

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2020-511501

(P2020-511501A)

(43) 公表日 令和2年4月16日 (2020.4.16)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 16/30 (2006.01)	C 0 7 K 16/30 Z N A	4 C 0 7 6
A 6 1 K 47/60 (2017.01)	A 6 1 K 47/60	4 C 0 8 5
A 6 1 K 47/64 (2017.01)	A 6 1 K 47/64	4 H 0 4 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 K 39/39 (2006.01)	A 6 1 K 39/39	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 119 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2019-551928 (P2019-551928)	(71) 出願人	519211672
(86) (22) 出願日	平成29年12月13日 (2017.12.13)		ボルト バイオセラピューティクス、イン
(85) 翻訳文提出日	令和1年8月2日 (2019.8.2)		コーポレーテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2017/066220		アメリカ合衆国、94063 カリフォル
(87) 国際公開番号	W02018/112108		ニア州、レッドウッド シティ、ガルヴ
(87) 国際公開日	平成30年6月21日 (2018.6.21)		ェストン ドライヴ 640
(31) 優先権主張番号	62/433, 742	(74) 代理人	100080791
(32) 優先日	平成28年12月13日 (2016.12.13)		弁理士 高島 一
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100136629
			弁理士 鎌田 光宣
		(74) 代理人	100125070
			弁理士 土井 京子
		(74) 代理人	100121212
			弁理士 田村 弥栄子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗体アジュバント複合体

(57) 【要約】

本発明は、抗原結合ドメイン及びFcドメインを含む抗体構築物と、アジュバント部分と、リンカーと、を含む免疫複合体を提供し、各アジュバント部分は、エチレングリコール基又はグリシン残基を含むリンカーを介して抗体に共有結合する。本発明の免疫複合体を用いて癌を治療するための方法も記載される。

【選択図】 図1

CL264 - Conjugation to Terminal Carboxylic Acid

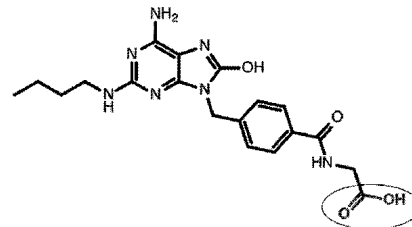


FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) (i) 抗原結合ドメイン及び (i i) F c ドメインを含む抗体構築物と、
 (b) アジュバント部分と、
 (c) エチレングリコール基又はグリシン残基を含むリンカーと、を含む免疫複合体であって、

各アジュバント部分が、前記リンカーを介して前記抗体構築物に共有結合している、免疫複合体。

【請求項 2】

前記抗体構築物が、標的結合ドメインを更に含む、請求項 1 に記載の免疫複合体。

10

【請求項 3】

前記抗体構築物が抗体である、請求項 1 に記載の免疫複合体。

【請求項 4】

前記抗原結合ドメインが、癌細胞の抗原に結合する、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の免疫複合体。

【請求項 5】

前記抗原結合ドメインが、C C R 8、C D H 1、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 9、C D 3 0、C D 3 8、C D 4 0、C D 4 7、E p C A M、M U C 1、M U C 1 6、E G F R、V E G F、H E R 2、S L A M F 7、P D G F R a、及び g p 7 5 からなる群から選択される抗原に結合する、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の免疫複合体。

20

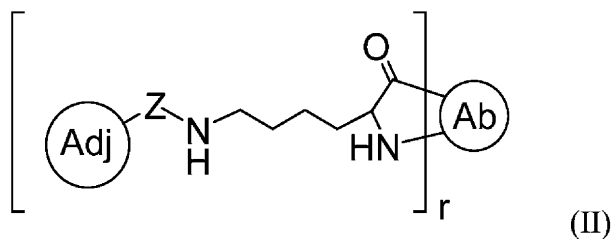
【請求項 6】

前記抗体が I g G 1 抗体である、請求項 3 ～ 5 のいずれか一項に記載の免疫複合体。

【請求項 7】

前記免疫複合体が、式 I I :

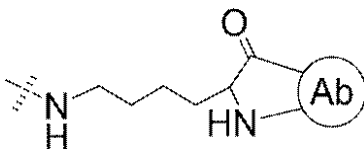
【化 1】



30

(式中、

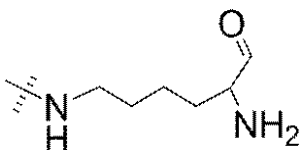
【化 2】



40

は、抗体のリジン残基を表す

【化 3】



残基を有する前記抗体であり、式中、

【化 4】

「」

は、Z に対する結合点を表し、

A d j はアジュバントであり、

下付き文字 r は、1 ～ 10 の整数であり、

Z は、エチレングリコール基又はグリシン残基を有する二価連結部分である）による構造を有する、請求項 3 ～ 6 のいずれか一項に記載の免疫複合体。

【請求項 8】

Z が、ポリ（エチレングリコール）基を含む、請求項 7 に記載の免疫複合体。

【請求項 9】

Z がグリシン残基を含む、請求項 7 又は 8 に記載の免疫複合体。

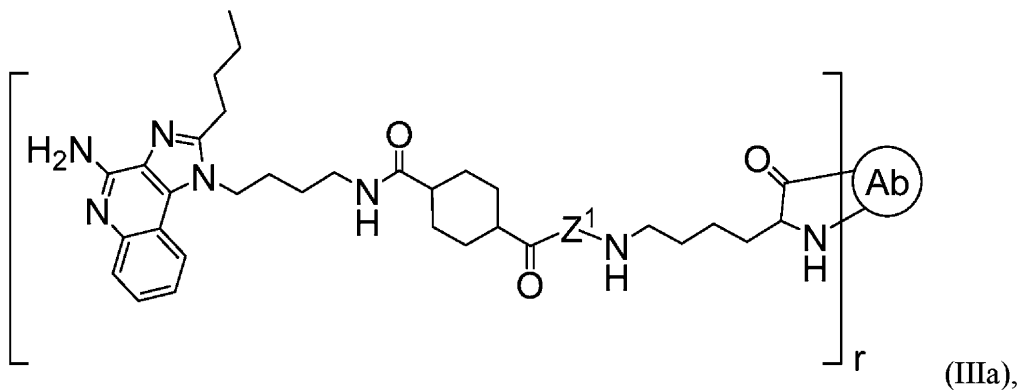
【請求項 10】

Z が、二価シクロヘキシレン基を更に含む、請求項 7 ～ 9 のいずれか一項に記載の免疫複合体。

【請求項 11】

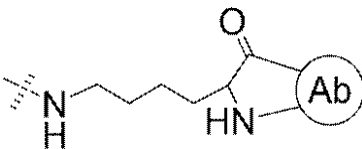
前記免疫複合体が、式 I I I a：

【化 5】



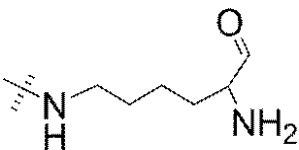
（式中、

【化 6】



は、抗体のリジン残基を表す

【化 7】



残基を有する前記抗体であり、

【化 8】

「」

10

20

30

40

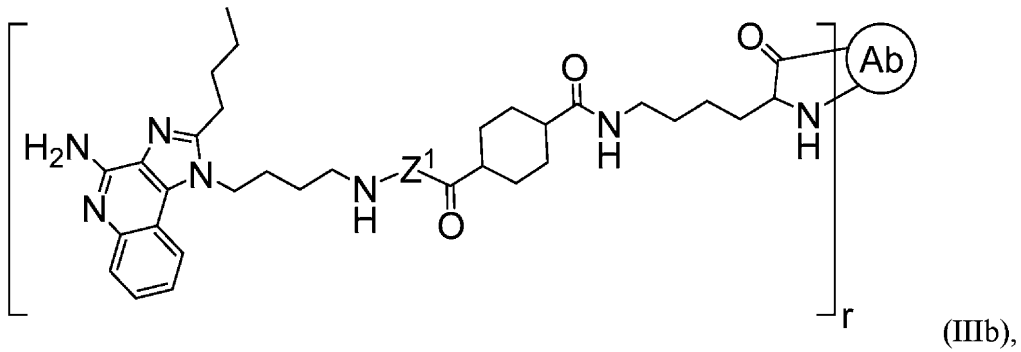
50

は、 Z^1 に対する結合点を表し、 Z^1 は、少なくとも 1 つのエチレングリコール基又は少なくとも 1 つのグリシン残基を含む) による構造を有する、請求項 10 に記載の免疫複合体。

