

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 P 35/02

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 P 15/00

A 6 1 P 1/04

50

A 6 1 P 1 / 0 2
 A 6 1 P 1 1 / 0 2
 A 6 1 P 1 1 / 0 4
 A 6 1 P 1 3 / 0 8
 A 6 1 P 2 7 / 1 6
 A 6 1 P 1 7 / 0 0
 A 6 1 P 1 3 / 0 2
 A 6 1 P 1 5 / 0 2
 A 6 1 P 1 / 1 6
 A 6 1 P 1 / 1 8
 A 6 1 P 2 7 / 0 2
 A 6 1 P 1 9 / 0 8
 A 6 1 P 2 1 / 0 4
 A 6 1 P 3 7 / 0 6
 C 1 2 N 1 5 / 1 2
 C 1 2 N 1 5 / 1 3
 C 0 7 K 1 4 / 0 0

10

【手続補正書】

【提出日】令和5年6月22日(2023.6.22)

20

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0362

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0362】

H E R 2 - P A T または H e r 2 - X P A T の各評価用量で 6 ~ 2 4 時間の間に測定したサイトカインの最大値を図 1 7 に提示する。図 1 7 は、H E R 2 - P A T または H E R 2 - X P A T の用量を増加させた場合の、p g / m l での I L - 6 (A)、T N F アルファ (B)、または I F N ガンマ (C) の濃度を示す。H E R 2 - P A T がすべての試験した濃度で 3 つすべてのサイトカインのサイトカイン放出を誘導した一方で、H E R 2 - X P A T によって誘導されたすべてのサイトカインの濃度はすべてベースラインに近く、H E R 2 - X P A T 中の X T E N 分子がプロドラッグとの関連で有害な全身サイトカイン放出を軽減したことを示す。

30

本発明のまた別の態様は、以下のとおりであってもよい。

〔 1 〕 抗原結合断片を含むポリペプチドであって、前記抗原結合断片が、軽鎖相補性決定領域 (C D R - L) および重鎖相補性決定領域 (C D R - H) を含み、前記抗原結合断片が、

a . 分化抗原群 3 (c l u s t e r o f d i f f e r e n t i a t i o n 3、C D 3) T 細胞受容体に特異的に結合し、

40

b . それぞれ、配列番号 8、9、および 1 0 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R - H 3 を含む、ポリペプチド。

〔 2 〕 抗 C D 3 抗原結合断片を含むポリペプチドであって、前記抗原結合断片が、軽鎖相補性決定領域 (C D R - L) および重鎖相補性決定領域 (C D R - H) を含み、前記抗原結合断片が、

a . C D 3 に特異的に結合し、

b . C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R - H 3 を含み、ここで、C D R - H 3 が配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含み、かつ

c . インビトロアッセイによって証明される、より高い熱安定性を呈し、

(i) 配列番号 4 1 に示される配列からなる抗原結合断片の融解温度 (T_m) と比較

50

して高い T_m 、または

〔 i i 〕 前記抗 C D 3 抗原結合断片を抗 C D 3 二重特異性抗体に組み込むと、前記二重特異性抗体が対照二重特異性抗体と比較して高い T_m を呈し、前記抗 C D 3 二重特異性抗体が、前記抗 C D 3 結合断片と、C D 3 以外の抗原に結合する参照抗原結合断片とを含み、前記対照二重特異性抗原結合断片が、配列番号 4 1 および前記参照抗原結合断片からなる、ポリペプチド。

〔 3 〕 前記抗原結合断片の T_m が、配列番号 4 1 の配列からなる抗原結合断片の T_m よりも少なくとも 2 高い、または少なくとも 3 高い、または少なくとも 4 高い、または少なくとも 5 高い、前記〔 2 〕に記載のポリペプチド。

〔 4 〕 抗原結合断片を含むポリペプチドであって、前記抗原結合断片が、軽鎖相補性決定領域 (C D R - L) および重鎖相補性決定領域 (C D R - H) を含み、前記抗原結合断片が、

a . C D 3 に特異的に結合し、

b . C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R - H 3 を含み、ここで、C D R - H 3 が配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含み、かつ

c . F R - H 1、F R - H 2、F R - H 3、F R - H 4 を含み、それらが各々、それぞれ、配列番号 2 2、2 3、2 5、および 2 6 のアミノ酸と少なくとも 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 %、9 9 % の配列同一性を呈するか、またはそれと同一である、ポリペプチド。

〔 5 〕 前記抗原結合断片が、F R - L 1、F R - L 2、F R - L 3、F R - L 4 をさらに含み、それらが各々、それぞれ、配列番号 1 2、1 3、1 8、および 1 9 のアミノ酸配列少なくとも 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 %、9 9 % の配列同一性を呈するか、またはそれと同一である、前記〔 4 〕に記載のポリペプチド。

〔 6 〕 前記 C D R - H 1 および前記 C D R - H 2 が、それぞれ、配列番号 8 および 9 のアミノ酸配列を含む、前記〔 2 〕～〔 5 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 7 〕 前記 C D R - L が、

a . 配列番号 1 または 2 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、

b . 配列番号 4 または 5 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および

c . 配列番号 6 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む、先行態様のいずれかに記載のポリペプチド。

〔 8 〕 前記 C D R - L が、

a . 配列番号 1 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、

b . 配列番号 4 または 5 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を有する C D R - L 2、

c . 配列番号 6 または 7 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 9 〕 前記 C D R - L が、

a . 配列番号 2 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、

b . 配列番号 4 または 5 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を有する C D R - L 2、

c . 配列番号 6 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む、前記〔 1 〕～〔 7 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 1 0 〕 前記 C D R - L が、

a . 配列番号 1 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、

b . 配列番号 4 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、

c . 配列番号 6 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む、前記〔 8 〕に記載のポリペプチド。

〔 1 1 〕 前記 C D R - L が、

a . 配列番号 2 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、

b . 配列番号 5 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、

c . 配列番号 6 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む、前記〔 1 〕～〔 7 〕お

10

20

30

40

50

よび〔 9 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 1 2 〕前記抗原結合断片が、軽鎖フレームワーク領域（ F R - L ）および重鎖フレームワーク領域（ F R - H ）をさらに含み、前記抗原結合断片が、

- a . 配列番号 1 2 のアミノ酸配列を有する F R - L 1 、
 - b . 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を有する F R - L 2 、
 - c . 配列番号 1 4 ~ 1 7 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を有する F R - L 3 、
 - d . 配列番号 1 9 のアミノ酸配列を有する F R - L 4 、
 - e . 配列番号 2 0 または配列番号 2 1 のアミノ酸配列を有する F R - H 1 、
 - f . 配列番号 2 3 のアミノ酸配列を有する F R - H 2 、
 - g . 配列番号 2 4 のアミノ酸配列を有する F R - H 3 、および
 - h . 配列番号 2 6 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を有する F R - H 4 を含む、
- 先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 1 3 〕前記抗原結合断片が、軽鎖フレームワーク領域（ F R - L ）および重鎖フレームワーク領域（ F R - H ）をさらに含み、前記抗原結合断片が、

- a . 配列番号 1 2 のアミノ酸配列を有する F R - L 1 、
 - b . 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を有する F R - L 2 、
 - c . 配列番号 1 4 のアミノ酸配列を有する F R - L 3 、
 - d . 配列番号 1 9 のアミノ酸配列を有する F R - L 4 、
 - e . 配列番号 2 0 のアミノ酸配列を有する F R - H 1 、
 - f . 配列番号 2 3 のアミノ酸配列を有する F R - H 2 、
 - g . 配列番号 2 4 のアミノ酸配列を有する F R - H 3 、および
 - h . 配列番号 2 6 のアミノ酸配列を有する F R - H 4 を含む、先行態様のいずれか 1
- 項に記載のポリペプチド。

〔 1 4 〕前記抗原結合断片が、軽鎖フレームワーク領域（ F R - L ）および重鎖フレームワーク領域（ F R - H ）をさらに含み、前記抗原結合断片が、

- a . 配列番号 1 2 のアミノ酸配列を有する F R - L 1 、
 - b . 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を有する F R - L 2 、
 - c . 配列番号 1 5 のアミノ酸配列を有する F R - L 3 、
 - d . 配列番号 1 9 のアミノ酸配列を有する F R - L 4 、
 - e . 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を有する F R - H 1 、
 - f . 配列番号 2 3 のアミノ酸配列を有する F R - H 2 、
 - g . 配列番号 2 4 のアミノ酸配列を有する F R - H 3 、および
 - h . 配列番号 2 6 のアミノ酸配列を有する F R - H 4 を含む、前記〔 1 〕 ~ 〔 1 2 〕
- のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 1 5 〕前記抗原結合断片が、軽鎖フレームワーク領域（ F R - L ）および重鎖フレームワーク領域（ F R - H ）をさらに含み、前記抗原結合断片が、

- a . 配列番号 1 2 のアミノ酸配列を有する F R - L 1 、
 - b . 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を有する F R - L 2 、
 - c . 配列番号 1 6 のアミノ酸配列を有する F R - L 3 、
 - d . 配列番号 1 9 のアミノ酸配列を有する F R - L 4 、
 - e . 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を有する F R - H 1 、
 - f . 配列番号 2 3 のアミノ酸配列を有する F R - H 2 、
 - g . 配列番号 2 4 のアミノ酸配列を有する F R - H 3 、および
 - h . 配列番号 2 6 のアミノ酸配列を有する F R - H 4 を含む、前記〔 1 〕 ~ 〔 1 2 〕
- のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 1 6 〕前記抗原結合断片が、軽鎖フレームワーク領域（ F R - L ）および重鎖フレームワーク領域（ F R - H ）をさらに含み、前記抗原結合断片が、

- a . 配列番号 1 2 のアミノ酸配列を有する F R - L 1 、
- b . 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を有する F R - L 2 、
- c . 配列番号 1 7 のアミノ酸配列を有する F R - L 3 、

d. 配列番号 19 のアミノ酸配列を有する F R - L 4、
 e. 配列番号 21 のアミノ酸配列を有する F R - H 1、
 f. 配列番号 23 のアミノ酸配列を有する F R - H 2、
 g. 配列番号 24 のアミノ酸配列を有する F R - H 3、および
 h. 配列番号 26 のアミノ酸配列を有する F R - H 4 を含む、前記〔1〕～〔12〕の
 いずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔17〕前記抗原結合断片が、配列番号 28 または配列番号 31 のアミノ酸配列と少なく
 とも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99
 %の配列同一性を有するか、またはそれと同一である可変重鎖（VH）アミノ酸配列を含
 む、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

10

〔18〕前記抗原結合断片が、配列番号 27、29、30、32、または 33 のうちのい
 ずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95
 %、96%、97%、98%、99%の配列同一性を有するか、またはそれと同一である
 可変軽鎖（VL）アミノ酸配列を含む、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔19〕前記抗原結合断片が、配列番号 36～40 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列
 と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%の配列同一性を有するか、または
 それと同一であるアミノ酸配列を含む、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔20〕前記抗原結合断片がヒトまたはカニクイザル（cyno）CD3 に特異的に結合
 する、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔21〕前記抗原結合断片がヒトおよびカニクイザル（cyno）CD3 に特異的に結合
 する、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

20

〔22〕前記抗原結合断片が、CD3 の CD3 イプシロン、CD3 デルタ、CD3 ガンマ
 、CD3 ゼータ、CD3 アルファ、および CD3 ベータイプシロンユニットから選択され
 る CD3 複合体サブユニットに結合する、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド

—
 〔23〕前記抗原結合断片が CD3 の CD3 イプシロン断片に結合する、先行態様のいず
 れか 1 項に記載のポリペプチド。

〔24〕前記抗原結合断片が 6.6 以下の等電点（pI）を呈する、先行態様のいずれか
 1 項に記載のポリペプチド。

〔25〕前記抗原結合断片が 6.0～6.6（境界値も含む）の pI を呈する、先行態様
 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

30

〔26〕前記抗原結合断片が、配列番号 41 に示される配列からなる参照抗原結合断片の
 pI よりも少なくとも 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、または 1.0 pH 単位低い pI を呈する、先行態様のいずれか 1 項に記載の
 ポリペプチド。

〔27〕前記抗原結合断片が、ヒトまたはカニクイザル CD3 抗原を含むインビトロ抗原
 結合アッセイで決定された場合、約～約 10 nM～約 400 nM の解離定数（ K_d ）定数
 でヒトまたはカニクイザル CD3 に特異的に結合する、先行態様のいずれか 1 項に記載の
 ポリペプチド。

〔28〕前記抗原結合断片が、インビトロ抗原結合アッセイで決定された場合、約 10 n
 M 未満、または約 50 nM 未満、または約 100 nM 未満、または約 150 nM 未満、ま
 たは約 200 nM 未満、または約 250 nM 未満、または約 300 nM 未満、または約 3
 50 nM 未満、または約 400 nM 未満の解離定数（ K_d ）でヒトまたはカニクイザル C
 D3 に特異的に結合する、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

40

〔29〕前記抗原結合断片が、インビトロ抗原結合アッセイでそれぞれの解離定数（ K_d
 ）によって決定された場合、配列番号 41 のアミノ酸配列からなる抗原結合断片の結合親
 和性と比較して少なくとも 2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、または少
 なくとも 10 倍弱い CD3 に対する結合親和性を呈する、先行態様のいずれか 1 項に記載
 のポリペプチド。