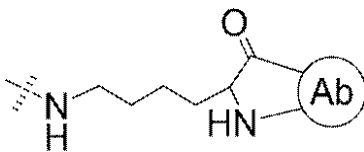
【請求項 12】

前記免疫複合体が、式 III b :

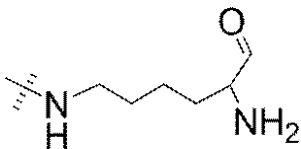
【化 9】



(式中、
【化 10】



は、抗体のリジン残基を表す
【化 11】



残基を有する前記抗体であり、
【化 12】

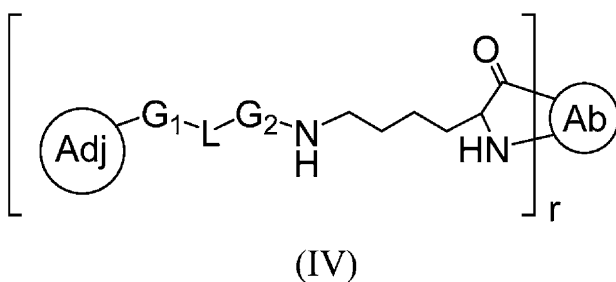


は、 Z^1 に対する結合点を表し、 Z^1 は、少なくとも 1 つのエチレングリコール基又は少なくとも 1 つのグリシン残基を含む) による構造を有する、請求項 10 に記載の免疫複合体。

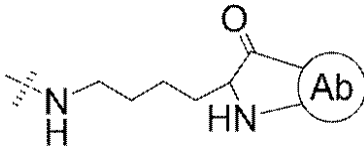
【請求項 13】

前記免疫複合体が、式 IV :

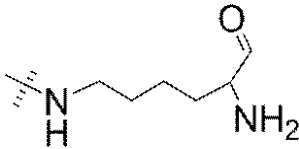
【化 13】



(式中、
【化 1 4】



は、抗体のリジン残基を表す
【化 1 5】



残基を有する前記抗体であり、
【化 1 6】



は、 G_2 に対する結合点を表し、Adj はアジュバントであり、 G_1 は、 CH_2 、 $C=O$ 、又は結合であり、 G_2 は、 CH_2 、 $C=O$ 、又は結合であり、L はリンカーであり、下付き文字 r は 1 ～ 10 の整数である) による構造を有する、請求項 7 ～ 9 のいずれか一項に記載の免疫複合体又はその薬学的に許容される塩。

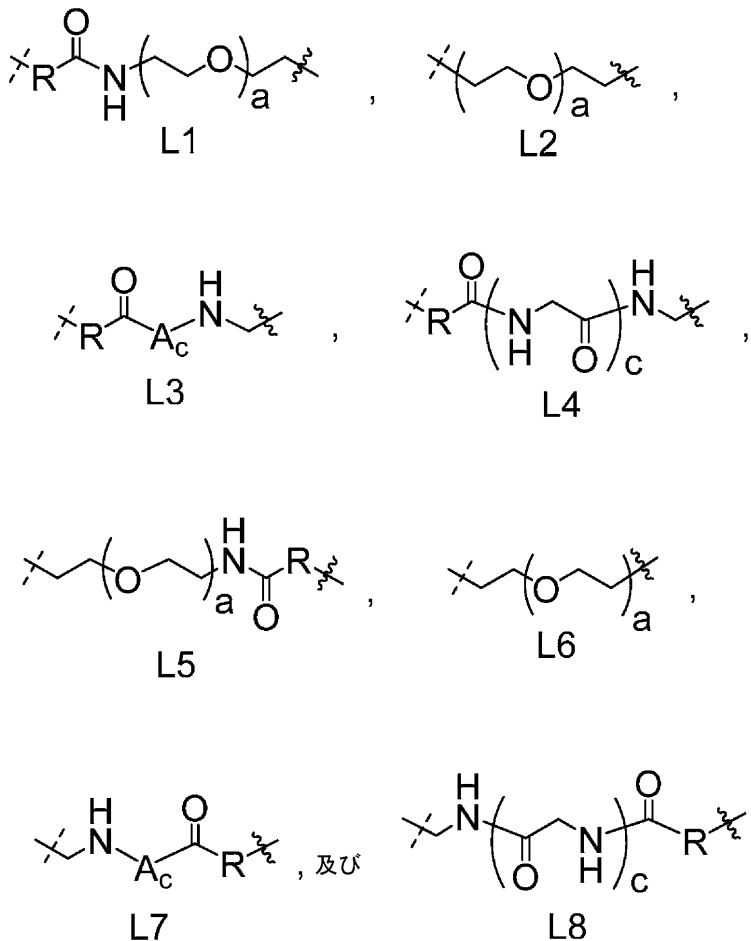
【請求項 1 4】

L が、以下：

10

20

【化 1 7】



10

20

30

(式中、Rは、任意に存在し、1～8個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、aは、1～40の整数であり、各Aは、独立して、任意のアミノ酸から選択され、下付き文字cは、1～25の整数であり、破線

【化 1 8】

(「」)

は、G₁に対する結合点を表し、波線

【化 1 9】

(「」)

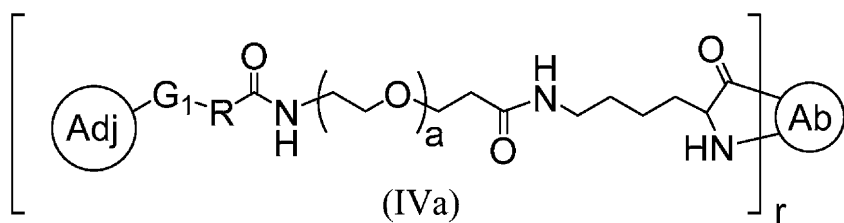
40

は、G₂に対する結合点を表す) からなる群から選択される、請求項13に記載の免疫複合体。

【請求項 1 5】

前記免疫複合体が、式 I V a :

【化 2 0】



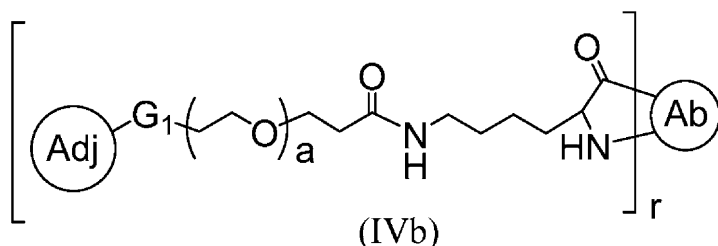
(式中、A b は、本明細書に定義されたとおりであり、A d j はアジュバントであり、
G₁ は、C H₂、C = O、又は結合であり、R は、任意に存在し、1 ～ 8 個の炭素単位を
含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアル
キル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、下付き文字 a は、1 ～ 4 0 の整数であ
り、下付き文字 r は、1 ～ 1 0 の整数である) による構造を有する、請求項 1 3 又は 1 4
に記載の免疫複合体又はその薬学的に許容される塩。

10

【請求項 1 6】

前記免疫複合体が、式 I V b :

【化 2 1】



20

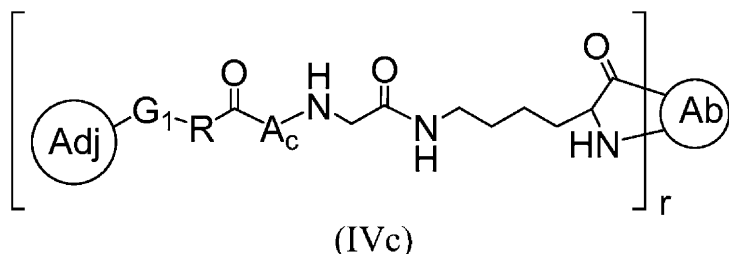
(式中、A b は、本明細書に定義されたとおりであり、A d j はアジュバントであり、
G₁ は、C H₂、C = O、又は結合であり、下付き文字 a は、1 ～ 4 0 の整数であり、下
付き文字 r は、1 ～ 1 0 の整数である) による構造を有する、請求項 1 3 又は 1 4 に記載
の免疫複合体又はその薬学的に許容される塩。

30

【請求項 1 7】

前記免疫複合体が、式 I V c :

【化 2 2】



40

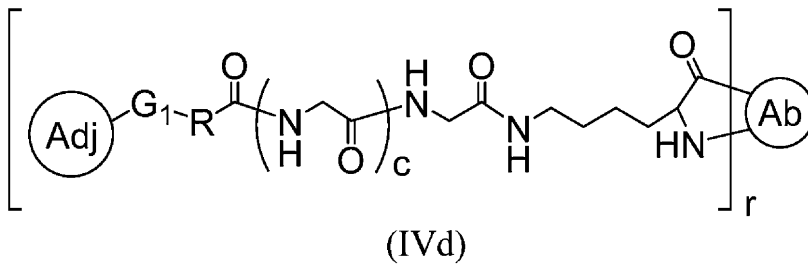
(式中、A b は、本明細書に定義されたとおりであり、A d j はアジュバントであり、
G₁ は、C H₂、C = O、又は結合であり、R は、任意に存在し、1 ～ 8 個の炭素単位を
含む直鎖又は分枝鎖、環状又は直線状、飽和又は不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリ
ール、又はヘテロアリール鎖であり、各 A は、独立して、任意のアミノ酸から選択され、
下付き文字 c は、1 ～ 2 5 の整数であり、下付き文字 r は、1 ～ 1 0 の整数である) によ
る構造を有する、請求項 1 3 又は 1 4 に記載の免疫複合体又はその薬学的に許容される塩

【請求項 1 8】

50

前記免疫複合体が、式 I V d :

【化 2 3】



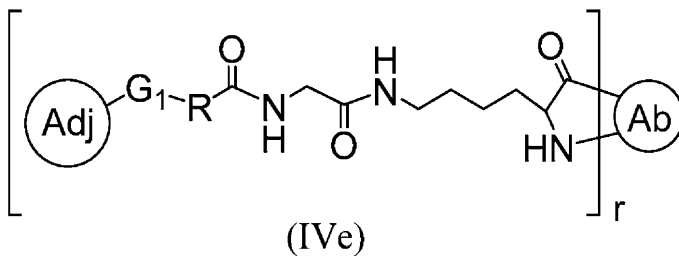
10

(式中、A b は、本明細書に定義されたとおりであり、A d j はアジュバントであり、G₁ は、C H₂、C = O、又は結合であり、R は、任意に存在し、1 ~ 8 個の炭素単位を含む直鎖又は分枝鎖、環状又は直線状、飽和又は不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、下付き文字 c は、1 ~ 2 5 の整数であり、下付き文字 r は、1 ~ 1 0 の整数である) による構造を有する、請求項 1 7 に記載の免疫複合体又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 1 9】

前記免疫複合体が、式 I V e :

【化 2 4】



20

(式中、A b は、本明細書に定義されたとおりであり、A d j はアジュバントであり、G₁ は、C H₂、C = O、又は結合であり、R は、任意に存在し、1 ~ 8 個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、下付き文字 r は、1 ~ 1 0 の整数である) による構造を有する、請求項 1 3 又は 1 4 に記載の免疫複合体又はその薬学的に許容される塩。

30

【請求項 2 0】

請求項 1 ~ 1 9 のいずれか一項に記載の複数の免疫複合体を含む組成物。

【請求項 2 1】

治療有効量の請求項 1 ~ 1 9 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は請求項 2 0 に記載の組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む、癌を治療するための方法。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

電子的に提出された材料の参照による組み込み

本明細書と同時に提出され、以下のように 2 0 1 7 年 1 2 月 1 3 日に作成された「7 3 6 5 5 5 _ S T 2 5 . t x t」と名付けられた 1 つの 6 6 6 バイトの A S C I I (T e x t) ファイルとして特定されるコンピュータ可読ヌクレオチド／アミノ酸配列表は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0 0 0 2】

50

腫瘍成長には免疫回避を促進する突然変異の獲得が必要であることが現在では十分に認識されている。それでも、腫瘍形成は、エクスピボ刺激後に宿主免疫系により容易に認識される、突然変異した抗原又はネオアンチゲンの蓄積をもたらす。免疫系がネオアンチゲンを認識することができない理由及びしくみは、解明され始めている。Carmiriらによるバイオニア的研究 (Nature, 521: 99-104 (2015)) は、抗体-腫瘍免疫複合体を介して、活性化した樹状細胞にネオアンチゲンを送達することによって、免疫異常が克服され得ることを示している。これらの研究では、腫瘍内注射による腫瘍結合抗体と樹状細胞アジュバントとの同時送達、強固な抗腫瘍免疫をもたらした。アクセス不可能な腫瘍に到達し、癌患者及び他の対象のための治療選択肢を拡張するために、抗体及び樹状細胞アジュバントの送達のための新規組成物及び方法が必要とされている。本発明は、この必要性及び他の必要性に対処する。

10

【発明の概要】

【0003】

第1の態様では、本発明は、(a) (i) 抗原結合ドメイン及び(ii) Fcドメインを含む抗体構築物と、(b) アジュバント部分と、(c) エチレングリコール基又はグリシン残基を含むリンカーと、を含む免疫複合体であって、各アジュバント部分が、リンカーを介して抗体構築物に共有結合している、免疫複合体を提供する。

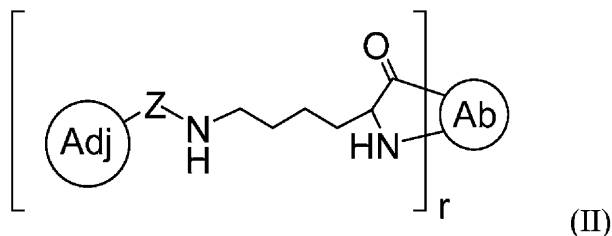
【0004】

別の態様では、本発明は、式II：

【0005】

20

【化1】



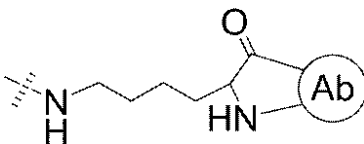
【0006】

(式中、

30

【0007】

【化2】



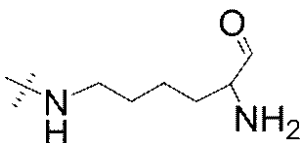
【0008】

は、抗体のリジン残基を表す

【0009】

【化3】

40



【0010】

残基を有する抗体であり、ここで、

【0011】

【化4】

「」

50

【0012】

は、Zに対する結合点を表し、Adjは、アジュバントであり、下付き文字rは、1～10の整数であり、Zは、エチレングリコール基又はグリシン残基を有する二価の連結部分である）による構造を有する免疫複合体を提供する。

【0013】

更なる一態様では、本発明は、本発明の複数の免疫複合体を含む組成物を提供する。

【0014】

別の態様では、本発明は、治療有効量の本発明による免疫複合体、又は本発明の免疫複合体を含む組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む、癌を治療する方法を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】アジュバントCL264の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの末端カルボン酸は、リンカーに複合体化させることができる。

【図2】アジュバントCL401の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの一級アミンは、リンカーに複合体化させることができる。

【図3】アジュバントCL413の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの第1リジン残基は、リンカーに複合体化させることができる。

【図4】アジュバントCL413の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの第2リジン残基は、リンカーに複合体化させることができる。

【図5】アジュバントCL413の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの第3リジン残基は、リンカーに複合体化させることができる。

【図6】アジュバントCL413の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの第4リジン残基は、リンカーに複合体化させることができる。

【図7】アジュバントCL413の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの一級アミンは、リンカーに複合体化させることができる。

【図8】アジュバントCL419の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的には、アジュバントのアミン（図8の上部の末端アミン及び図8の下部の二級アミン）は、リンカーに複合体化させることができる。

【図9】アジュバントCL553の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの二級アミンは、リンカーに複合体化させることができる。

【図10】アジュバントCL553の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの別の二級アミンは、リンカーに複合体化させることができる。

【図11】アジュバントCL553の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの一級アミンは、リンカーに複合体化させることができる。

【図12】アジュバントCL553の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントのアミドは、リンカーに複合体化させることができる。

【図13】アジュバントCL572の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的には一級アミン（図13の上部）及びカルボ

10

20

30

40

50

ニル（図13の下部）は、リンカーに複合体化させることができる。

【図14】アジュバントPam2CSK4の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの末端カルボン酸は、リンカーに複合体化させることができる。

【図15】アジュバントPam2CSK4の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバント末端チオールは、リンカーに複合体化させることができる。

【図16】アジュバントPam2CSK4の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの第2リジン残基は、リンカーに複合体化させることができる。

【図17】アジュバントPam2CSK4の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの第3リジン残基は、リンカーに複合体化させることができる。