〔30〕第 1 の放出セグメントペプチド（RS1）をさらに含み、前記 RS1 が哺乳類プ

50

ロテアーゼによる切断のための基質である、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔31〕前記 RS1 が、レグマイン、MMP-2、MMP-7、MMP-9、MMP-11、MMP-14、uPA、およびマトリプターゼからなる群から選択されるプロテアーゼのための基質である、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔32〕前記 RS1 が、配列番号 42～660 から選択される配列と少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔33〕前記 RS1 が、RSR-2089、RSR-2295、RSR-2298、RSR-2488、RSR-2599、RSR-2485、RSR-2486、RSR-2728、RSN-2089、RSN-2295、RSN-2298、RSN-2488、RSN-2599、RSN-2485、RSN-2486、RSN-2728、RSC-2089、RSC-2295、RSC-2298、RSC-2488、RSC-2599、RSC-2485、RSC-2486、および RSC-2728 の配列から選択されるアミノ酸配列を含み、これらの各々が表 5 に記載されている、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔34〕第 1 の伸長した組換えポリペプチド (XTEN1) をさらに含み、前記 XTEN1 が、

a. それが、少なくとも約 100 個のアミノ酸を有し、

b. 前記 XTEN1 配列のアミノ酸残基の少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% が、グリシン (G)、アラニン (A)、セリン (S)、トレオニン (T)、グルタメート (E)、およびプロリン (P) から選択され、かつ

c. G、A、S、T、E、および P から選択される少なくとも 4～6 個の異なるアミノ酸を有することを特徴とする、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔35〕前記 XTEN1 が少なくとも約 100～約 1000 個のアミノ酸を有する、前記〔34〕に記載のポリペプチド。

〔36〕前記 XTEN1 が、配列番号 661～664 のうちの少なくとも 3 つから選択されるアミノ酸配列を含む、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔37〕前記 XTEN1 が、配列番号 665～718 および 922～926 から選択される配列と少なくとも約 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔38〕前記 XTEN1 が、AE144__1A、AE144__2A、AE144__2B、AE144__3A、AE144__3B、AE144__4A、AE144__4B、AE144__5A、AE144__6B、AE144__7A、AE284、AE288__1、AE288__2、AE288__3、AE292、AE293、AE300、AE576、AE584、AE864、AE864__2、AE865、AE866、AE867、および AE868 の配列から選択される配列と少なくとも約 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、これらの各々が表 7 に記載されている、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔39〕前記抗原結合断片がキメラまたはヒト化抗原結合断片である、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔40〕前記抗原結合断片が、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、直鎖状抗体、単ドメイン抗体 (sdAb)、および一本鎖可変断片 (scFv) からなる群から選択される、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔41〕融合タンパク質として表現され、前記融合タンパク質が、非切断状態で、N 末端から C 末端に、AF1-RS1-XTEN1 または XTEN1-RS1-AF1 の構造配

10

20

30

40

50

置を有し、ここで、A F 1 が第 1 の抗原結合断片である、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 4 2 〕 C D 3 以外の標的細胞マーカーに特異的に結合する第 2 の抗原結合断片 (A F 2) をさらに含む、先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 4 3 〕 前記 A F 2 が可動性ペプチドリンカーによって前記 A F 1 に融合されている、前記〔 4 2 〕に記載のポリペプチド。

〔 4 4 〕 前記可動性リンカーが、グリシン、セリン、およびプロリンからなる群から選択される 2 つまたは 3 つのタイプのアミノ酸を含む、前記〔 4 3 〕に記載のポリペプチド。

〔 4 5 〕 (1) 前記 A F 2 断片が、F v、F a b、F a b、F a b - S H、直鎖状抗体、単ドメイン抗体、および一本鎖可変断片 (s c F v) からなる群から選択されるか、または (2) 前記 A F 1 および前記 A F 2 が (F a b ') 2 または一本鎖ジアボディとして構成されている、前記〔 4 2 〕～〔 4 4 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 4 6 〕 前記標的細胞マーカーが腫瘍抗原である、前記〔 4 2 〕～〔 4 5 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 4 7 〕 前記標的細胞マーカーが、

1 - 4 0 - アミロイド、4 - 1 B B、5 A C、5 T 4、7 0 7 - A P、A キナーゼアンカータンパク質 4 (A K A P - 4)、アクチビン受容体 2 B 型 (A C V R 2 B)、アクチビン受容体様キナーゼ 1 (A L K 1)、腺がん抗原、アディポフィリン、アドレナリン受容体 3 (A D R B 3)、A G S - 2 2 M 6、葉酸受容体、フェトプロテイン (A F P)、A I M - 2、未分化リンパ腫キナーゼ (A L K)、アンドロゲン受容体、アンジオポエチン 2、アンジオポエチン 3、アンジオポエチン結合細胞表面受容体 2 (T i e 2)、炭疽毒素、A O C 3 (V A P - 1)、B 細胞成熟抗原 (B C M A)、B 7 - H 3 (C D 2 7 6)、B a c i l l u s a n t h r a c i s 炭疽、B 細胞活性化因子 (B A F F)、B リンパ腫細胞、骨髄間質細胞抗原 2 (B S T 2)、インプリント部位調節因子の兄弟 (B O R I S)、C 2 4 2 抗原、C 5、C A - 1 2 5、がん抗原 1 2 5 (C A - 1 2 5 または M U C 1 6)、がん / 精巣抗原 1 (N Y - E S O - 1)、がん / 精巣抗原 2 (L A G E - 1 a)、炭酸脱水酵素 9 (C A - I X)、がん胎児性抗原 (C E A)、心臓ミオシン、C C C T C 結合因子 (C T C F)、C C L 1 1 (エオタキシン - 1)、C C R 4、C C R 5、C C R 6、C C R 7、C C R 8、C C R 9、C D 1 1、C D 1 2 3、C D 1 2 5、C D 1 4 0 a、C D 1 4 7 (ベイシジン)、C D 1 5、C D 1 5 2、C D 1 5 4 (C D 4 0 L)、C D 1 7 1、C D 1 7 9 a、C D 1 8、C D 1 9、C D 2、C D 2 0、C D 2 0 0、C D 2 2、C D 2 2 1、C D 2 3 (I g E 受容体)、C D 2 4、C D 2 5 (I L - 2 受容体の鎖)、C D 2 7、C D 2 7 4、C D 2 8、C D 3、C D 3、C D 3 0、C D 3 0 0 分子様ファミリーメンバー f (C D 3 0 0 L F)、C D 3 1 9 (S L A M F 7)、C D 3 3、C D 3 7、C D 3 8、C D 4、C D 4 0、C D 4 0 リガンド、C D 4 1、C D 4 4 v 7、C D 4 4 v 8、C D 4 4 v 6、C D 5、C D 5 1、C D 5 2、C D 5 6、C D 6、C D 7 0、C D 7 2、C D 7 4、C D 7 9 A、C D 7 9 B、C D 8 0、C D 9 7、C E A 関連抗原、C F D、c h 4 D 5、染色体 X オープンリーディングフレーム 6 1 (C X O R F 6 1)、クローディン 1 8 . 2 (C L D N 1 8 . 2)、クローディン 6 (C L D N 6)、C l o s t r i d i u m d i f f i c i l e、克蘭ピング因子 A、C L C A 2、コロニー刺激因子 1 受容体 (C S F 1 R)、C S F 2、C T L A - 4、C 型レクチンドメインファミリー 1 2 メンバー A (C L E C 1 2 A)、C 型レクチン様分子 - 1 (C L L - 1 または C L E C L 1)、C - X - C ケモカイン受容体 4 型、サイクリン B 1、シトクロム P 4 5 0 1 B 1 (C Y P 1 B 1)、c y p - B、サイトメガロウイルス、サイトメガロウイルス糖タンパク質 B、ダビガトラン、D L L 4、D P P 4、D R 5、E . c o l i 志賀毒素 1 型、E . c o l i 志賀毒素 2 型、エクト A D P リボシルトランスフェラーゼ 4 (A R T 4)、E G F 様モジュール含有ムチン様ホルモン受容体様 2 (E M R 2)、E G F 様ドメインマルチプル 7 (E G F L 7)、伸長因子 2 変異型 (E L F 2 M)、内毒素、エフリン A 2、エフリン B 2、エフリン A 型受容体 2、上皮成長因子受容体 (E G F R)、上皮成長因子受容体バリエーション I I I (E G F R v I I I)、エピシアリ

10

20

30

40

50

ン、上皮細胞接着分子 (E p C A M)、上皮糖タンパク質 2 (E G P - 2)、上皮糖タン
 パク質 4 0 (E G P - 4 0)、E R B B 2、E R B B 3、E R B B 4、E R G (膜貫通タン
 パク質セリン 2 (T M P R S S 2) E T S 融合遺伝子)、E s c h e r i c h i a c
 o l i、染色体 1 2 p に位置する E T S 転座バリエーション遺伝子 6 (E T V 6 - A M L)、
 呼吸器合胞体ウイルスの F タンパク質、F A P、I g A 受容体の F c 断片 (F C A R また
 は C D 8 9)、F c 受容体様 5 (F C R L 5)、胎児アセチルコリン受容体、フィブリン
 I I 鎖、線維芽細胞活性化タンパク質 (F A P)、フィブロネクチン細胞外ドメイ
 ン - B、F G F - 5、F m s 様チロシンキナーゼ 3 (F L T 3)、葉酸結合タンパク質 (F B P)、
 葉酸ヒドロラーゼ、葉酸受容体 1、葉酸受容体、葉酸受容体、F o s 関連
 抗原 1、フリズルド受容体、フコシル G M 1、G 2 5 0、G タンパク質共役受容体 2 0 (10
 G P R 2 0)、G タンパク質共役受容体クラス C グループ 5 メンバー D (G P R C 5 D)
 、ガングリオシド G 2 (G D 2)、G D 3 ガングリオシド、糖タンパク質 1 0 0 (g p 1
 0 0)、グリピカン - 3 (G P C 3)、G M C S F 受容体鎖、G P N M B、G n T - V
 、成長分化因子 8、G U C Y 2 C、熱ショックタンパク質 7 0 - 2 変異型 (m u t h s
 p 7 0 - 2)、赤血球凝集素、A 型肝炎ウイルス細胞受容体 1 (H A V C R 1)、B 型肝
 炎表面抗原、B 型肝炎ウイルス、H E R 1、H E R 2 / n e u、H E R 3、g l o b o H
 グリコセラミド (G l o b o H) の六糖タンパク質、H G F、H H G F R、高分子量メラ
 ノーマ関連抗原 (H M W - M A A)、ヒストン複合体、H I V - 1、H L A - D R、H N
 G F、H s p 9 0、H S T - 2 (F G F 6)、ヒトパピローマウイルス E 6 (H P V E
 6)、ヒトパピローマウイルス E 7 (H P V E 7)、ヒト分散因子受容体キナーゼ、ヒト
 テロメラゼ逆転写酵素 (h T E R T)、ヒト T N F、I C A M - 1 (C D 5 4)、i
 C E、I F N - 、I F N - 、I F N - 、I g E、I g E F c 領域、I G F - 1、
 I G F - 1 受容体、I G H E、I L - 1 2、I L - 1 3、I L - 1 7、I L - 1 7 A、I
 L - 1 7 F、I L - 1、I L - 2 0、I L - 2 2、I L - 2 3、I L - 3 1、I L - 3
 1 R A、I L - 4、I L - 5、I L - 6、I L - 6 受容体、I L - 9、免疫グロブリンラ
 ムダ様ポリペプチド 1 (I G L L 1)、A 型インフルエンザ赤血球凝集素、インスリン様
 成長因子 1 受容体 (I G F - I 受容体)、インスリン様成長因子 2 (I L G F 2)、イン
 テグリン 4 7、インテグリン 2、インテグリン 2、インテグリン 4、インテグ
 リン 5 1、インテグリン 7 7、インテグリン I I b 3、インテグリン v
 3、インターフェロン / 受容体、インターフェロン誘導タンパク質、インターロイ
 キン 1 1 受容体 (I L - 1 1 R)、インターロイキン 1 3 受容体サブユニット - 2 30
 (I L - 1 3 R a 2 または C D 2 1 3 A 2)、腸カルボキシルエステラーゼ、キナーゼド
 メイン領域 (K D R)、K I R 2 D、K I T (C D 1 1 7)、L 1 - 細胞接着分子 (L 1
 - C A M)、レグマイン、白血球免疫グロブリン様受容体サブファミリー A メンバー 2 (L
 I L R A 2)、白血球関連免疫グロブリン様受容体 1 (L A I R 1)、リンパ球抗原 6
 (L y - 6)、ルイス Y 抗原、L F A - 1 (C D 1 1 a)、L I N G O - 1、リポタイコ
 酸、L O X L 2、L - セレクチン (C D 6 2 L)、リンパ球抗原 6 複合体遺伝子座 K 9
 (L Y 6 K)、リンパ球抗原 7 5 (L Y 7 5)、リンパ球特異的タンパク質チロシンキナ
 ーゼ (L C K)、リンホトキシン - (L T -) または腫瘍壊死因子 - (T N F -)
)、リソソーム関連膜タンパク質 1 (L A M P 1)、マクロファージ遊走阻止因子 (M I
 F または M M I F)、M - C S F、乳腺分化抗原 (N Y - B R - 1)、M C P - 1、メラ
 ノーマがん精巢抗原 - 1 (M A D - C T - 1)、メラノーマがん精巢抗原 - 2 (M A D -
 C T - 2)、メラノーマアポトーシス阻害因子メラノーマ (M L - I A P)、メラノーマ
 関連抗原 1 (M A G E - A 1)、メソテリン、細胞表面結合ムチン 1 (M U C 1)、M U
 C - 2、M U C 3、M U C 4、M U C 5 A C、M U C 5 B、M U C 7、M U C 1 6、ムチ
 ン C a n A g、ミエリン関連糖タンパク質、ミオスタチン、N - アセチルグルコサミニル
 - トランスフェラーゼ V (N A 1 7)、N C A - 9 0 (顆粒球抗原)、ネクチン - 4、神
 経成長因子 (N G F)、神経アポトーシス調節プロテインキナーゼ 1、神経細胞接着分子 (N
 C A M)、神経突起伸長阻害因子 (例えば、N O G O - A、N O G O - B、N O G O - C)、
 ニューロピリン - 1 (N R P 1)、N - グリコリルノイラミン酸、N K G 2 D、N o 50