【図18】アジュバントPam2CSK4の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの末端リジン残基は、リンカーに複合体化させることができる。

【図19】アジュバントPam3CSK4の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの末端カルボン酸は、リンカーに複合体化させることができる。

【図20】アジュバントPam3CSK4の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバント末端チオールは、リンカーに複合体化させることができる。

【図21】アジュバントPam3CSK4の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの第2リジン残基は、リンカーに複合体化させることができる。

【図22】アジュバントPam3CSK4の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの第3リジン残基は、リンカーに複合体化させることができる。

【図23】アジュバントPam3CSK4の構造を示し、ここで、円は、アジュバント上の位置を示し、この位置で、アジュバント、具体的にはアジュバントの末端リジン残基は、リンカーに複合体化させることができる。

【発明の詳細な説明】

【0016】

一般

本発明は、抗体依存性細胞毒性、抗体依存性細胞食作用を促進する抗体、免疫チェックポイント分子として機能する、癌産生蛋白質の作用を阻害する抗体、樹状細胞活性化及びT細胞増殖を促進するアジュバント、並びに抗腫瘍効能を促進する抗体とアジュバントとの間の共有結合、を含む、多数の利点を有する抗体－アジュバント免疫複合体を提供する。例えば、ヒト単球は、本発明の抗体－アジュバント免疫複合体を用いて一晩刺激した後、DC分化を受けるが、既知の刺激剤（例えば、GM-CSF及びIL-4）を用いたDC分化プロトコルは、はるかに長い期間を必要とする。抗体－アジュバント免疫複合体活性化細胞はまた、既知の刺激剤を用いて達成可能なものよりも数倍多量の共刺激分子及び炎症性サイトカインも発現する。抗体－アジュバント免疫複合体活性化細胞は、既知の刺激剤を用いて達成可能なものよりも多量の（例えば、いくつかの場合では、数倍多量の）共刺激分子及び炎症性サイトカインを発現する。

【0017】

共有結合した、すなわち、抗体が、アジュバントに共有結合しているリンカーに共有結合した、抗体－アジュバント免疫複合体は、非共有結合した抗体－アジュバント免疫複合体よりも、免疫活性化を誘発する際に、定量的かつ定性的により効果的である。更に、本発明に従って連結された抗体－アジュバント免疫複合体は、他の既知の免疫複合体よりも

10

20

30

40

50

はるかに効果的である。アジュバント-抗体複合体の全身投与は、腫瘍内注射及び外科的切除を必要とせず、原発腫瘍及び関連する転移の同時標的化を可能にする。

【0018】

定義

本明細書で使用する時、用語「免疫複合体」は、本明細書に記載される非天然に生じる化学部分に共有結合した抗体構築物又は抗体を指す。用語「免疫複合体」及び「抗体-アジュバント免疫複合体」は、本明細書において互換的に使用される。

【0019】

本明細書で使用する時、語句「抗体構築物」は、抗原結合ドメイン及びFcドメインを含むポリペプチドを指す。抗体構築物は、抗体を含むか、又は抗体であってもよい。

10

【0020】

本明細書で使用する時、語句「抗原結合ドメイン」は、特定の抗原（例えば、パルトープ）に特異的に結合する蛋白質、又は蛋白質の一部を指し、例えば、抗原と相互作用し、抗原結合蛋白質に抗原に対するその特異性及び親和性を付与するアミノ酸残基を含む抗原結合蛋白質のその部分を指す。

【0021】

本明細書で使用する時、語句「Fcドメイン」は、抗体の結晶化可能な断片領域、又はテール領域を指す。Fcドメインは、細胞表面上のFc受容体と相互作用する。

【0022】

本明細書で使用する時、語句「標的化結合ドメイン」は、免疫複合体の抗原結合ドメインに結合した抗原とは異なる第2の抗原に特異的に結合する蛋白質又は蛋白質の一部を指す。標的結合ドメインは、FcドメインのC末端で抗体構築物に複合体化され得る。

20

【0023】

本明細書で使用する時、用語「抗体」は、抗原に特異的に結合し、それを認識する免疫グロブリン遺伝子又はその断片に由来する抗原結合領域（相補性決定領域（complementarity determining region、CDR）を含む）を含むポリペプチドを指す。認識された免疫グロブリン遺伝子は、 κ 、 λ 、 α 、 γ 、 δ 、 ϵ 、及びmu定常領域遺伝子、並びに多数の免疫グロブリン可変領域遺伝子を含む。

【0024】

例示的な免疫グロブリン（抗体）構造単位は、四量体を含む。各四量体は、2つの同一の対のポリペプチド鎖からなり、各対は、1つの「軽」鎖（約25kDa）及び1つの「重」鎖（約50~70kDa）を有する。各鎖のN末端は、抗原認識に主に関与する、約100~110個以上のアミノ酸の可変領域を定義付ける。用語可変軽鎖（ V_L ）及び可変重鎖（ V_H ）は、それぞれ、これらの軽鎖及び重鎖を指す。軽鎖は、 κ 又は λ のいずれかとして分類される。重鎖は、 γ 、mu、 α 、 δ 、又は ϵ として分類され、これは次に免疫グロブリンクラスIgG、IgM、IgA、IgD、及びIgEをそれぞれ定義する。

30

【0025】

IgG抗体は、4つのペプチド鎖からなる約150kDaの巨大分子である。IgG抗体は、約50kDaの2つの同一のクラス γ 重鎖、及び約25kDaの2つの同一の軽鎖を含有し、四量体四級構造を形成する。2つの重鎖は、互いに結合し、ジスルフィド結合によってそれぞれ軽鎖に連結される。得られた四量体は、2つの同一の半体を有し、これは共にY字状形状を形成する。フォークの各端部は、同一の抗原結合部位を含む。ヒトには4つのIgGサブクラス（IgG1、2、3、及び4）が存在し、血清中のそれらの存在量（IgG1が最も豊富である）に従って命名される。典型的には、抗体の抗原結合領域は、結合の特異性及び親和性において最も重要である。

40

【0026】

二量体IgA抗体は、約320kDaである。IgAは、2つのサブクラス（IgA1及びIgA2）を有し、モノマー及び二量体形態として産生され得る。IgA二量体形態（分泌型又はsIgA）は最も豊富である。

【0027】

50

抗体は、例えば、インタクトな免疫グロブリンとして、又は様々なペプチダーゼを用いた消化によって産生される多数の十分に特徴付けられた断片として存在し得る。したがって、例えば、ペプシンは、ヒンジ領域内のジスルフィド結合の下で抗体を消化して、それ自体がジスルフィド結合によって $V_H - C_H 1$ に結合された軽鎖である Fab の二量体である $F(ab)'_2$ を生じる。 $F(ab)'_2$ は、適度な条件下で分解され、ヒンジ領域内のジスルフィド結合が切断されてもよく、それによって、 $F(ab)'_2$ 二量体は Fab' モノマーに変換される。 Fab' モノマーは、本質的にヒンジ領域の部分を有する Fab である（例えば、*Fundamental Immunology* (Paul ed., 7th ed., 2012) を参照されたい）。様々な抗体断片は、インタクトな抗体の消化に関して定義されるが、そのような断片は、化学的に、又は組み換えDNA方法を使用して、新たに合成されてもよい。したがって、本明細書で使用する時、抗体という用語はまた、組み換えDNA方法（例えば、単鎖 Fv ）を使用して新規に合成されたか、又はファージディスプレイライブラリを使用して同定された、全抗体の修飾により産生された抗体断片を含む（例えば、McCaffertyら、*Nature*, 348: 552-554 (1990) を参照されたい）。

【0028】

用語「抗体」は、最も広い意味で使用され、具体的には、所望の生物活性を示す限り、モノクローナル抗体（完全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及び抗体断片を含む。本明細書で使用する時、「抗体断片」及びその全ての文法的な変形は、インタクトな抗体の抗原結合部位又は可変領域を含むインタクトな抗体の一部として定義され、この部分は、インタクトな抗体の Fc 領域の定常重鎖ドメイン（すなわち、抗体アイソタイプに応じて、 $CH2$ 、 $CH3$ 、及び $CH4$ ）を含まない。抗体断片の例は、 Fab 、 Fab' 、 $Fab' - SH$ 、 $F(ab)'_2$ 、及び Fv 断片；ダイアボディ；連続するアミノ酸残基の1つの中断されていない配列（本明細書では、「単鎖抗体断片」又は「単鎖ポリペプチド」と称される）からなる一次構造を有するポリペプチドである任意の抗体断片を含み、（1）単鎖 Fv ($scFv$) 分子；（2）1つの軽鎖可変ドメインのみを含有する単鎖ポリペプチド、又は関連する重鎖部分を含まない、軽鎖可変ドメインの3つのCDRを含有するその断片；（3）1つの重鎖可変ドメインのみを含有する単鎖ポリペプチド、又は関連する軽鎖部分を含まない、重鎖可変ドメインの3つのCDRを含有するその断片；（4）非ヒト種に由来する単一のIgドメイン、又は他の特定の単一ドメイン結合モジュールを含むナノボディ；及び（5）抗体断片から形成された多重特異性又は多価構造体；を含むが、これらに限定されない。1つ以上の重鎖を含む抗体断片において、重鎖（複数可）は、インタクトな抗体の非 Fc 領域に見出される任意の定常ドメイン配列（例えば、IgGアイソタイプ中の $CH1$ ）を含有することができ、及び／又は、インタクトな抗体に見出される任意のヒンジ領域配列を含有することができ、及び／又は、ヒンジ領域配列又は重鎖（複数可）の定常ドメイン配列に融合された又は位置するロイシンジッパー配列を含有することができる。

【0029】

本明細書で使用する時、生物学的製品を参照する用語「バイオシミラー」は、生物学的製品が、臨床的に不活性な構成成分におけるわずかな差にもかかわらず、参照製品と非常に類似しており、生物学的製品と参照製品との間には、製品の安全性、純度、及び効力の点で、臨床的に有意な差異が存在しないことを意味する。

【0030】

本明細書で使用する時、用語「エピトープ」は、抗体のパラトープとも呼ばれる抗原結合部位が結合する抗原上の任意の抗原決定因子を意味する。エピトープ決定因子は、通常、アミノ酸又は糖側鎖などの分子の化学的に活性な表面集団からなり、通常、特定の三次元構造特性、並びに特定の電荷特性を有する。

【0031】

用語「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「蛋白質」は、アミノ酸残基のポリマーを指すために、本明細書において互換的に使用される。この用語はまた、1つ以上のアミノ

酸残基が対応する天然に生じるアミノ酸の人工化学的模倣物であるアミノ酸ポリマー、並びに天然に存在するアミノ酸ポリマー及び非天然に生じるアミノ酸ポリマーにも当てはまる。

【0032】

本明細書で使用する時、用語「アジュバント」は、アジュバントに曝露された対象において免疫応答を誘発することができる物質を指す。

【0033】

本明細書で使用する時、用語「アジュバント部分」は、本明細書に記載される抗体に共有結合したアジュバントを指す。アジュバント部分は、免疫複合体を対象に投与した後、抗体に結合した状態で、又は抗体からの切断（例えば、酵素的切断）後に、免疫応答を誘発することができる。

10

【0034】

本明細書で使用する時、用語「パターン認識受容体（Pattern recognition receptor）」及び「PRR」は、病原体関連分子パターン（pathogen-associated molecular pattern、PAMP）又は損傷関連分子パターン（damage-associated molecular pattern、DAMP）を認識し、自然免疫における主要なシグナル伝達要素として機能する、保存された哺乳類蛋白質の1つのクラスの任意のメンバーを指す。パターン認識受容体は、膜結合型PRR、細胞質PRR、及び分泌型PRRに分割される。膜結合型PRRの例としては、Toll様受容体（Toll-like receptor、TLR）及びC型レクチン受容体（C-type lectin receptor、CLR）が挙げられる。細胞質PRRの例としては、NOD様受容体（NOD-like receptor、NLR）及びRig-I様受容体（Rig-I-like receptor、RLR）が挙げられる。

20

【0035】

本明細書で使用する時、用語「Toll様受容体」及び「TLR」は、病原体関連分子パターンを認識し、自然免疫における主要なシグナル伝達要素として機能する、高度に保存された哺乳類蛋白質の1つのファミリーの任意のメンバーを指す。TLRポリペプチドは、ロイシンリッチ反復を有する細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及びTLRシグナル伝達に関与する細胞内ドメインを含む、特徴的構造を共有する。

【0036】

用語「Toll様受容体1」及び「TLR1」は、例えば、ヒトTLR1ポリペプチドについてのGenBankアクセッション番号AA Y85643、又はマウスTLR1ポリペプチドについてのGenBankアクセッション番号AA G37302などの公的に利用可能なTLR1配列と、少なくとも70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%以上の配列同一性を共有する核酸又はポリペプチドを指す。

30

【0037】

用語「Toll様受容体2」及び「TLR2」は、例えば、ヒトTLR2ポリペプチドについてのGenBankアクセッション番号AA Y85648、又はマウスTLR2ポリペプチドについてのGenBankアクセッション番号AA D49335などの公的に利用可能なTLR2配列と、少なくとも70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%以上の配列同一性を共有する核酸又はポリペプチドを指す。

40

【0038】

用語「Toll様受容体3」及び「TLR3」は、例えば、ヒトTLR3ポリペプチドについてのGenBankアクセッション番号AA C34134、又はマウスTLR3ポリペプチドについてのGenBankアクセッション番号AA K26117などの公的に利用可能なTLR3配列と、少なくとも70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%以上の配列同一性を共有する核酸又はポリペプチドを指す。

【0039】

用語「Toll様受容体4」及び「TLR4」は、例えば、ヒトTLR4ポリペプチドについてのGenBankアクセッション番号AA Y82270、又はマウスTLR4ポリペプチドについてのGenBankアクセッション番号AA D29272などの公的に

50

利用可能な TLR4 配列と、少なくとも 70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 以上の配列同一性を共有する核酸又はポリペプチドを指す。

【0040】

用語「Toll様受容体5」及び「TLR5」は、例えば、ヒト TLR5 ポリペプチドについての GenBank アクセッション番号 ACM69034、又はマウス TLR5 ポリペプチドについての GenBank アクセッション番号 AAF65625 などの公的に利用可能な TLR5 配列と、少なくとも 70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 以上の配列同一性を共有する核酸又はポリペプチドを指す。

【0041】

用語「Toll様受容体6」及び「TLR6」は、例えば、ヒト TLR6 ポリペプチドについての GenBank アクセッション番号 ABY67133、又はマウス TLR6 ポリペプチドについての GenBank アクセッション番号 AAG38563 などの公的に利用可能な TLR6 配列と、少なくとも 70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 以上の配列同一性を共有する核酸又はポリペプチドを指す。

10

【0042】

用語「Toll様受容体7」及び「TLR7」は、例えば、ヒト TLR7 ポリペプチドについての GenBank アクセッション番号 AAZ99026、又はマウス TLR7 ポリペプチドについての GenBank アクセッション番号 AAK62676 などの公的に利用可能な TLR7 配列と、少なくとも 70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 以上の配列同一性を共有する核酸又はポリペプチドを指す。

20

【0043】

用語「Toll様受容体8」及び「TLR8」は、例えば、ヒト TLR8 ポリペプチドについての GenBank アクセッション番号 AAZ95441、又はマウス TLR8 ポリペプチドについての GenBank アクセッション番号 AAK62677 などの公的に利用可能な TLR8 配列と、少なくとも 70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 以上の配列同一性を共有する核酸又はポリペプチドを指す。

【0044】

用語「Toll様受容体7/8」及び「TLR7/8」は、TLR7 アゴニスト及び TLR8 アゴニストの両方である核酸又はポリペプチドを指す。

【0045】

用語「Toll様受容体9」及び「TLR9」は、例えば、ヒト TLR9 ポリペプチドについての GenBank アクセッション番号 AAF78037、又はマウス TLR9 ポリペプチドについての GenBank アクセッション番号 AAK28488 などの公的に利用可能な TLR9 配列と、少なくとも 70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 以上の配列同一性を共有する核酸又はポリペプチドを指す。

30

【0046】

用語「Toll様受容体10」及び「TLR10」は、例えば、ヒト TLR10 ポリペプチドについての GenBank アクセッション番号 AAK26744 などの公的に利用可能な TLR10 配列と、少なくとも 70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 以上の配列同一性を有する核酸又はポリペプチドを指す。

40

【0047】

用語「Toll様受容体11」及び「TLR11」は、例えば、マウス TLR11 ポリペプチドについての GenBank アクセッション番号 AAS83531 などの公的に利用可能な TLR11 配列と、少なくとも 70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 以上の配列同一性を有する核酸又はポリペプチドを指す。