t c h 受容体、o - アセチル - G D 2 ガングリオシド (O A c G D 2)、嗅覚受容体 5 1 E 2 (O R 5 1 E 2)、腫瘍胎児抗原 (h 5 T 4)、切断点クラスター領域 (B C R) および A b e l s o n マウス白血病ウイルスがん遺伝子ホモログ 1 (A b l) (b c r - a b l) からなるがん遺伝子融合タンパク質、アナウサギ、O X - 4 0、o x L D L、p 5 3 変異体、ペアードボックスタンパク質 P a x - 3 (P A X 3)、ペアードボックスタンパク質 P a x - 5 (P A X 5)、パネキシン 3 (P A N X 3)、P - カドヘリン、リン酸ナトリウム共輸送体、ホスファチジルセリン胎盤特異的 1 (P L A C 1)、血小板由来成長因子受容体 (P D G F - R)、血小板由来成長因子受容体 (P D G F R -)、ポリシアル酸、プロアクロシン結合タンパク質 s p 3 2 (O Y - T E S 1)、プログラム細胞死タンパク質 1 (P D - 1)、プログラム死 - リガンド 1 (P D - L 1)、前駆タンパク質転換酵素サブチリシン / ケキシン 9 型 (P C S K 9)、プロスターゼ、前立腺がん腫瘍抗原 - 1 (P C T A - 1 またはガレクチン 8)、T 細胞認識メラノーマ抗原 1 (M e l a n A または M A R T 1)、P 1 5、P 5 3、P R A M E、前立腺幹細胞抗原 (P S C A)、前立腺特異的膜抗原 (P S M A)、前立腺酸性フォスファターゼ (P A P)、前立腺がん細胞、プロステイン、プロテアーゼセリン 2 1 (テスチンまたは P R S S 2 1)、プロテアソーム (プロソーム、マクロパイン) サブユニット 型 9 (L M P 2)、P s e u d o m o n a s a e r u g i n o s a、狂犬病ウイルス糖タンパク質、R A G E、R a s ホモログファミリーメンバー C (R h o C)、核因子カッパ - B リガンド受容体活性化因子 (R A N K L)、高度糖化最終産物受容体 (R A G E - 1)、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体 1 (R O R 1)、腎臓ユビキタス 1 (R U 1)、腎臓ユビキタス 2 (R U 2)、呼吸器合胞体ウイルス、R h 血液型 D 抗原、R h 因子、肉腫転座切断点、スクレロスチン (S O S T)、セレクトイン P、シアリルルイス接着分子 (s L e)、精子タンパク質 1 7 (S P A 1 7)、スフィンゴシン - 1 - リン酸、T 細胞認識扁平上皮がん抗原 1、2、および 3 (S A R T 1、S A R T 2、および S A R T 3)、発生段階特異的胚抗原 - 4 (S S E A - 4)、S t a p h y l o c o c c u s a u r e u s、S T E A P 1、シンデカン 1 (S D C 1) + A 3 1 4、S O X 1 0、スルビピン、スルビピン - 2 B、滑膜肉腫、X 切断点 2 (S S X 2)、T 細胞受容体、T C R 代替リーディングフレームタンパク質 (T A R P)、テロメラゼ、T E M 1、テネシシン C、T G F - (例えば、T G F - 1、T G F - 2、T G F - 3)、甲状腺刺激ホルモン受容体 (T S H R)、組織因子経路阻害因子 (T F P I)、T n 抗原 ((T n A g) または (G a l N A c - S e r / T h r))、T N F 受容体ファミリーメンバー B 細胞成熟 (B C M A)、T N F - 、T R A I L - R 1、T R A I L - R 2、T R G、トランスグルタミナーゼ 5 (T G S 5)、腫瘍抗原 C T A A 1 6、8 8、腫瘍内皮マーカー 1 (T E M 1 / C D 2 4 8)、腫瘍内皮マーカー 7 関連 (T E M 7 R)、腫瘍タンパク質 p 5 3 (p 5 3)、M U C 1 の腫瘍特異的グリコシル化、腫瘍関連カルシウムシグナル伝達物質 2 (T R O P - 2)、腫瘍関連糖タンパク質 7 2 (T A G 7 2)、腫瘍関連糖タンパク質 7 2 (T A G - 7 2) + A 3 2 7、T W E A K 受容体、チロシナーゼ、チロシナーゼ関連タンパク質 1 (T Y R P 1 または糖タンパク質 7 5)、チロシナーゼ関連タンパク質 2 (T Y R P 2)、ウロプラキン 2 (U P K 2)、血管内皮成長因子 (例えば、V E G F - A、V E G F - B、V E G F - C、V E G F - D、P I G F)、血管内皮成長因子受容体 1 (V E G F R 1)、血管内皮成長因子受容体 2 (V E G F R 2)、ビメンチン、v - m y c トリ骨髄球腫症ウイルスがん遺伝子神経芽細胞腫由来ホモログ (M Y C N)、フォン・ヴィレブランド因子 (V W F)、ウィルムス腫瘍タンパク質 (W T 1)、X 抗原ファミリーメンバー 1 A (X A G E 1)、 - アミロイド、 - 軽鎖、線維芽細胞増殖因子受容体 2 (F G F R 2)、L I V - 1 タンパク質エストロゲン調節 (L I V 1、別名 S L C 3 9 A 6)、神経栄養因子受容体チロシンキナーゼ 1 (N T R K 1、別名 T R K)、R e t がん原遺伝子 (R E T)、B 細胞成熟抗原 (B C M A、別名 T N F R S F 1 7)、トランスフェリン受容体 (T F R C、別名 C D 7 1)、活性化白血球細胞接着分子 (A L C A M、別名 C D 1 6 6)、ソマトスタチン受容体 2 (S S T R 2)、K I T がん原遺伝子受容体チロシンキナーゼ (c K I T)、V - S e t 免疫調節受容体 (V S I R、別名 V

10

20

30

40

50

I S T A)、糖タンパク質 N m b (G P N M B)、デルタ様正準 N o t c h リガンド 3 (D L L 3)、インターロイキン 3 受容体サブユニットアルファ (I L 3 R A、別名 C D 1 2 3)、リソソーム関連膜タンパク質 1 (L A M P 1)、カドヘリン 3、タイプ 1、P - カドヘリン (C D H 3)、エフリン A 4 (E F N A 4)、タンパク質チロシンキナーゼ 7 (P T K 7)、溶質キャリアファミリー 3 4 メンバー 2 (S L C 3 4 A 2、別名 N a P i - 2 b)、G C C、P L A U R ドメイン含有 3 (L Y P D 3、別名 L Y 6 または C 4 . 4 a)、細胞表面結合ムチン 1 7 (M U C 1 7)、F m s 関連受容体チロシンキナーゼ 3 (F L T 3)、N K G 2 D リガンド (例えば、U L B P 1、U L B P 2、U L B P 3、H 6 0、R a e - 1、R a e - 1、R a e - 1、R a e - 1、M I C A、M I C B、h H L A - A)、S L A M ファミリーメンバー 7 (S L A M F 7)、インターロイキン 1 3 受容体サブユニットアルファ 2 (I L 1 3 R A 2)、C 型レクチンドメインファミリー 1 2 メンバー A (C L E C 1 2 A、別名 C L L - 1)、C E A 細胞接着分子 5 (C E A C A M、別名 C D 6 6 e)、インターロイキン 3 受容体サブユニットアルファ (I L 3 R A)、C D 5 分子 (C D 5)、U L 1 6 結合タンパク質 1 (I L B P 1)、V - S e t ドメイン含有 T 細胞活性化阻害因子 1 (V T C N 1、別名 B 7 - H 4)、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン 4 (C S P G 4)、シンデカン 1 (S D C 1、別名 C D 1 3 8)、インターロイキン 1 受容体付属タンパク質 (I L 1 R A P)、バキュロウイルス I A P リピート含有 5 (B I R C 5、別名 スルビピン)、C D 7 4 分子 (C D 7 4)、A 型肝炎ウイルス細胞受容体 1 (H A V C R 1、別名 T I M 1)、S L I T および N T R K 様ファミリーメンバー 6 (S I L T R K 6)、C D 3 7 分子 (C D 3 7)、凝固因子 I I I、組織因子 (C D 1 4 2、別名 F 3)、A X L 受容体チロシンキナーゼ (A X L)、エンドセリン受容体 B 型 (E D N R B、別名 E T B R)、カドヘリン 6 (C D H 6)、線維芽細胞増殖因子受容体 3 (F G F R 3)、炭酸脱水酵素 6 (C A 6)、M U C 1 の C a n A g グリコフォーム、インテグリンサブユニットアルファ V (I T G A V)、奇形腫由来成長因子 1 (T D G F 1、別名 C r y p t o 1)、S L A M ファミリーメンバー 6 (S L A M F 6、別名 C D 3 5 2)、および N o t c h 受容体 3 (N O T C H 3) から選択される、前記 [4 6] に記載のポリペプチド。

10

20

[4 8] 前記 A F 2 が、前記標的細胞マーカーを含むインビトロ抗原結合アッセイで決定された場合、約 0 . 1 n M ~ 約 1 0 0 n M の K_d で前記標的細胞マーカーに特異的に結合する、前記 [4 2] ~ [4 7] のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

30

[4 9] 前記 A F 2 の前記標的細胞マーカーに対する結合親和性が、インビトロ抗原結合アッセイで測定された場合、前記 A F 1 の C D 3 に対する結合親和性よりも少なくとも 1 0 倍高い、または少なくとも 1 0 0 倍高い、または少なくとも 1 0 0 0 倍高い、前記 [4 2] ~ [4 8] のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

[5 0] 前記 A F 2 が、前記標的細胞マーカーに対する結合親和性を有するモノクローナル抗体の C D R を含む、前記 [4 2] ~ [4 9] のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

[5 1] 前記 A F 2 の前記 C D R が配列番号 7 1 9 ~ 9 1 8 の配列から選択される、前記 [4 9] に記載のポリペプチド。

[5 2] 前記 A F 2 が、前記標的細胞マーカーに対する結合親和性を有するモノクローナル抗体の V L および V H を含む、前記 [4 2] ~ [5 1] のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

40

[5 3] 前記 A F 2 の前記 V L が配列番号 8 1 9 ~ 9 1 8 の配列から選択され、前記 V H が配列番号 7 1 9 ~ 8 1 8 の配列から選択される、前記 [5 2] に記載のポリペプチド。

[5 4] 第 2 の放出セグメント (R S 2) をさらに含み、前記 R S 2 が哺乳類プロテアーゼによる切断のための基質である、前記 [3 0] ~ [5 3] のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

[5 5] 前記 R S 2 が、レグマイン、M M P - 2、M M P - 7、M M P - 9、M M P - 1 1、M M P - 1 4、u P A、およびマトリプターゼから選択されるプロテアーゼのための基質である、前記 [5 4] に記載のポリペプチド。

[5 6] 前記 R S 2 が、配列番号 4 2 ~ 6 6 0 から選択される配列と少なくとも 9 0 %、

50

91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、前記〔54〕または前記〔55〕に記載のポリペプチド。

〔57〕前記RS1の配列と前記RS2の配列が同一である、前記〔54〕～〔56〕のいずれか1項に記載のポリペプチド。

〔58〕前記RS1の配列と前記RS2の配列が同一ではない、前記〔54〕～〔56〕のいずれか1項に記載のポリペプチド。

〔59〕前記RS1および前記RS2が各々、各放出セグメント配列内の1、2、または3つの切断部位における複数のプロテアーゼによる切断のための基質である、前記〔54〕～〔58〕のいずれか1項に記載のポリペプチド。

〔60〕第2の伸長した組換えポリペプチド(XTEN2)をさらに含み、前記XTEN2が、

a. それが、少なくとも約100個のアミノ酸を有し、

b. 前記XTEN1配列のアミノ酸残基の少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%が、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、トレオニン(T)、グルタメート(E)、およびプロリン(P)から選択され、かつ

c. それが、G、A、S、T、E、およびPから選択される少なくとも4～6個の異なるアミノ酸を有することを特徴とする、前記〔54〕～〔59〕のいずれか1項に記載のポリペプチド。

〔61〕前記XTEN2がアミノ酸配列を含み、前記アミノ酸配列の少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%が、配列番号661～664のうちの少なくとも3つから選択される非重複配列を含む、前記〔60〕に記載のポリペプチド。

〔62〕前記XTEN2が、配列番号665～718および922～926から選択される配列と少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、前記〔60〕または前記〔61〕に記載のポリペプチド。

〔63〕前記XTEN2が、AE144_1A、AE144_2A、AE144_2B、AE144_3A、AE144_3B、AE144_4A、AE144_4B、AE144_5A、AE144_6B、AE144_7A、AE284、AE288_1、AE288_2、AE288_3、AE292、AE293、AE300、AE576、AE584、AE864、AE864_2、AE865、AE866、AE867、およびAE868の配列から選択される配列と少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、これらの各々が表7に記載されている、前記〔60〕～〔62〕のいずれか1項に記載のポリペプチド。