【0048】

「TLRアゴニスト」は、TLR（例えば、TLR7 及び／又は TLR8）に直接的又は間接的に結合して、TLRシグナル伝達を誘導する物質である。TLRシグナル伝達における任意の検出可能な差は、アゴニストが TLR を刺激又は活性化することを示すことができる。シグナル伝達の差異は、例えば、標的遺伝子の発現の変化として、シグナル伝

50

達成分のリン酸化における変化として、NK- κ Bなどの下流要素の細胞内局在における変化として、特定の成分（IRAKなど）と他の蛋白質若しくは細胞内構造との関連性における変化として、又はキナーゼ（MAPKなど）などの成分の生化学的活性における変化として、明示され得る。

【0049】

本明細書で使用する時、用語「アミノ酸」は、ペプチド、ポリペプチド、又は蛋白質に組み込まれ得る任意のモノマー単位を指す。アミノ酸としては、天然に生じる α -アミノ酸及びそれらの立体異性体、並びに非天然（非天然に生じる）アミノ酸及びそれらの立体異性体が挙げられる。所与のアミノ酸の「立体異性体」は、同じ分子式及び分子内結合を有するが、結合及び原子の三次元配置が異なる（例えば、L-アミノ酸及び対応するD-アミノ酸）異性体を指す。

10

【0050】

天然に生じるアミノ酸は、遺伝暗号によってコードされたアミノ酸、並びに、後に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、及びオホスホセリンである。天然に生じる α -アミノ酸としては、限定するものではないが、アラニン（Ala）、システイン（Cys）、アスパラギン酸（Asp）、グルタミン酸（Glu）、フェニルアラニン（Phe）、グリシン（Gly）、ヒスチジン（His）、イソロイシン（Ile）、アルギニン（Arg）、リジン（Lys）、ロイシン（Leu）、メチオニン（Met）、アスパラギン（Asn）、プロリン（Pro）、グルタミン（Gln）、セリン（Ser）、スレオニン（Thr）、バリン（Val）、トリプトファン（Trp）、チロシン（Tyr）、及びこれらの組み合わせが挙げられる。天然に生じる α -アミノ酸の立体異性体としては、限定するものではないが、D-アラニン（D-Ala）、D-システイン（D-Cys）、D-アスパラギン酸（D-Asp）、D-グルタミン酸（D-Glu）、D-フェニルアラニン（D-Phe）、D-ヒスチジン（D-His）、D-イソロイシン（D-Ile）、D-アルギニン（D-Arg）、D-リジン（D-Lys）、D-ロイシン（D-Leu）、D-メチオニン（D-Met）、D-アスパラギン（D-Asn）、D-プロリン（D-Pro）、D-グルタミン（D-Gln）、D-セリン（D-Ser）、D-トレオニン（D-Thr）、D-バリン（D-Val）、D-トリプトファン（D-Trp）、D-チロシン（D-Tyr）、及びこれらの組み合わせが挙げられる。

20

30

【0051】

非天然（非天然に生じる）アミノ酸としては、限定するものではないが、天然に生じるアミノ酸と同様の様式で機能する、L-又はD-配置のいずれかである、アミノ酸類似体、アミノ酸模倣体、合成アミノ酸、N-置換グリシン、及びN-メチルアミノ酸が挙げられる。例えば、「アミノ酸類似体」は、天然に生じるアミノ酸と同じ基本化学構造（すなわち、水素、カルボキシル基、アミノ基に結合している炭素）を有するが、修飾された側鎖基又は修飾されたペプチド骨格を有する非天然アミノ酸、例えば、ホモセリン、ノロロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウムであり得る。「アミノ酸模倣体」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、天然に生じるアミノ酸と同様の様式で機能する化学的化合物を指す。アミノ酸は、本明細書において、一般に知られている3文字記号、又はIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される1文字記号のいずれかによって参照されてもよい。

40

【0052】

本明細書で使用する時、用語「免疫チェックポイント阻害剤」は、免疫チェックポイント分子の活性を阻害する任意の調節因子を指す。免疫チェックポイント阻害剤としては、免疫チェックポイント分子結合蛋白質、小分子阻害剤、抗体、抗体誘導体（Fc融合、Fab断片及びscFvを含む）、抗体-薬物複合体、アンチセンスオリゴヌクレオチド、siRNA、アプタマー、ペプチド、及びペプチド模倣体を挙げることができるが、これらに限定されない。

50

【0053】

本明細書で使用する時、用語「連結部分」は、化合物又は材料中の2つ以上の部分を共有結合する官能基を指す。例えば、連結部分は、免疫複合体中の抗体にアジュバント部分を共有結合させる働きをすることができる。

【0054】

連結部分を蛋白質及び他の材料に連結するための有用な結合としては、アミド、アミン、エステル、カルバメート、尿素、チオエーテル、チオカルバメート、チオカーボネート、及びチオウレアが挙げられるが、これらに限定されない。「二価」連結部分は、2つの官能基を連結するための2つの結合点を含み、多価連結部分は、更なる官能基を連結するための更なる結合点を有することができる。例えば、二価の連結部分としては、二価ポリ(エチレングリコール)、二価ポリ(プロピレングリコール)、及び二価ポリ(ビニルアルコール)などの二価ポリマー部分が挙げられる。

10

【0055】

本明細書で使用する時、用語「任意に存在する」が、化学構造(例えば、「R」又は「Q」)を指すために使用される場合に、化学構造が存在しない場合、化学構造に元々作られた結合は、隣接する原子に直接作られる。

【0056】

本明細書で使用する時、用語「リンカー」は、化合物又は材料中の2つ以上の部分を共有結合する官能基を指す。例えば、リンカーは、免疫複合体中の抗体構築物にアジュバント部分を共有結合させる働きをすることができる。

20

【0057】

本明細書で使用する時、用語「アルキル」は、示される炭素原子数を有する、直鎖若しくは分枝鎖の飽和脂肪族ラジカルを指す。アルキルは、 $C_1 \sim 2$ 、 $C_1 \sim 3$ 、 $C_1 \sim 4$ 、 $C_1 \sim 5$ 、 $C_1 \sim 6$ 、 $C_1 \sim 7$ 、 $C_1 \sim 8$ 、 $C_1 \sim 9$ 、 $C_1 \sim 10$ 、 $C_2 \sim 3$ 、 $C_2 \sim 4$ 、 $C_2 \sim 5$ 、 $C_2 \sim 6$ 、 $C_3 \sim 4$ 、 $C_3 \sim 5$ 、 $C_3 \sim 6$ 、 $C_4 \sim 5$ 、 $C_4 \sim 6$ 及び $C_5 \sim 6$ などの任意の数の炭素を含み得る。例えば、 $C_1 \sim 6$ アルキルとしては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ヘキシルなどが挙げられるが、これらに限定されない。アルキルはまた、最大30個の炭素原子を有するアルキル基、例えば、限定するものではないが、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシルを指すことができる。アルキル基は、置換又は非置換であり得る。「置換アルキル」基は、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、オキシ(=O)、アルキルアミノ、アミド、アシル、ニトロ、シアノ、及びアルコキシから選択される1つ以上の基で置換され得る。用語「アルキレン」は、二価アルキルラジカルを指す。

30

【0058】

本明細書で使用する時、用語「ヘテロアルキル」は、本明細書に記載されるアルキル基を指し、1つ以上の炭素原子は、任意に及び独立して、N、O、及びSから選択されるヘテロ原子で置換される。用語「ヘテロアルキレン」は、二価ヘテロアルキルラジカルを指す。

【0059】

本明細書で使用する時、用語「炭素環」は、3~12個の環原子又は示された数の原子を含有する飽和若しくは部分的に不飽和の単環式、縮合二環式、又は架橋多環式環集合を指す。炭素環は、 $C_3 \sim 6$ 、 $C_4 \sim 6$ 、 $C_5 \sim 6$ 、 $C_3 \sim 8$ 、 $C_4 \sim 8$ 、 $C_5 \sim 8$ 、 $C_6 \sim 8$ 、 $C_3 \sim 9$ 、 $C_3 \sim 10$ 、 $C_3 \sim 11$ 、及び $C_3 \sim 12$ などの任意の数の炭素を含み得る。飽和単環式炭素環としては、例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、及びシクロオクチルが挙げられる。飽和二環式及び多環式炭素環としては、例えば、ノルボルナン、[2.2.2]ビシクロオクタン、デカヒドロナフタレン、及びアダマントタンが挙げられる。炭素環式基はまた、環中に1つ以上の二重結合又は三重結合を有する、部分的に不飽和であってもよい。部分的に不飽和である代表的な炭素環基としては、シクロブテン、シクロペンテン、シクロヘキセン、シクロヘキサジエン(1,3-及び1,4-異性体)、シクロヘプテン、シクロヘプタジエン、シクロオク

40

50

テン、シクロオクタジエン（1，3－、1，4－及び1，5－異性体）、ノルボルネン、及びノルボルナジエンが挙げられるが、これらに限定されない。

【0060】

不飽和炭素環式基は、アリール基も含む。用語「アリール」は、任意の好適な数の環原子及び任意の好適な数の環を有する芳香環系を指す。アリール基は、任意の好適な数の環原子、例えば、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15個又は16個の環原子、並びに6～10個、6～12個、又は6～14個の環員を含み得る。アリール基は、単環式であってもよく、縮合して二環式若しくは三環式基を形成してもよく、又は結合によって結合して、ビアリール基を形成することができる。代表的なアリール基としては、フェニル、ナフチル、及びビフェニルが挙げられる。他のアリール基としては、メチレン連結基を有するベンジルが挙げられる。一部のアリール基は、フェニル、ナフチル、又はビフェニルなどの6～12個の環員を有する。他のアリール基は、フェニル又はナフチルなどの6～10個の環員を有する。

10

【0061】

「二価の」炭素環は、分子又は材料中の2つの部分を共有結合するための2つの結合点を有する炭素環式基を指す。炭素環は、置換又は非置換であり得る。「置換炭素環式」基は、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、アルキルアミノ、アミド、アシル、ニトロ、シアノ、及びアルコキシから選択される1つ以上の基で置換され得る。

【0062】

本明細書で使用する時、用語「複素環」は、ヘテロシクロアルキル基及びヘテロアリール基を指す。「ヘテロアリール」は、それ自体又は別の置換基の一部として、5～16個の環原子を含有する単環式又は縮合二環式若しくは三環式芳香環集合を指し、ここで、環原子の1～5個はN、O又はSなどのヘテロ原子である。B、Al、Si、及びPを含むがこれらに限定されない更なるヘテロ原子もまた有用であり得る。ヘテロ原子は、限定されないが、－S（O）－及び－S（O）₂－などの部分を形成するために酸化され得る。ヘテロアリール基は、3～6、4～6、5～6、3～8、4～8、5～8、6～8、3～9、3～10、3～11、又は3～12個の環員などの任意の数の環原子を含むことができる。1、2、3、4、又は5個の、又は1～2個、1～3個、1～4個、1～5個、2～3個、2～4個、2～5個、3～4個、又は3～5個などの任意の好適な数のヘテロ原子が、ヘテロアリール基中に含まれ得る。ヘテロアリール基としては、ピロール、ピリジン、イミダゾール、ピラゾール、トリアゾール、テトラゾール、ピラジン、ピリミジン、ピリダジン、トリアジン（1，2，3－、1，2，4－、及び1，3，5－異性体）、チオフェン、フラン、チアゾール、イソチアゾール、オキサゾール、及びイソオキサゾールなどの基を挙げることができる。ヘテロアリール基はまた、フェニル環などの芳香環系に縮合して、インドール及びイソインドールなどのベンゾピロール、キノリン及びイソキノリンなどのベンゾピリジン、ベンゾピリミジン（キノキサリン）、ベンゾピリミジン（キナゾリン）、フタラジン及びシンノリンなどのベンゾピリダジン、ベンゾチオフェン、及びベンゾフランが挙げられるがこれらに限定されない員を形成することもできる。他のヘテロアリール基としては、ビピリジンなどの結合によって連結されたヘテロアリール環が挙げられる。ヘテロアリール基は、置換又は非置換であり得る。「置換ヘテロアリール」基は、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、オキソ（＝O）、アルキルアミノ、アミド、アシル、ニトロ、シアノ、及びアルコキシから選択される1つ以上の基で置換され得る。

20

30

40

【0063】

ヘテロアリール基は、環上の任意の位置を介して連結され得る。例えば、ピロールは、1－、2－及び3－ピロールを含み、ピリジンは、2－、3－及び4－ピリジンを含み、イミダゾールは、1－、2－、4－及び5－イミダゾールを含み、ピラゾールは、1－、3－、4－及び5－ピラゾールを含み、トリアゾールは、1－、4－及び5－トリアゾールを含み、テトラゾールは、1－及び5－テトラゾールを含み、ピリミジンは、2－、4－、5－及び6－ピリミジンを含み、ピリダジンは、3－及び4－ピリダジンを含み、1，2，3トリアジンは、4－及び5－トリアジンを含み、1，2，4－トリアジンは、3

50

ー、5ー及び6ートリアジンを含み、1, 3, 5ートリアジンは、2ートリアジンを含み、チオフエンは、2ー及び3ーチオフエンを含み、フランは、2ー及び3ーフランを含み、チアゾールは、2ー、4ー及び5ーチアゾールを含み、イソチアゾールは、3ー、4ー及び5ーイソチアゾールを含み、オキサゾールは2ー、4ー及び5ーオキサゾールを含み、イソオキサゾールは、3ー、4ー及び5ーイソオキサゾールを含み、インドールは1ー、2ー及び3ーインドールを含み、イソインドールは、1ー及び2ーイソインドールを含み、イソインドールは、1ー及び2ーイソインドールを含み、キノリンは、2ー、3ー及び4ーキノリンを含み、イソキノリンは、1ー、3ー及び4ーイソキノリンを含み、キナゾリンは2ー及び4ーキノゾリンを含み、シンノリンは3ー及び4ーシンノリンを含み、ベンゾチオフエンは、2ー及び3ーベンゾチオフエンを含み、ベンゾフランは、2ー及び3ーベンゾフランを含む。

10

【0064】

「ヘテロシクリル」は、それ自体又は別の置換基の一部として、3～12個の環員及び1～4個のN、O、及びSのヘテロ原子を有する飽和環系を指す。B、Al、Si、及びPを含むがこれらに限定されない更なるヘテロ原子もまた有用であり得る。ヘテロ原子は、限定されないが、 $-S(O)-$ 及び $-S(O)_2-$ などの部分を形成するために酸化され得る。ヘテロシクリル基は、3～6、4～6、5～6、3～8、4～8、5～8、6～8、3～9、3～10、3～11、又は3～12個の環員などの任意の数の環原子を含むことができる。1、2、3、又は4個の、又は1～2個、1～3個、1～4個、2～3個、2～4個、又は3～4個などの任意の好適な数のヘテロ原子が、ヘテロシクリル基中に含まれ得る。ヘテロシクリル基は、アジリジン、アゼチジン、ピロリジン、ペペリジン、アゼパン、アゾカン、キヌクリジン、ピラゾリジン、イミダゾリジン、ペペラジン(1, 2ー1, 3ー、及び1, 4ー異性体)、オキシラン、オキセタン、テトラヒドロフラン、オキサン(テトラヒドロピラン)、オキセパン、チラン、チエタン、チオラン(テトラヒドロチオフエン)、チラン(テトラヒドロチオピラン)、オキサゾリジン、イソオキサゾリジン、チアゾリジン、イソチアゾリジン、ジオキサラン、ジチオラン、モルホリン、チオモルホリン、ジオキサン、又はジチアンなどの基を含み得る。ヘテロシクリル基はまた、芳香族又は非芳香族環系に縮合して、インドリンを含むがこれらに限定されない員を形成することもできる。ヘテロシクリル基は、非置換であっても置換されていてもよい。「置換ヘテロシクリル」基は、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、オキソ(=O)、アルキルアミノ、アミド、アシル、ニトロ、シアノ、及びアルコキシから選択される1つ以上の基で置換され得る。