〔64〕前記ポリペプチドが、N末端からC末端に、以下：XTEN1-RS1-AF2-AF1-RS2-XTEN2、XTEN1-RS1-AF1-AF2-RS2-XTEN2、XTEN2-RS2-AF2-AF1-RS1-XTEN1、XTEN2-RS2-AF1-AF2-RS1-XTEN1、XTEN2-RS2-ダイアボディ-RS1-XTEN1、またはXTEN1-RS1-ダイアボディ-RS2-XTEN2の構造配置を有し、ここで、前記ダイアボディが前記AF1および前記AF2のVLおよびVHを含み、前記AF1がCD3に特異的に結合し、前記AF2が標的細胞マーカーに特異的に結合し、XTEN1およびXTEN2が異なるアミノ酸長または配列のものである、前記〔60〕～〔63〕のいずれか1項に記載のポリペプチド。

〔65〕RS1、RS2、AF1、AF2、XTEN1、およびXTEN2を含むポリペプチドであって、

a. 前記RS1および前記RS2が各々、哺乳類プロテアーゼによる切断のための基質であり、各々が、配列番号42～660から選択される配列と少なくとも90%、91

10

20

30

40

50

%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、

b. 前記AF1が、CD3に対する結合特異性を有するモノクローナル抗体の抗原結合断片であり、

c. 前記AF2が、標的細胞マーカーに対する結合親和性を有するモノクローナル抗体のVLおよびVHを含む抗原結合断片であり、

d. 前記XTEN1が、配列番号665～718および922～926から選択される配列と少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、

e. 前記XTEN2が、配列番号665～718および922～926から選択される配列と少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、

f. 前記ポリペプチドが、N末端からC末端に、以下：XTEN1-RS1-AF2-AF1-RS2-XTEN2、XTEN1-RS1-AF1-AF2-RS2-XTEN2、XTEN2-RS2-AF2-AF1-RS1-XTEN1、XTEN2-RS2-AF1-AF2-RS1-XTEN1、またはXTEN2-RS2-ジアボディ-RS1-XTEN1の構造配置を有し、ここで、前記ジアボディが、前記AF1および前記AF2のVLおよびVHを含み、

g. 前記ポリペプチドが、インビトロアッセイで融解温度(T_m)の増加によって決定された場合、配列番号41に示される配列からなる抗体断片と比較して高い熱安定性を呈する、ポリペプチド。

〔66〕前記AF1が、

a. 重鎖相補性決定領域(CDR-H)CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、ここで、CDR-H3が配列番号10のアミノ酸配列を含み、かつ

b. インビトロアッセイで融解温度(T_m)の増加によって決定された場合、配列番号41に示される配列からなる抗原結合断片の T_m と比較して高い熱安定性を呈する、前記〔65〕に記載のポリペプチド。

〔67〕前記AF1が、軽鎖相補性決定領域(CDR-L)および重鎖相補性決定領域(CDR-H)を含み、前記AF1が、

a. CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、ここで、CDR-H3が配列番号10のアミノ酸配列を含み、かつ

b. FR-H1、FR-H2、FR-H3、FR-H4を含み、それらが各々、それぞれ、配列番号20または21、23、24、および26のアミノ酸と少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%の配列同一性を呈するか、またはそれと同一である、前記〔65〕に記載のポリペプチド。

〔68〕前記AF1が、FR-L1、FR-L2、FR-L3、FR-L4をさらに含み、それらが各々、それぞれ、配列番号12、13、14～17、および19のアミノ酸配列と少なくとも86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%の配列同一性を呈するか、またはそれと同一である、前記〔65〕～〔67〕のいずれか1項に記載のポリペプチド。

〔69〕前記CDR-H1および前記CDR-H2が、それぞれ、配列番号8および9のアミノ酸配列を含む、前記〔67〕または前記〔68〕に記載のポリペプチド。

〔70〕前記CDR-Lが、

a. 配列番号1または2のアミノ酸配列を有するCDR-L1、

b. 配列番号4または5のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および

c. 配列番号6のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む、前記〔67〕～〔69〕のいずれかに記載のポリペプチド。

〔71〕前記CDR-Lが、

a. 配列番号1のアミノ酸配列を有するCDR-L1、

10

20

30

40

50

b. 配列番号 4 または 5 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および

c. 配列番号 6 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む、前記〔 6 7 〕～〔 7 0 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 7 2 〕前記 C D R - L が、

a. 配列番号 2 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、

b. 配列番号 4 または 5 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および

c. 配列番号 6 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む、前記〔 6 7 〕～〔 7 0 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 7 3 〕前記 C D R - L が、

a. 配列番号 1 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、

b. 配列番号 4 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列 C D R - L 2、および

c. 配列番号 6 のアミノ酸配列 C D R - L 3 を含む、前記〔 6 7 〕～〔 7 0 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 7 4 〕前記 C D R - L が、

a. 配列番号 2 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、

b. 配列番号 5 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および

c. 配列番号 6 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む、前記〔 6 7 〕～〔 7 0 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 7 5 〕前記 A F 1 が、軽鎖フレームワーク領域 (F R - L) および重鎖フレームワーク領域 (F R - H) を含み、前記 A F 1 が、

i. 配列番号 1 2 のアミノ酸配列を有する F R - L 1、

j. 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を有する F R - L 2、

k. 配列番号 1 4 のアミノ酸配列を有する F R - L 3、

l. 配列番号 1 9 のアミノ酸配列を有する F R - L 4、

m. 配列番号 2 0 のアミノ酸配列を有する F R - H 1、

n. 配列番号 2 3 のアミノ酸配列を有する F R - H 2、

o. 配列番号 2 4 のアミノ酸配列を有する F R - H 3、および

p. 配列番号 2 6 のアミノ酸配列を有する F R - H 4 を含む、前記〔 6 7 〕～〔 7 0 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 7 6 〕前記 A F 1 が、軽鎖フレームワーク領域 (F R - L) および重鎖フレームワーク領域 (F R - H) を含み、前記 A F 1 が、

i. 配列番号 1 2 のアミノ酸配列を有する F R - L 1、

j. 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を有する F R - L 2、

k. 配列番号 1 5 のアミノ酸配列を有する F R - L 3、

l. 配列番号 1 9 のアミノ酸配列を有する F R - L 4、

m. 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を有する F R - H 1、

n. 配列番号 2 3 のアミノ酸配列を有する F R - H 2、

o. 配列番号 2 4 のアミノ酸配列を有する F R - H 3、および

p. 配列番号 2 6 のアミノ酸配列を有する F R - H 4 を含む、前記〔 6 7 〕～〔 7 0 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 7 7 〕前記 A F 1 が、軽鎖フレームワーク領域 (F R - L) および重鎖フレームワーク領域 (F R - H) を含み、前記 A F 1 が、

i. 配列番号 1 2 のアミノ酸配列を有する F R - L 1、

j. 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を有する F R - L 2、

k. 配列番号 1 6 のアミノ酸配列を有する F R - L 3、

l. 配列番号 1 9 のアミノ酸配列を有する F R - L 4、

m. 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を有する F R - H 1、

n. 配列番号 2 3 のアミノ酸配列を有する F R - H 2、

10

20

30

40

50

o. 配列番号 24 のアミノ酸配列を有する F R - H 3、および
p. 配列番号 26 のアミノ酸配列を有する F R - H 4 を含む、前記〔67〕～〔70〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔78〕前記 A F 1 が、軽鎖フレームワーク領域 (F R - L) および重鎖フレームワーク領域 (F R - H) を含む、前記 A F 1 が、

i. 配列番号 12 のアミノ酸配列を有する F R - L 1、

j. 配列番号 13 のアミノ酸配列を有する F R - L 2、

k. 配列番号 17 のアミノ酸配列を有する F R - L 3、

l. 配列番号 19 のアミノ酸配列を有する F R - L 4、

m. 配列番号 21 のアミノ酸配列を有する F R - H 1、

n. 配列番号 23 のアミノ酸配列を有する F R - H 2、

o. 配列番号 24 のアミノ酸配列を有する F R - H 3、および

p. 配列番号 26 のアミノ酸配列を有する F R - H 4 を含む、前記〔67〕～〔70〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔79〕前記 A F 1 が、配列番号 28 または配列番号 31 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 % の配列同一性を有するか、またはそれと同一である可変重鎖 (V H) アミノ酸配列を含む、前記〔65〕～〔78〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔80〕前記 A F 1 が、配列番号 27、29、30、32、または 33 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 % の配列同一性を有するか、またはそれと同一である可変軽鎖 (V L) アミノ酸配列を含む、前記〔65〕～〔79〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔81〕前記 A F 1 が、配列番号 36 ~ 40 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、99 % の配列同一性を有するか、またはそれと同一であるアミノ酸配列を含む、前記〔65〕～〔80〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔82〕(1) 前記 A F 1 断片および前記 A F 2 断片が各々、F v、F a b、F a b、F a b - S H、直鎖状抗体、単ドメイン抗体、および一本鎖可変断片 (s c F v) からなる群から選択されるか、または (2) 前記 A F 1 および前記 A F 2 が (F a b ')₂ または一本鎖ジアボディとして構成されている、前記〔65〕～〔81〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔83〕前記 A F 1 がヒトまたはカニクイザル (c y n o) C D 3 に特異的に結合する、前記〔65〕～〔82〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔84〕前記 A F 1 がヒトおよびカニクイザル (c y n o) C D 3 に特異的に結合する、前記〔65〕～〔82〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔85〕前記 A F 1 が、C D 3 の C D 3 イプシロン、C D 3 デルタ、C D 3 ガンマ、C D 3 ゼータ、C D 3 アルファおよび C D 3 ベータイプシロン断片から選択される C D 3 複合体サブユニットに結合する、前記〔65〕～〔84〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔86〕前記 A F 1 が C D 3 イプシロンに結合する、前記〔65〕～〔85〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔87〕前記 A F 1 の T_m が、インピトロアッセイでの融解温度の増加によって決定された場合、配列番号 41 の配列からなる抗原結合断片の T_m よりも少なくとも 2 高い、または少なくとも 3 高い、または少なくとも 4 高い、または少なくとも 5 高い、または少なくとも 6 高い、または少なくとも 7 高い、または少なくとも 8 高い、または少なくとも 9 高い、または少なくとも 10 高い、前記〔66〕～〔86〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔88〕前記 A F 1 が 6.6 以下の等電点 (p I) を呈する、前記〔65〕～〔87〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

10

20

30

40

50

〔 8 9 〕前記 A F 1 が 6 . 0 ~ 6 . 6 (境界値も含む) の p I を呈する、前記〔 6 5 〕 ~ 〔 8 8 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 9 0 〕前記 A F 1 が、配列番号 4 1 に示される配列からなる参照抗原結合断片の p I よりも少なくとも 0 . 1、0 . 2、0 . 3、0 . 4、0 . 5、0 . 6、0 . 7、0 . 8、0 . 9、または 1 . 0 低い p I を呈する、前記〔 6 5 〕 ~ 〔 8 7 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 9 1 〕前記 A F 1 が、インビトロ抗原結合アッセイで決定された場合、約 ~ 約 1 0 n M ~ 約 4 0 0 n M の解離定数 (K_d) 定数でヒトまたはカニクイザル C D 3 に特異的に結合する、前記〔 6 5 〕 ~ 〔 9 0 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 9 2 〕前記 A F 1 が、インビトロ抗原結合アッセイで決定された場合、約 3 n M 未満、または約 1 0 n M 未満、または約 5 0 n M 未満、または約 1 0 0 n M 未満、または約 1 5 0 n M 未満、または約 2 0 0 n M 未満、または約 2 5 0 n M 未満、または約 3 0 0 n M 未満の解離定数 (K_d) でヒトまたはカニクイザル C D 3 に特異的に結合する、前記〔 6 5 〕 ~ 〔 9 0 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 9 3 〕前記 A F 1 が、インビトロ抗原結合アッセイでそれぞれの解離定数 (K_d) によって決定された場合、配列番号 4 1 のアミノ酸配列からなる A F 1 よりも少なくとも 2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、または少なくとも 1 0 倍低い結合親和性でヒトまたはカニクイザル C D 3 に特異的に結合する、前記〔 6 5 〕 ~ 〔 9 0 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 9 4 〕前記 A F 2 が、インビトロ抗原結合アッセイで決定された場合、約 0 . 1 n M ~ 約 1 0 0 n M の K_d で前記標的細胞マーカーに特異的に結合する、前記〔 6 5 〕 ~ 〔 9 3 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 9 5 〕前記 A F 2 の前記標的細胞マーカーに対する結合親和性が、インビトロ抗原結合アッセイで測定された場合、前記 A F 1 の C D 3 に対する結合親和性よりも少なくとも 1 0 倍高い、または少なくとも 1 0 0 倍高い、または少なくとも 1 0 0 0 倍高い、前記〔 6 5 〕 ~ 〔 9 4 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 9 6 〕前記 A F 2 が、前記標的細胞マーカーに対する結合親和性を有するモノクローナル抗体の C D R を含む、前記〔 6 5 〕 ~ 〔 9 5 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 9 7 〕前記 A F 2 の前記 C D R が、配列番号 7 1 9 ~ 9 1 8 の配列の C D R 配列から選択される、前記〔 9 6 〕に記載のポリペプチド。

〔 9 8 〕前記 A F 2 が、前記標的細胞マーカーに対する結合親和性を有するモノクローナル抗体の V L および V H を含む、前記〔 6 5 〕 ~ 〔 9 5 〕のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

〔 9 9 〕前記 V L 配列が配列番号 7 1 9 ~ 8 1 8 の配列から選択され、前記 V H 配列が配列番号 8 1 9 ~ 9 1 8 の配列から選択される、前記〔 9 8 〕に記載のポリペプチド。

〔 1 0 0 〕抗原結合断片を含むポリペプチドであって、前記抗原結合断片が、軽鎖相補性決定領域 (C D R - L) および重鎖相補性決定領域 (C D R - H) を含み、前記抗原結合断片が、

a . C D 3 のイプシロンサブユニットに特異的に結合し、かつ

b . 配列番号 9 2 0 を含む V H アミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

〔 1 0 1 〕前記抗原結合断片が、配列番号 9 1 9 を含む V L アミノ酸配列を含む、前記〔 1 0 0 〕に記載のポリペプチド。

〔 1 0 2 〕前記抗原結合断片が配列番号 9 2 1 からなる、前記〔 1 0 0 〕または前記〔 1 0 1 〕に記載のポリペプチド。

〔 1 0 3 〕前記 A F 1 が可動性ペプチドリンカーによって前記 A F 2 に融合されており、

a . 前記 A F 2 が C D 3 以外の第 2 の参照抗原に特異的に結合し、これにより、前記ポリペプチドが C D 3 および前記第 2 の参照抗原の両方に結合することができる二重特異性抗原結合断片になり、

b . 前記二重特異性抗原結合断片が、インビトロアッセイで融解温度 (T_m) の増加によって決定された場合、対照二重特異性抗原結合断片と比較して高い熱安定性を呈し、前

10

20

30

40

50

記対照二重特異性抗原結合断片が配列番号41およびAF2を含む、前記〔42〕～〔102〕のいずれか1項に記載のポリペプチド。

〔104〕前記AF1および前記AF2が各々、6.6以下の等電点(pI)を呈する、前記〔103〕に記載のポリペプチド。

〔105〕前記AF1および前記AF2が各々、5.5～6.6(境界値も含む)のpIを呈する、前記〔103〕または前記〔104〕に記載のポリペプチド。

〔106〕前記AF1のpIが、前記AF2のpIの0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、または1.5pH単位以内である、前記〔103〕～〔105〕のいずれか1項に記載のポリペプチド。

〔107〕前記第2の参照抗原が、1-40 - アミロイド、4-1BB、5AC、5T4、707-AP、Aキナーゼアンカータンパク質4(AKAP-4)、アクチビン受容体2B型(ACVR2B)、アクチビン受容体様キナーゼ1(ALK1)、腺がん抗原、アディポフィリン、アドレナリン受容体3(ADRB3)、AGS-22M6、葉酸受容体、 - フェトプロテイン(AFP)、AIM-2、未分化リンパ腫キナーゼ(ALK)、アンドロゲン受容体、アンジオポエチン2、アンジオポエチン3、アンジオポエチン結合細胞表面受容体2(Tie2)、炭疽毒素、AOC3(VAP-1)、B細胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3(CD276)、Bacillus anthracis炭疽、B細胞活性化因子(BAFF)、Bリンパ腫細胞、骨髄間質細胞抗原2(BST2)、インプリント部位調節因子の兄弟(BORIS)、C242抗原、C5、CA-125、がん抗原125(CA-125またはMUC16)、がん/精巣抗原1(NY-ESO-1)、がん/精巣抗原2(LAGE-1a)、炭酸脱水酵素9(CA-IX)、がん胎児性抗原(CEA)、心臓ミオシン、CCCTC結合因子(CTCF)、CCL11(エオタキシン-1)、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CD11、CD123、CD125、CD140a、CD147(ベシジン)、CD15、CD152、CD154(CD40L)、CD171、CD179a、CD18、CD19、CD2、CD20、CD200、CD22、CD221、CD23(IgE受容体)、CD24、CD25(IL-2受容体の鎖)、CD27、CD274、CD28、CD3、CD30、CD300分子様ファミリーメンバーf(CD300LF)、CD319(SLAMF7)、CD33、CD37、CD38、CD4、CD40、CD40リガンド、CD41、CD44v7、CD44v8、CD44v6、CD5、CD51、CD52、CD56、CD6、CD70、CD72、CD74、CD79A、CD79B、CD80、CD97、CEA関連抗原、CFD、ch4D5、染色体Xオープンリーディングフレーム61(CXORF61)、クローディン18.2(CLDN18.2)、クローディン6(CLDN6)、Clostridium difficile、クランピング因子A、CLCA2、コロニー刺激因子1受容体(CSF1R)、CSF2、CTLA-4、C型レクチンドメインファミリー12メンバーA(CLEC12A)、C型レクチン様分子-1(CLL-1またはCLECL1)、C-X-Cケモカイン受容体4型、サイクリンB1、シトクロムP4501B1(CYP1B1)、cyp-B、サイトメガロウイルス、サイトメガロウイルス糖タンパク質B、ダビガトラン、DLL4、DPP4、DR5、E.coli志賀毒素1型、E.coli志賀毒素2型、エクトADPリボシルトランスフェラーゼ4(ART4)、EGF様モジュール含有ムチン様ホルモン受容体様2(EMR2)、EGF様ドメインマルチプル7(EGFL7)、伸長因子2変異型(ELF2M)、内毒素、エフリンA2、エフリンB2、エフリンA型受容体2、上皮成長因子受容体(EGFR)、上皮成長因子受容体バリエーションI(EGFRvIII)、エピシアリン、上皮細胞接着分子(EpCAM)、上皮糖タンパク質2(EGP-2)、上皮糖タンパク質40(EGP-40)、ERBB2、ERBB3、ERBB4、ERG(膜貫通タンパク質セリン2(TMPPRS2)ETS融合遺伝子)、Escherichia coli、染色体12pに位置するETS転座バリエーション遺伝子6(ETV6-AML)、呼吸器合胞体ウイルスのFタンパク質、FAP、I

10

20

30

40

50

g A 受容体の F c 断片 (F C A R または C D 8 9)、F c 受容体様 5 (F C R L 5)、胎児アセチルコリン受容体、フィブリン I I 鎖、線維芽細胞活性化タンパク質 (F A P)、フィブロネクチン細胞外ドメイン - B、F G F - 5、F m s 様チロシンキナーゼ 3 (F L T 3)、葉酸結合タンパク質 (F B P)、葉酸ヒドロラーゼ、葉酸受容体 1、葉酸受容体、葉酸受容体、F o s 関連抗原 1、フリズルド受容体、フコシル G M 1、G 2 5 0、G タンパク質共役受容体 2 0 (G P R 2 0)、G タンパク質共役受容体クラス C グループ 5 メンバー D (G P R C 5 D)、ガングリオシド G 2 (G D 2)、G D 3 ガングリオシド、糖タンパク質 1 0 0 (g p 1 0 0)、グリピカン - 3 (G P C 3)、G M C S F 受容体 鎖、G P N M B、G n T - V、成長分化因子 8、G U C Y 2 C、熱ショックタンパク質 7 0 - 2 変異型 (m u t h s p 7 0 - 2)、赤血球凝集素、A 型肝炎ウイルス細胞受容体 1 (H A V C R 1)、B 型肝炎表面抗原、B 型肝炎ウイルス、H E R 1、H E R 2 / n e u、H E R 3、g l o b o H グリコセラミド (G l o b o H) の六糖タンパク質、H G F、H H G F R、高分子量メラノーマ関連抗原 (H M W - M A A)、ヒストン複合体、H I V - 1、H L A - D R、H N G F、H s p 9 0、H S T - 2 (F G F 6)、ヒトパピローマウイルス E 6 (H P V E 6)、ヒトパピローマウイルス E 7 (H P V E 7)、ヒト分散因子受容体キナーゼ、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素 (h T E R T)、ヒト T N F、I C A M - 1 (C D 5 4)、i C E、I F N - 、I F N - 、I F N - 、I g E、I g E F c 領域、I G F - 1、I G F - 1 受容体、I G H E、I L - 1 2、I L - 1 3、I L - 1 7、I L - 1 7 A、I L - 1 7 F、I L - 1、I L - 2 0、I L - 2 2、I L - 2 3、I L - 3 1、I L - 3 1 R A、I L - 4、I L - 5、I L - 6、I L - 6 受容体、I L - 9、免疫グロブリンラムダ様ポリペプチド 1 (I G L L 1)、A 型インフルエンザ赤血球凝集素、インスリン様成長因子 1 受容体 (I G F - I 受容体)、インスリン様成長因子 2 (I L G F 2)、インテグリン 4 7、インテグリン 2、インテグリン 2、インテグリン 4、インテグリン 5 1、インテグリン 7 7、インテグリン I I b 3、インテグリン v 3、インターフェロン / 受容体、インターフェロン 誘導タンパク質、インターロイキン 1 1 受容体 (I L - 1 1 R)、インターロイキン 1 3 受容体サブユニット - 2 (I L - 1 3 R a 2 または C D 2 1 3 A 2)、腸カルボキシルエステラーゼ、キナーゼドメイン領域 (K D R)、K I R 2 D、K I T (C D 1 1 7)、L 1 - 細胞接着分子 (L 1 - C A M)、レグマイン、白血球免疫グロブリン様受容体サブファミリー A メンバー 2 (L I L R A 2)、白血球関連免疫グロブリン様受容体 1 (L A I R 1)、リンパ球抗原 6 (L y - 6)、ルイス Y 抗原、L F A - 1 (C D 1 1 a)、L I N G O - 1、リポタイコ酸、L O X L 2、L - セレクチン (C D 6 2 L)、リンパ球抗原 6 複合体遺伝子座 K 9 (L Y 6 K)、リンパ球抗原 7 5 (L Y 7 5)、リンパ球特異的タンパク質チロシンキナーゼ (L C K)、リンホトキシン - (L T -) または腫瘍壊死因子 - (T N F -)、リソソーム関連膜タンパク質 1 (L A M P 1)、マクロファージ遊走阻止因子 (M I F または M M I F)、M - C S F、乳腺分化抗原 (N Y - B R - 1)、M C P - 1、メラノーマがん精巢抗原 - 1 (M A D - C T - 1)、メラノーマがん精巢抗原 - 2 (M A D - C T - 2)、メラノーマアポトーシス阻害因子メラノーマ (M L - I A P)、メラノーマ関連抗原 1 (M A G E - A 1)、メソテリン、細胞表面結合ムチン 1 (M U C 1)、M U C - 2、M U C 3、M U C 4、M U C 5 A C、M U C 5 B、M U C 7、M U C 1 6、ムチン C a n A g、ミエリン関連糖タンパク質、ミオスタチン、N - アセチルグルコサミン - トランスフェラーゼ V (N A 1 7)、N C A - 9 0 (顆粒球抗原)、ネクチン - 4、神経成長因子 (N G F)、神経アポトーシス調節プロテインキナーゼ 1、神経細胞接着分子 (N C A M)、神経突起伸長阻害因子 (例えば、N O G O - A、N O G O - B、N O G O - C)、ニューロピリン - 1 (N R P 1)、N - グリコリルノイラミン酸、N K G 2 D、N o t c h 受容体、o - アセチル - G D 2 ガングリオシド (O A c G D 2)、嗅覚受容体 5 1 E 2 (O R 5 1 E 2)、腫瘍胎児抗原 (h 5 T 4)、切断点クラスター領域 (B C R) および A b e l s o n マウス白血病ウイルスがん遺伝子ホモログ 1 (A b l) (b c r - a b l) からなるがん遺伝子融合タンパク質、アナウサギ、O X - 4 0、o x L D L、p 5 3 変異体、ペアードボックスタンパク質 P a x - 3

10

20

30

40

50

(P A X 3)、ペアードボックスタンパク質 P a x - 5 (P A X 5)、パネキシン 3 (P A N X 3)、P - カドヘリン、リン酸ナトリウム共輸送体、ホスファチジルセリン胎盤特異的 1 (P L A C 1)、血小板由来成長因子受容体 (P D G F - R)、血小板由来成長因子受容体 (P D G F R -)、ポリシアル酸、プロアクロシン結合タンパク質 s p 3 2 (O Y - T E S 1)、プログラム細胞死タンパク質 1 (P D - 1)、プログラム死 - リガンド 1 (P D - L 1)、前駆タンパク質転換酵素サブチリシン / ケキシン 9 型 (P C S K 9)、プロスターゼ、前立腺がん腫瘍抗原 - 1 (P C T A - 1 またはガレクチン 8)、T 細胞認識メラノーマ抗原 1 (M e l a n A または M A R T 1)、P 1 5、P 5 3、P R A M E、前立腺幹細胞抗原 (P S C A)、前立腺特異的膜抗原 (P S M A)、前立腺酸性フォスファターゼ (P A P)、前立腺がん細胞、プロステイン、プロテアーゼセリン 2 1 (テスチンまたは P R S S 2 1)、プロテアソーム (プロソーム、マクロパイン) サブユニット 型 9 (L M P 2)、P s e u d o m o n a s a e r u g i n o s a、狂犬病ウイルス糖タンパク質、R A G E、R a s ホモログファミリーメンバー C (R h o C)、核因子カッパ - B リガンド受容体活性化因子 (R A N K L)、高度糖化最終産物受容体 (R A G E - 1)、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体 1 (R O R 1)、腎臓ユビキタス 1 (R U 1)、腎臓ユビキタス 2 (R U 2)、呼吸器合胞体ウイルス、R h 血液型 D 抗原、R h 因子、肉腫転座切断点、スクレロスチン (S O S T)、セレクチン P、シアリルルイス接着分子 (s L e)、精子タンパク質 1 7 (S P A 1 7)、スフィンゴシン - 1 - リン酸、T 細胞認識扁平上皮がん抗原 1、2、および 3 (S A R T 1、S A R T 2、および S A R T 3)、発生段階特異的胚抗原 - 4 (S S E A - 4)、S t a p h y l o c o c c u s a u r e u s、S T E A P 1、シンデカン 1 (S D C 1) + A 3 1 4、S O X 1 0、スルビビン、スルビビン - 2 B、滑膜肉腫、X 切断点 2 (S S X 2)、T 細胞受容体、T C R 代替リーディングフレームタンパク質 (T A R P)、テロメラゼ、T E M 1、テネイシン C、T G F - (例えば、T G F - 1、T G F - 2、T G F - 3)、甲状腺刺激ホルモン受容体 (T S H R)、組織因子経路阻害因子 (T F P I)、T n 抗原 ((T n A g) または (G a l N A c - S e r / T h r))、T N F 受容体ファミリーメンバー B 細胞成熟 (B C M A)、T N F - 、T R A I L - R 1、T R A I L - R 2、T R G、トランスグルタミナーゼ 5 (T G S 5)、腫瘍抗原 C T A A 1 6 . 8 8、腫瘍内皮マーカー 1 (T E M 1 / C D 2 4 8)、腫瘍内皮マーカー 7 関連 (T E M 7 R)、腫瘍タンパク質 p 5 3 (p 5 3)、M U C 1 の腫瘍特異的グリコシル化、腫瘍関連カルシウムシグナル伝達物質 2 (T R O P - 2)、腫瘍関連糖タンパク質 7 2 (T A G 7 2)、腫瘍関連糖タンパク質 7 2 (T A G - 7 2) + A 3 2 7、T W E A K 受容体、チロシナーゼ、チロシナーゼ関連タンパク質 1 (T Y R P 1 または糖タンパク質 7 5)、チロシナーゼ関連タンパク質 2 (T Y R P 2)、ウロプラキン 2 (U P K 2)、血管内皮成長因子 (例えば、V E G F - A、V E G F - B、V E G F - C、V E G F - D、P I G F)、血管内皮成長因子受容体 1 (V E G F R 1)、血管内皮成長因子受容体 2 (V E G F R 2)、ビメンチン、v - m y c トリ骨髄球腫症ウイルスがん遺伝子神経芽細胞腫由来ホモログ (M Y C N)、フォン・ヴィレブランド因子 (V W F)、ウィルムス腫瘍タンパク質 (W T 1)、X 抗原ファミリーメンバー 1 A (X A G E 1)、- アミロイド、- 軽鎖、線維芽細胞増殖因子受容体 2 (F G F R 2)、L I V - 1 タンパク質エストロゲン調節 (L I V 1、別名 S L C 3 9 A 6)、神経栄養因子受容体チロシンキナーゼ 1 (N T R K 1、別名 T R K)、R e t がん原遺伝子 (R E T)、B 細胞成熟抗原 (B C M A、別名 T N F R S F 1 7)、トランスフェリン受容体 (T F R C、別名 C D 7 1)、活性化白血球細胞接着分子 (A L C A M、別名 C D 1 6 6)、ソマトスタチン受容体 2 (S S T R 2)、K I T がん原遺伝子受容体チロシンキナーゼ (c K I T)、V - S e t 免疫調節受容体 (V S I R、別名 V I S T A)、糖タンパク質 N m b (G P N M B)、デルタ様正準 N o t c h リガンド 3 (D L L 3)、インターロイキン 3 受容体サブユニットアルファ (I L 3 R A、別名 C D 1 2 3)、リソソーム関連膜タンパク質 1 (L A M P 1)、カドヘリン 3、タイプ 1、P - カドヘリン (C D H 3)、エフリン A 4 (E F N A 4)、タンパク質チロシンキナーゼ 7 (P T K 7)、溶質キャリアファミリー 3 4

10

20

30

40

50

メンバー 2 (S L C 3 4 A 2 、 別 名 N a P i - 2 b) 、 G C C 、 P L A U R ドメイン含有 3 (L Y P D 3 、 別 名 L Y 6 または C 4 , 4 a) 、 細胞表面結合ムチン 1 7 (M U C 1 7) 、 F m s 関連受容体チロシンキナーゼ 3 (F L T 3) 、 N K G 2 D リガンド (例 えば 、 U L B P 1 、 U L B P 2 、 U L B P 3 、 H 6 0 、 R a e - 1 、 R a e - 1 、 R a e - 1 、 R a e - 1 、 M I C A 、 M I C B 、 h H L A - A) 、 S L A M ファミリーメンバ ー 7 (S L A M F 7) 、 インターロイキン 1 3 受容体サブユニットアルファ 2 (I L 1 3 R A 2) 、 C 型レクチンドメインファミリー 1 2 メンバー A (C L E C 1 2 A 、 別 名 C L L - 1) 、 C E A 細胞接着分子 5 (C E A C A M 、 別 名 C D 6 6 e) 、 インターロイキン 3 受容体サブユニットアルファ (I L 3 R A) 、 C D 5 分子 (C D 5) 、 U L 1 6 結合タンパク質 1 (I L B P 1) 、 V - S e t ドメイン含有 T 細胞活性化阻害因子 1 (V T C N 1 、 別 名 B 7 - H 4) 、 コンドロイチン硫酸プロテオグリカン 4 (C S P G 4) 、 シンデカン 1 (S D C 1 、 別 名 C D 1 3 8) 、 インターロイキン 1 受容体付属タンパク質 (I L 1 R A P) 、 パキウイルス I A P リピート含有 5 (B I R C 5 、 別 名 スルビピン) 、 C D 7 4 分子 (C D 7 4) 、 A 型肝炎ウイルス細胞受容体 1 (H A V C R 1 、 別 名 T I M 1) 、 S L I T および N T R K 様ファミリーメンバー 6 (S I L T R K 6) 、 C D 3 7 分子 (C D 3 7) 、 凝固因子 I I I 、 組織因子 (C D 1 4 2 、 別 名 F 3) 、 A X L 受容体チロシンキナーゼ (A X L) 、 エンドセリン受容体 B 型 (E D N R B 、 別 名 E T B R) 、 カドヘリン 6 (C D H 6) 、 線維芽細胞増殖因子受容体 3 (F G F R 3) 、 炭酸脱水酵素 6 (C A 6) 、 M U C 1 の C a n A g グリコフォーム、インテグリンサブユニットアルファ V (I T G A V) 、 奇形腫由来成長因子 1 (T D G F 1 、 別 名 C r y p t o 1) 、 S L A M ファミリーメンバー 6 (S L A M F 6 、 別 名 C D 3 5 2) 、 および N o t c h 受容体 3 (N O T C H 3) から選択される標的細胞マーカーである、前記 [1 0 3] ~ [1 0 6] のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

10

20

30

40

50

[1 0 8] (1) 前記 A F 2 断片が、F v、F a b、F a b、F a b - S H、直鎖状抗体、単ドメイン抗体、および一本鎖可変断片 (s c F v) からなる群から選択されるか、または (2) 前記 A F 1 および前記 A F 2 が (F a b ') 2 または一本鎖ジアボディとして構成されている、前記 [1 0 3] ~ [1 0 7] のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

[1 0 9] 前記 A F 2 の前記標的細胞マーカーに対する結合親和性が、インビトロ抗原結合アッセイで測定された場合、前記 A F 1 の C D 3 に対する結合親和性よりも少なくとも 1 0 倍高い、または少なくとも 1 0 0 倍高い、または少なくとも 1 0 0 0 倍高い、前記 [1 0 3] ~ [1 0 8] のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

[1 1 0] 先行態様のいずれか 1 項に記載のポリペプチドと、1 つ以上の薬学的に好適な賦形剤と、を含む、医薬組成物。

[1 1 1] 前記医薬組成物が、皮内、皮下、静脈内、動脈内、腹腔内、腹腔内、髄腔内、または筋肉内投与用に製剤化される、前記 [1 1 0] に記載の医薬組成物。

[1 1 2] 前記医薬組成物が液体形態または凍結形態である、前記 [1 1 1] に記載の医薬組成物。

[1 1 3] 前記医薬組成物が単回注射用のプレフィルドシリンジ中にある、前記 [1 1 0] ~ [1 1 2] のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

[1 1 4] 前記医薬組成物が投与前に再構成される凍結乾燥粉末として製剤化される、前記 [1 1 0] に記載の医薬組成物。

[1 1 5] 対象における疾患を治療するための薬剤の調製における、前記 [1] ~ [1 0 9] のいずれか 1 項に記載のポリペプチドの使用。

[1 1 6] 前記疾患が、がん腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B 細胞リンパ腫、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、T 細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、マンツル細胞リンパ腫、芽細胞腫、乳がん、結腸がん、前立腺がん、頭頸部がん、いかなる形態の皮膚がん、メラノーマ、尿生殖路がん、卵巣がん、悪性腹水を伴う卵巣がん、膈がん、外陰がん、ユーイング肉腫、腹膜がん腫症、子宮漿液がん、副甲状腺がん、子宮内膜がん、子宮頸がん、結腸直腸がん、悪性腹水を伴う上皮腹腔内悪性腫瘍、子宮がん、腹膜中皮腫、腎

臓がん、肺がん、喉頭がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、胃がん (g a s t r i c c a n c e r)、食道がん、胃がん (s t o m a c h c a n c e r)、小腸がん、肝臓がん、肝細胞がん、網膜芽細胞腫、肝芽腫、脂肪肉腫、膵臓がん、胆嚢がん、精巣がん、胆管がん、骨がん、唾液腺がん、甲状腺がん、頭蓋咽頭腫、カルチノイド腫瘍、上皮がん、男化腫瘍、腺がん、いかなる起源の肉腫、原発性血液悪性腫瘍 (急性もしくは慢性リンパ球性白血病、急性もしくは慢性骨髄性白血病、B細胞由来慢性リンパ性白血病、ヘアリー細胞白血病、骨髄増殖性新生物障害、または骨髄異形成障害を含む)、重症筋無力症、バセドウ病、カボジ肉腫、神経芽細胞腫、橋本甲状腺炎、ウィルムス腫瘍、またはグッドパスチャー症候群からなる群から選択される、前記〔115〕に記載の使用。

〔117〕対象における疾患を治療する方法であって、それを必要とする前記対象に、前記〔110〕～〔114〕のいずれか1項に記載の医薬組成物の1回以上の治療有効用量を投与することを含む、方法。

10

〔118〕前記疾患が、がん腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B細胞リンパ腫、T細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、芽細胞腫、乳がん、結腸がん、前立腺がん、頭頸部がん、いかなる形態の皮膚がん、メラノーマ、尿生殖路がん、卵巣がん、悪性腹水を伴う卵巣がん、腹膜がん腫症、子宮漿液がん、子宮内膜がん、子宮頸がん、結腸直腸がん、悪性腹水を伴う上皮腹腔内悪性腫瘍、子宮がん、腹膜中皮腫、腎臓がん、肺がん、喉頭がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、胃がん (g a s t r i c c a n c e r)、食道がん、胃がん (s t o m a c h c a n c e r)、小腸がん、肝臓がん、肝細胞がん、肝芽腫、脂肪肉腫、膵臓がん、胆嚢がん、胆管がん、唾液腺がん、甲状腺がん、上皮がん、腺がん、いかなる起源の肉腫、原発性血液悪性腫瘍 (急性もしくは慢性リンパ球性白血病、急性もしくは慢性骨髄性白血病、骨髄増殖性新生物障害、または骨髄異形成障害を含む)、重症筋無力症、バセドウ病、橋本甲状腺炎、またはグッドパスチャー症候群からなる群から選択される、前記〔117〕に記載の方法。

20

〔119〕前記医薬組成物が、週2回、週1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、または月1回投与される1回以上の治療有効用量として前記対象に投与される、前記〔117〕または前記〔118〕に記載の方法。

〔120〕前記医薬組成物が、少なくとも2週間、または少なくとも1ヶ月、または少なくとも2ヶ月、または少なくとも3ヶ月、または少なくとも4ヶ月、または少なくとも5ヶ月、または少なくとも6ヶ月の期間にわたって1回以上の治療有効用量として前記対象に投与される、前記〔117〕～〔119〕のいずれか1項に記載の方法。

30

〔121〕前記用量が、皮内、皮下、静脈内、動脈内、腹内、腹腔内、髄腔内、または筋肉内投与される、前記〔117〕～〔120〕のいずれか1項に記載の方法。

〔122〕前記対象が、マウス、ラット、サル、およびヒトからなる群から選択される、前記〔117〕～〔121〕のいずれか1項に記載の方法。

〔123〕単離された核酸であって、(a) 前記〔1〕～〔109〕のいずれか1項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、または(b) (a) の前記ポリヌクレオチドの相補体を含む、単離された核酸。

〔124〕前記〔123〕に記載のポリヌクレオチド配列と、前記ポリヌクレオチド配列に作動可能に連結された組換え調節配列と、を含む、発現ベクター。

40

〔125〕前記〔124〕に記載の発現ベクターを含む、単離された宿主細胞。

〔126〕前記宿主細胞が原核生物である、前記〔126〕に記載の宿主細胞。

〔127〕前記宿主細胞が E . c o l i である、前記〔125〕または前記〔126〕に記載の宿主細胞。

【手続補正2】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

50

【請求項 1】

抗原結合断片を含むポリペプチドであって、
 前記抗原結合断片が、軽鎖相補性決定領域（CDR-L）、重鎖相補性決定領域（CDR-H）、軽鎖フレームワーク領域（FR-L）、および重鎖フレームワーク領域（FR-H）を含み、
 前記抗原結合断片が、分化抗原群 3（cluster of differentiation 3、CD3）T細胞受容体に特異的に結合し、
 前記抗原結合断片が、配列番号 28 のアミノ酸配列と少なくとも 90% の同一性を有する可変重鎖（VH）アミノ酸配列を含み、
 前記抗原結合断片が、（i）配列番号 27 のアミノ酸配列と少なくとも 99% の同一性または（ii）配列番号 27 のアミノ酸配列と少なくとも 90% の同一性を有する可変軽鎖（VL）アミノ酸配列を含み、
 前記 VL が、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む CDR-L1、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む CDR-L2、および配列番号 6 のアミノ酸配列を含む CDR-L3 を含む、ポリペプチド。

10

【請求項 2】

前記抗原結合断片が、
 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む CDR-H1、
 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む CDR-H2、
 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む CDR-H3、
 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む CDR-L1、
 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む CDR-L2、および
 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む CDR-L3 を含む、請求項 1 に記載のポリペプチド。

20

【請求項 3】

抗原結合断片を含むポリペプチドであって、
 前記抗原結合断片が、軽鎖相補性決定領域（CDR-L）、重鎖相補性決定領域（CDR-H）、軽鎖フレームワーク領域（FR-L）、および重鎖フレームワーク領域（FR-H）を含み、
 前記抗原結合断片が、分化抗原群 3（cluster of differentiation 3、CD3）T細胞受容体に特異的に結合し、
 前記抗原結合断片が、CDR-H1、CDR-H2、および CDR-H3 を含み、
 前記 CDR-H1 が、配列番号 8 のアミノ酸配列を含み、
 前記 CDR-H2 が、配列番号 9 のアミノ酸配列を含み、
 前記 CDR-H3 が、配列番号 10 のアミノ酸配列を含み、
 前記抗原結合断片が、CDR-L1、CDR-L2、および CDR-L3 を含み、
 前記 CDR-L1 が、配列番号 1 のアミノ酸配列を含み、
 前記 CDR-L2 が、配列番号 4 のアミノ酸配列を含み、
 前記 CDR-L3 が、配列番号 6 のアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

30

【請求項 4】

前記抗原結合断片が、インビトロアッセイによって証明される、より高い熱安定性を呈し、
 （i）配列番号 41 に示される配列からなる抗原結合断片の融解温度（ T_m ）と比較して高い T_m 、または
 （ii）前記抗 CD3 抗原結合断片を抗 CD3 二重特異性抗体に組み込むと、前記二重特異性抗体が対照二重特異性抗体と比較して高い T_m を呈し、前記抗 CD3 二重特異性抗体が、前記抗 CD3 結合断片と、CD3 以外の抗原に結合する参照抗原結合断片とを含み、前記対照二重特異性抗原結合断片が、配列番号 41 および前記参照抗原結合断片からなる、請求項 1～3 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

40

【請求項 5】

前記抗原結合断片が、配列番号 28 の VH アミノ酸配列を含む、請求項 1～4 のいずれ

50

か一項に記載のポリペプチド。

【請求項 6】

前記抗原結合断片が、配列番号 27 の可変軽鎖 (V L) アミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 7】

前記抗原結合断片が、配列番号 28 のアミノ酸配列を含む V H 配列、および配列番号 27 のアミノ酸配列を含む V L 配列を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 8】

前記抗原結合断片が、C D 3 の C D 3 イプシロン、C D 3 デルタ、C D 3 ガンマ、C D 3 ゼータ、C D 3 アルファ、および C D 3 ベータイプシロンユニットから選択される C D 3 複合体サブユニットに結合する、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 9】

前記抗原結合断片が 6 . 6 以下の等電点 (p I) を呈する、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 10】

前記抗原結合断片が、ヒトまたはカニクイザル C D 3 抗原を含むインビトロ抗原結合アッセイで決定された場合、約 10 n M ~ 約 400 n M の解離定数 (K_d) でヒトまたはカニクイザル C D 3 に特異的に結合する、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 11】

前記抗原結合断片が、インビトロ抗原結合アッセイで決定された場合、約 10 n M 未満の解離定数 (K_d) でヒトまたはカニクイザル C D 3 に特異的に結合する、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 12】

前記抗原結合断片が、インビトロ抗原結合アッセイでそれぞれの解離定数 (K_d) によって決定された場合、配列番号 41 のアミノ酸配列からなる抗原結合断片の結合親和性と比較して少なくとも 2 倍弱い C D 3 に対する結合親和性を呈する、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 13】

第 1 の放出セグメントペプチド (R S 1) をさらに含み、
前記 R S 1 が、レグマイン、M M P - 2、M M P - 7、M M P - 9、M M P - 11、M M P - 14、u P A、およびマトリプターゼからなる群から選択される哺乳類プロテアーゼによる切断のための基質であり、
前記 R S 1 が、配列番号 42 ~ 660 のいずれか一つから選択される配列と少なくとも 90 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 14】

第 1 の伸長した組換えポリペプチド (X T E N 1) をさらに含み、
前記 X T E N 1 が、
それが、少なくとも約 100 個のアミノ酸を有し、
前記 X T E N 1 配列のアミノ酸残基の少なくとも 90 % が、グリシン (G)、アラニン (A)、セリン (S)、トレオニン (T)、グルタメート (E)、およびプロリン (P) から選択され、
G、A、S、T、E、および P から選択される少なくとも 4 ~ 6 個の異なるアミノ酸を有し、
任意に、
配列番号 661 ~ 664 のアミノ酸配列の少なくとも 3 つを含み、および / または
配列番号 665 ~ 718 または 922 ~ 927 のいずれか一つから選択される配列と少なくとも約 90 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記

10

20

30

40

50

載のポリペプチド。

【請求項 15】

前記抗原結合断片が、キメラまたはヒト化抗原結合断片であり、
任意に、前記抗原結合断片が、Fv、Fab、Fab、Fab-SH、直鎖状抗体、
単ドメイン抗体(s dAb)、および一本鎖可変断片(scFv)からなる群から選
択される、請求項 1～14 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 16】

融合タンパク質として発現され、
前記融合タンパク質が、非切断状態で、N末端からC末端に、AF1-RS1-XTE
N1またはXTEN1-RS1-AF1の構造配置を有し、ここで、AF1が第1の抗原
結合断片である、請求項 1～15 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

10

【請求項 17】

CD3以外の標的細胞マーカーに特異的に結合する第2の抗原結合断片(AF2)をさ
らに含む、請求項 1～16 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 18】

前記AF2が可動性ペプチドリンカーによって前記AF1に融合されており、
前記可動性ペプチドリンカーが、グリシン、セリン、およびプロリンからなる群から選
択される2つまたは3つのタイプのアミノ酸を含み、
任意に、

(1)前記AF2断片が、Fv、Fab、Fab、Fab-SH、直鎖状抗体、お
よび一本鎖可変断片(scFv)からなる群から選択されるか、または(2)前記AF1
および前記AF2が(Fab')2または一本鎖ジアボディとして構成されている、請求
項 1～17 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

20

【請求項 19】

前記標的細胞マーカーが腫瘍細胞抗原であり、
前記腫瘍細胞抗原が、

1-40- -アミロイド、4-1BB、5AC、5T4、707-AP、Aキナーゼア
ンカータンパク質4(AKAP-4)、アクチビン受容体2B型(ACVR2B)、アク
チビン受容体様キナーゼ1(ALK1)、腺がん抗原、アディポフィリン、アドレナリン
受容体3(ADRB3)、AGS-22M6、葉酸受容体、 -フェトプロテイン(
AFP)、AIM-2、未分化リンパ腫キナーゼ(ALK)、アンドロゲン受容体、アン
ジオポエチン2、アンジオポエチン3、アンジオポエチン結合細胞表面受容体2(Tie
2)、炭疽毒素、AOC3(VAP-1)、B細胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3(
CD276)、Bacillus anthracis炭疽、B細胞活性化因子(BAFF)
F)、Bリンパ腫細胞、骨髄間質細胞抗原2(BST2)、インプリント部位調節因子の
兄弟(BORIS)、C242抗原、C5、CA-125、がん抗原125(CA-12
5またはMUC16)、がん/精巣抗原1(NY-ESO-1)、がん/精巣抗原2(L
AGE-1a)、炭酸脱水酵素9(CA-IX)、がん胎児性抗原(CEA)、心臓ミオ
シン、CCCTC結合因子(CTCF)、CCL11(エオタキシン-1)、CCR4、
CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CD11、CD123、CD12
5、CD140a、CD147(バイシジン)、CD15、CD152、CD154(C
D40L)、CD171、CD179a、CD18、CD19、CD2、CD20、CD
200、CD22、CD221、CD23(IgE受容体)、CD24、CD25(IL
-2受容体の鎖)、CD27、CD274、CD28、CD3、CD3、CD30
、CD300分子様ファミリーメンバーf(CD300LF)、CD319(SLAMF
7)、CD33、CD37、CD38、CD4、CD40、CD40リガンド、CD41
、CD44v7、CD44v8、CD44v6、CD5、CD51、CD52、C
D56、CD6、CD70、CD72、CD74、CD79A、CD79B、CD80、
CD97、CEA関連抗原、CFD、ch4D5、染色体Xオープンリーディングフレ
ーム61(CXORF61)、クローディン18.2(CLDN18.2)、クローディン

30

40

50

6 (CLDN6)、Clostridium difficile、クランピング因子A、CLCA2、コロニー刺激因子1受容体(CSF1R)、CSF2、CTLA-4、C型レクチンドメインファミリー12メンバーA(CLEC12A)、C型レクチン様分子-1(CLL-1またはCLECL1)、C-X-Cケモカイン受容体4型、サイクリンB1、シトクロムP4501B1(CYP1B1)、cyp-B、サイトメガロウイルス、サイトメガロウイルス糖タンパク質B、ダビガトラン、DLL4、DPP4、DR5、E.coli志賀毒素1型、E.coli志賀毒素2型、エクトADPリボシルトランスフェラーゼ4(ART4)、EGF様モジュール含有ムチン様ホルモン受容体様2(EMR2)、EGF様ドメインマルチプル7(EGFL7)、伸長因子2変異型(ELF2M)、内毒素、エフリンA2、エフリンB2、エフリンA型受容体2、上皮成長因子受容体(EGFR)、上皮成長因子受容体バリエーションII(EGFRvII)、エピシアリン、上皮細胞接着分子(EpCAM)、上皮糖タンパク質2(EGP-2)、上皮糖タンパク質40(EGP-40)、ERBB2、ERBB3、ERBB4、ERG(膜貫通プロテアーゼセリン2(TMPPRSS2)ETS融合遺伝子)、Escherichia coli、染色体12pに位置するETS転座バリエーション遺伝子6(ETV6-AML)、呼吸器合胞体ウイルスのFタンパク質、FAP、IGA受容体のFc断片(FCARまたはCD89)、Fc受容体様5(FcRL5)、胎児アセチルコリン受容体、フィブリンII鎖、線維芽細胞活性化タンパク質(FAP)、フィブロネクチン細胞外ドメイン-B、FGF-5、Fms様チロシンキナーゼ3(FLT3)、葉酸結合タンパク質(FBP)、葉酸ヒドロラーゼ、葉酸受容体1、葉酸受容体、葉酸受容体、Fos関連抗原1、フリズルド受容体、フコシルGM1、G250、Gタンパク質共役受容体20(GPR20)、Gタンパク質共役受容体クラスCグループ5メンバーD(GPRC5D)、ガングリオシドG2(GD2)、GD3ガングリオシド、糖タンパク質100(gp100)、グリピカン-3(GPC3)、GMCSF受容体鎖、GPNMB、GnT-V、成長分化因子8、GUCY2C、熱ショックタンパク質70-2変異型(mut hsp70-2)、赤血球凝集素、A型肝炎ウイルス細胞受容体1(HAVCR1)、B型肝炎表面抗原、B型肝炎ウイルス、HER1、HER2/neu、HER3、globo Hグリコセラミド(GloboH)の六糖タンパク質、HGF、HHGFR、高分子量メラノーマ関連抗原(HMW-MAA)、ヒストン複合体、HIV-1、HLA-DR、HNGF、Hsp90、HST-2(FGF6)、ヒトパピローマウイルスE6(HPV E6)、ヒトパピローマウイルスE7(HPV E7)、ヒト分散因子受容体キナーゼ、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素(hTERT)、ヒトTNF、ICAM-1(CD54)、iCE、IFN-、IFN-、IFN-、IGE、IGE Fc領域、IGF-1、IGF-1受容体、IGHE、IL-12、IL-13、IL-17、IL-17A、IL-17F、IL-1、IL-20、IL-22、IL-23、IL-31、IL-31RA、IL-4、IL-5、IL-6、IL-6受容体、IL-9、免疫グロブリンラムダ様ポリペプチド1(IGLL1)、A型インフルエンザ赤血球凝集素、インスリン様成長因子1受容体(IGF-I受容体)、インスリン様成長因子2(ILGF2)、インテグリン47、インテグリン2、インテグリン2、インテグリン4、インテグリン51、インテグリン77、インテグリンIIb3、インテグリンv3、インターフェロン/受容体、インターフェロン誘導タンパク質、インターロイキン11受容体(IL-11R)、インターロイキン13受容体サブユニット-2(IL-13Ra2またはCD213A2)、腸カルボキシルエステラーゼ、キナーゼドメイン領域(KDR)、KIR2D、KIT(CD117)、L1-細胞接着分子(L1-CAM)、レグマイン、白血球免疫グロブリン様受容体サブファミリーAメンバー2(LILRA2)、白血球関連免疫グロブリン様受容体1(LAIR1)、リンパ球抗原6(Ly-6)、ルイスY抗原、LFA-1(CD11a)、LINGO-1、リボタイコ酸、LOXL2、L-セレクチン(CD62L)、リンパ球抗原6複合体遺伝子座K9(LY6K)、リンパ球抗原75(LY75)、リンパ球特異的タンパク質チロシンキナーゼ(LCK)、リンホトキシン-(LT-)または腫瘍壊死因子-(TNF-)

10

20

30

40

50

)、リソソーム関連膜タンパク質1 (LAMP1)、マクロファージ遊走阻止因子 (MIF または MMIF)、M-CSF、乳腺分化抗原 (NY-BR-1)、MCP-1、メラノーマがん精巣抗原-1 (MAD-CT-1)、メラノーマがん精巣抗原-2 (MAD-CT-2)、メラノーマアポトーシス阻害因子 (ML-IAP)、メラノーマ関連抗原1 (MAGE-A1)、メソテリン、細胞表面結合ムチン1 (MUC1)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16、ムチン Can Ag、ミエリン関連糖タンパク質、ミオスタチン、N-アセチルグルコサミニル-トランスフェラーゼV (NA17)、NCA-90 (顆粒球抗原)、ネクチン-4、神経成長因子 (NGF)、神経アポトーシス調節プロテインナーゼ1、神経細胞接着分子 (NCAM)、神経突起伸長阻害因子 (例えば、NOGO-A、NOGO-B、NOGO-C)、ニューロピリン-1 (NRP1)、N-グリコリルノイラミン酸、NKG2D、Notch 受容体、o-アセチル-GD2 ガングリオシド (OAcGD2)、嗅覚受容体 51E2 (OR51E2)、腫瘍胎児抗原 (h5T4)、切断点クラスター領域 (BCR) および Abelson マウス白血病ウイルスがん遺伝子ホモログ1 (Ab1) (bcr-ab1) からなるがん遺伝子融合タンパク質、アナウサギ、OX-40、oxLDL、p53 変異体、ペアードボックスタンパク質 Pax-3 (PAX3)、ペアードボックスタンパク質 Pax-5 (PAX5)、パネキシン3 (PANX3)、P-カドヘリン、リン酸ナトリウム共輸送体、ホスファチジルセリン、胎盤特異的1 (PLAC1)、血小板由来成長因子受容体 (PDGFR)、血小板由来成長因子受容体 (PDGFR)、ポリシアル酸、プロアクトシン結合タンパク質 sp32 (OY-TES1)、プログラム細胞死タンパク質1 (PD-1)、プログラム死-リガンド1 (PD-L1)、前駆タンパク質転換酵素サブチリシン/ケキシン9型 (PCSK9)、プロステラーゼ、前立腺がん腫瘍抗原-1 (PCTA-1 または ガレクチン8)、T細胞認識メラノーマ抗原1 (MelanA または MART1)、P15、P53、PRAME、前立腺幹細胞抗原 (PSCA)、前立腺特異的膜抗原 (PSMA)、前立腺酸性フォスファターゼ (PAP)、前立腺がん細胞、プロステイン、プロテアーゼセリン21 (テスチンまたは PRSS21)、プロテアソーム (プロソーム、マクロパイン) サブユニット 型9 (LMP2)、Pseudomonas aeruginosa、狂犬病ウイルス糖タンパク質、RAGE、Ras ホモログファミリーメンバーC (RhoC)、核因子カッパ-B リガンド受容体活性化因子 (RANKL)、高度糖化最終産物受容体 (RAGE-1)、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1 (ROR1)、腎臓ユビキタス1 (RU1)、腎臓ユビキタス2 (RU2)、呼吸器合胞体ウイルス、Rh 血液型D 抗原、Rh 因子、肉腫転座切断点、スクレロスチン (SOST)、セレクチンP、シアリルルイス接着分子 (sLe)、精子タンパク質17 (SPA17)、スフィンゴシン-1-リン酸、T細胞認識扁平上皮がん抗原1、2、および3 (SART1、SART2、および SART3)、発生段階特異的胚抗原-4 (SSEA-4)、Staphylococcus aureus、STEAP1、シンデカン1 (SDC1) + A314、SOX10、スルビピン、スルビピン-2B、滑膜肉腫、X 切断点2 (SSX2)、T細胞受容体、TCR 代替リーディングフレームタンパク質 (TARP)、テロメラゼ、TEM1、テネイシンC、TGF- (例えば、TGF-1、TGF-2、TGF-3)、甲状腺刺激ホルモン受容体 (TSHR)、組織因子経路阻害因子 (TFPI)、Tn 抗原 ((Tn Ag) または (GalNAc-Ser/Thr))、TNF 受容体ファミリーメンバーB細胞成熟 (BCMA)、TNF-、TRAIL-R1、TRAIL-R2、TRG、トランスグルタミナーゼ5 (TGS5)、腫瘍抗原CTAA16、88、腫瘍内皮マーカー-1 (TEM1/CD248)、腫瘍内皮マーカー7 関連 (TEM7R)、腫瘍タンパク質 p53 (p53)、MUC1 の腫瘍特異的グリコシル化、腫瘍関連カルシウムシグナル伝達物質2 (TROP-2)、腫瘍関連糖タンパク質72 (TAG72)、腫瘍関連糖タンパク質72 (TAG-72) + A327、TWEAK 受容体、チロシナーゼ、チロシナーゼ関連タンパク質1 (TYRP1 または糖タンパク質75)、チロシナーゼ関連タンパク質2 (TYRP2)、ウロプラキン2 (UPK2)、血管内皮成長因子 (例えば、VE

10

20

30

40

50

G F - A、V E G F - B、V E G F - C、V E G F - D、P I G F)、血管内皮成長因子受容体 1 (V E G F R 1)、血管内皮成長因子受容体 2 (V E G F R 2)、ビメンチン、v - m y c トリ骨髄球腫症ウイルスがん遺伝子神経芽細胞腫由来ホモログ (M Y C N)、フォン・ヴィレブランド因子 (V W F)、ウィルムス腫瘍タンパク質 (W T 1)、X 抗原ファミリーメンバー 1 A (X A G E 1)、 - アミロイド、 - 軽鎖、線維芽細胞増殖因子受容体 2 (F G F R 2)、L I V - 1 タンパク質エストロゲン調節 (L I V 1、別名 S L C 3 9 A 6)、神経栄養因子受容体チロシンキナーゼ 1 (N T R K 1、別名 T R K)、R e t がん原遺伝子 (R E T)、B 細胞成熟抗原 (B C M A、別名 T N F R S F 1 7)、トランスフェリン受容体 (T F R C、別名 C D 7 1)、活性化白血球細胞接着分子 (A L C A M、別名 C D 1 6 6)、ソマトスタチン受容体 2 (S S T R 2)、K I T がん原遺伝子受容体チロシンキナーゼ (c K I T)、V - S e t 免疫調節受容体 (V S I R、別名 V I S T A)、糖タンパク質 N m b (G P N M B)、デルタ様正準 N o t c h リガンド 3 (D L L 3)、インターロイキン 3 受容体サブユニットアルファ (I L 3 R A、別名 C D 1 2 3)、リソソーム関連膜タンパク質 1 (L A M P 1)、カドヘリン 3、タイプ 1、P - カドヘリン (C D H 3)、エフリン A 4 (E F N A 4)、タンパク質チロシンキナーゼ 7 (P T K 7)、溶質キャリアファミリー 3 4 メンバー 2 (S L C 3 4 A 2、別名 N a P i - 2 b)、G C C、P L A U R ドメイン含有 3 (L Y P D 3、別名 L Y 6 または C 4 . 4 a)、細胞表面結合ムチン 1 7 (M U C 1 7)、F m s 関連受容体チロシンキナーゼ 3 (F L T 3)、N K G 2 D リガンド (例えば、U L B P 1、U L B P 2、U L B P 3、H 6 0、R a e - 1、R a e - 1、R a e - 1、R a e - 1、M I C A、M I C B、h H L A - A)、S L A M ファミリーメンバー 7 (S L A M F 7)、インターロイキン 1 3 受容体サブユニットアルファ 2 (I L 1 3 R A 2)、C 型レクチンドメインファミリー 1 2 メンバー A (C L E C 1 2 A、別名 C L L - 1)、C E A 細胞接着分子 5 (C E A C A M、別名 C D 6 6 e)、インターロイキン 3 受容体サブユニットアルファ (I L 3 R A)、C D 5 分子 (C D 5)、U L 1 6 結合タンパク質 1 (I L B P 1)、V - S e t ドメイン含有 T 細胞活性化阻害因子 1 (V T C N 1、別名 B 7 - H 4)、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン 4 (C S P G 4)、シンデカン 1 (S D C 1、別名 C D 1 3 8)、インターロイキン 1 受容体付属タンパク質 (I L 1 R A P)、バキュロウイルス I A P リピート含有 5 (B I R C 5、別名 スルビピン)、C D 7 4 分子 (C D 7 4)、A 型肝炎ウイルス細胞受容体 1 (H A V C R 1、別名 T I M 1)、S L I T および N T R K 様ファミリーメンバー 6 (S I L T R K 6)、C D 3 7 分子 (C D 3 7)、凝固因子 I I I、組織因子 (C D 1 4 2、別名 F 3)、A X L 受容体チロシンキナーゼ (A X L)、エンドセリン受容体 B 型 (E D N R B、別名 E T B R)、カドヘリン 6 (C D H 6)、線維芽細胞増殖因子受容体 3 (F G F R 3)、炭酸脱水酵素 6 (C A 6)、M U C 1 の C a n A g グリコフォーム、インテグリンサブユニットアルファ V (I T G A V)、奇形腫由来成長因子 1 (T D G F 1、別名 C r y p t o 1)、S L A M ファミリーメンバー 6 (S L A M F 6、別名 C D 3 5 2)、および N o t c h 受容体 3 (N O T C H 3) から選択される、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

10

20

30

40

50

【請求項 2 0】

第 2 の放出セグメント (R S 2) をさらに含み、

前記 R S 2 が、レグマイン、M M P - 2、M M P - 7、M M P - 9、M M P - 1 1、M M P - 1 4、u P A、およびマトリプターゼからなる群より選択される哺乳類プロテアーゼによる切断のための基質である、請求項 1 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 2 1】

前記 R S 2 が、配列番号 4 2 ~ 6 6 0 から選択される配列と少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2 0 に記載のポリペプチド。

【請求項 2 2】

第 2 の伸長した組換えポリペプチド (X T E N 2) をさらに含み、

前記 X T E N 2 が、

それが、少なくとも約 1 0 0 個のアミノ酸を有し、

その配列のアミノ酸残基の少なくとも90%が、G、A、S、T、E、およびPから選択され、かつ

それが、G、A、S、T、E、およびPから選択される少なくとも4～6個の異なるアミノ酸を有することを特徴とする、請求項20に記載のポリペプチド。

【請求項23】

前記XTEN2がアミノ酸配列を含み、

前記アミノ酸配列の少なくとも90%が、配列番号661～664のうちの少なくとも3つから選択される非重複配列を含み、

前記XTEN2が、配列番号665～718または922～926から選択される配列と少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項22に記載のポリペプチド。

10

【請求項24】

前記ポリペプチドが、N末端からC末端に、以下：XTEN1-RS1-AF2-AF1-RS2-XTEN2、XTEN1-RS1-AF1-AF2-RS2-XTEN2、XTEN2-RS2-AF2-AF1-RS1-XTEN1、XTEN2-RS2-AF1-AF2-RS1-XTEN1、XTEN2-RS2-ダイアボディ-RS1-XTEN1、またはXTEN1-RS1-ダイアボディ-RS2-XTEN2の構造配置を有し、ここで、前記ダイアボディが前記AF1および前記AF2のVLおよびVHを含み、前記AF1がCD3に特異的に結合し、前記AF2が標的細胞マーカーに特異的に結合し、XTEN1およびXTEN2が異なるアミノ酸長または配列のものである、請求項22に記載のポリペプチド。

20

【請求項25】

請求項1～24のいずれか一項に記載のポリペプチドと、1つ以上の薬学的に好適な賦形剤とを含む、医薬組成物。

【請求項26】

対象における疾患を治療するための薬剤の調製における、請求項1～24のいずれか一項に記載のポリペプチドの使用であって、

前記疾患が、がん腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、T細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、芽細胞腫、乳がん、結腸がん、前立腺がん、頭頸部がん、いかなる形態の皮膚がん、メラノーマ、尿生殖路がん、卵巣がん、悪性腹水を伴う卵巣がん、膣がん、外陰がん、ユーイング肉腫、腹膜がん腫症、子宮漿液がん、副甲状腺がん、子宮内膜がん、子宮頸がん、結腸直腸がん、悪性腹水を伴う上皮腹腔内悪性腫瘍、子宮がん、腹膜中皮腫、腎臓がん、肺がん、喉頭がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、胃がん(gastric cancer)、食道がん、胃がん(stomach cancer)、小腸がん、肝臓がん、肝細胞がん、網膜芽細胞腫、肝芽腫、脂肪肉腫、膵臓がん、胆嚢がん、精巣がん、胆管がん、骨がん、唾液腺がん、甲状腺がん、頭蓋咽頭腫、カルチノイド腫瘍、上皮がん、男化腫瘍、腺がん、いかなる起源の肉腫、原発性血液悪性腫瘍(急性もしくは慢性リンパ球性白血病、急性もしくは慢性骨髄性白血病、B細胞由来慢性リンパ性白血病、ヘアリー細胞白血病、骨髄増殖性新生物障害、または骨髄異形成障害を含む)、重症筋無力症、バセドウ病、カボジ肉腫、神経芽細胞腫、橋本甲状腺炎、ウィルムス腫瘍、またはグッドパスチャー症候群からなる群から選択される、使用。

30

40

【請求項27】

単離された核酸であって、

(a) 請求項1～24のいずれか1項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、または

(b) (a)の前記ポリヌクレオチドの相補体を含む、単離された核酸。

【請求項28】

請求項27に記載のポリヌクレオチド配列と、前記ポリヌクレオチド配列に作動可能に連結された組換え調節配列とを含む、発現ベクター。

50

【請求項 29】

請求項 28 に記載の発現ベクターを含む、単離された宿主細胞。

10

20

30

40

50