20

30

【0065】

ヘテロシクリル基は、環上の任意の位置を介して連結され得る。例えば、アジリジンは、1ー又は2ーアジリジンであってよく、アゼチジンは、1ー又は2ーアゼチジンであってよく、ピロリジンは、1ー、2ー又は3ーピロリジンであってよく、ペペリジンは、1ー、2ー、3ー又は4ーペペリジンであってよく、ピラゾリジンは、1ー、2ー、3ー又は4ーピラゾリジンであってよく、イミダゾリジンは、1ー、2ー、3ー又は4ーイミダゾリジンであってよく、ペペラジンは、1ー、2ー、3ー又は4ーペペラジンであってよく、テトラヒドロフランは、1ー又は2ーテトラヒドロフランであってよく、オキサゾリジンは、2ー、3ー、4ー又は5ーオキサゾリジンであってよく、イソオキサゾリジンは、2ー、3ー、4ー又は5ーイソオキサゾリジンであってよく、チアゾリジンは、2ー、3ー、4ー又は5ーチアゾリジンであってよく、イソチアゾリジンは、2ー、3ー、4ー又は5ーイソチアゾリジンであってよく、モルホリンは、2ー、3ー又は4ーモルホリンであってよい。

40

【0066】

本明細書で使用する時、用語「ハロ」及び「ハロゲン」は、それ自体又は別の置換基の一部として、フッ素、塩素、臭素、又はヨウ素原子を指す。

【0067】

本明細書で使用する時、「カルボニル」という用語は、それ自体又は別の置換基の一

50

部として、 $-C(O)-$ 、すなわち、カルボニルを有する部分中、酸素に二重結合し、2つの他の基に結合した炭素原子を指す。

【0068】

本明細書で使用する時、用語「アミノ」は、各R基がH又はアルキルである、 $-NR_3$ 部分を指す。アミノ部分をイオン化して、対応するアンモニウムカチオンを形成することができる。

【0069】

本明細書で使用する時、用語「ヒドロキシ」は、 $-OH$ 部分を指す。

【0070】

本明細書で使用する時、用語「シアノ」は、窒素原子に三重結合した炭素原子（すなわち、 $-C\equiv N$ 部分）を指す。

10

【0071】

本明細書で使用する時、用語「カルボキシ」は、 $-C(O)OH$ 部分を指す。カルボキシ部分をイオン化して、対応するカルボキシレートアニオンを形成することができる。

【0072】

本明細書で使用する時、用語「アミド」は、 $-NRC(O)R$ 又は $-C(O)NR_2$ 部分を指し、式中、各R基はH又はアルキルである。

【0073】

本明細書で使用する時、用語「ニトロ」は、 $-NO_2$ 部分を指す。

【0074】

本明細書で使用する時、用語「オキシ」は、化合物に二重結合した酸素原子（すなわち、 $O=$ ）を指す。

20

【0075】

本明細書で使用する時、用語「治療する (treat)」、「治療 (treatment)」、及び「治療する (treating)」という用語は、緩和；寛解；症状の減少、又は症状、傷害、病理、若しくは状態を患者にとってより忍容可能なものにすること；症状の進行速度の低減；症状又は状態の頻度又は持続時間の軽減；又は、いくつかの状況では、症状の発症の予防；などの、任意の客観的又は主観的パラメータを含む、傷害、病理、状態、又は症状（例えば、認知障害）の治療又は改善における奏功の任意の兆候を指す。症状の治療又は改善は、例えば、身体検査の結果を含む、任意の客観的又は主観的パラメータに基づくことができる。

30

【0076】

本明細書で使用する時、用語「癌」は、固形癌、リンパ腫、及び白血病を含む状態を指す。異なる種類の癌の例としては、肺癌（例えば、非小細胞肺癌又はNSCLC）、卵巣癌、前立腺癌、結腸直腸癌、肝臓癌（すなわち、肝細胞癌）、腎癌（すなわち、腎細胞癌）、膀胱癌、乳癌、甲状腺癌、胸膜癌、膵臓癌、子宮癌、子宮頸癌、精巣癌、肛門癌、胆管癌、胃腸カルチノイド腫瘍、食道癌、胆嚢癌、虫垂癌、小腸癌、胃（胃部）癌、中枢神経系の癌、皮膚癌（例えば、黒色腫）、絨毛癌、頭部及び頸部癌、血液癌、骨肉腫、線維肉腫、神経芽腫、神経膠腫、黒色腫、B細胞リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、パーキンソンリンパ腫、小細胞型リンパ腫、大細胞型リンパ腫、単球性白血病、骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、急性骨髄球性白血病、及び多発性骨髄腫が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0077】

本明細書で使用する時、用語「有効量」及び「治療有効量」は、投与の目的となる治療効果をもたらす免疫複合体などの物質の用量を指す。正確な用量は、治療の目的に依存し、既知の技術を用いて当業者によって確認可能である（例えば、Lieberman、Pharmaceutical Dosage Forms (volume 1~3, 1992)；Lloyd、The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding (1999)；Pickar、Dosage Calculations (1999)；Goodman & G

50

ilman's The Pharmacological Basis of The
 rapeutics, 11th Edition, 2006, Brunton, ed.,
 McGraw-Hill; 及び Remington: The Science and
 Practice of Pharmacy, 21st Edition, 2005, H
 endrickson, Ed., Lippincott, Williams & Wilk
 insを参照されたい)。

【0078】

本明細書で使用する時、用語「対象」は、霊長類（例えば、ヒト）、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、イヌ、ネコ、ウサギ、ラット、マウスなどが挙げられるが、これらに限定されない哺乳動物などの動物を指す。特定の実施形態では、対象はヒトである。

10

【0079】

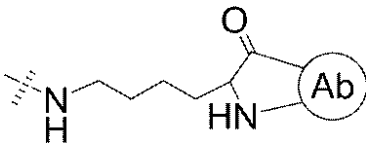
本明細書で使用する時、用語「投与する」は、非経口、静脈内、腹腔内、筋肉内、腫瘍内、病巣内、鼻腔内又は皮下投与、経口投与、坐剤としての投与、局所的接触、髄腔内投与、又は遅延放出用装置、例えば、ミニ浸透圧ポンプの対象への移植を指す。

【0080】

本明細書で使用する時、構造

【0081】

【化5】



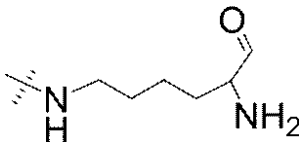
20

【0082】

は、抗体のリジン残基を表す

【0083】

【化6】



30

【0084】

残基を有する抗体であり、

【0085】

【化7】



【0086】

は、リンカーへの結合点を表す。したがって、Abは、示された少なくとも1つのリジン残基を含有する抗体の残部である。リンカーへの結合点を表す構造

【0087】

【化8】



40

【0088】

は、本明細書に記載され、それぞれ式II、式III、及び式IVの免疫複合体中に存在する、Z、Z¹、又はG₂への結合点を表すことができる。

【0089】

数値を修正するために本明細書で使用する時、用語「約」及び「およそ」は、その明示的な値を囲む近接範囲を示す。「X」が値である場合、「約X」又は「およそX」は、0.9X~1.1X、例えば、0.95X~1.05X、又は0.99X~1.01Xの

50

値を示し得る。「約 X」又は「およそ X」への任意の言及は、具体的には、少なくとも、値 X、0.95X、0.96X、0.97X、0.98X、0.99X、1.01X、1.02X、1.03X、1.04X、及び1.05Xの値を示す。したがって、「約 X」及び「およそ X」は、例えば、「0.98X」の請求制限のために、明細書による支持を教示及び提供することが意図される。

【0090】

抗体アジュバント複合体

本発明は、抗原結合ドメイン及びFcドメインを含む抗体構築物と、アジュバント部分と、リンカーと、を含む免疫複合体を提供し、各アジュバント部分は、リンカーを介して抗体に共有結合する。

【0091】

本明細書に記載される免疫複合体は、抗原提示細胞（antigen presenting cell、APC）の予想外に増加した活性化応答を提供することができる。この増加した活性化は、インビトロ又はインビボで検出することができる。場合によっては、APC活性化の特定レベルを達成するために、増加したAPC活性化を低減された時間の形態で検出することができる。例えば、インビトロアッセイでは、APC活性化%は、等価用量の免疫複合体を用いると、非共役抗体とTLRアゴニストとの混合物を用いて別様に同一の濃度及び条件下で同じ又は同様のAPC活性化%を受けるのに必要とされる時間の1%、10%、又は50%以内に、成し遂げることができる。場合によっては、免疫複合体は、低減された時間量でAPC（例えば、樹状細胞）及び／又はNK細胞を活性化させることができる。例えば、場合によっては、抗体TLRアゴニスト混合物は、2、3、4、5、1～5、2～5、3～5、又は4～7日間の混合物とのインキュベーション後に、APC（例えば、樹状細胞）及び／若しくはNK細胞を活性化することができ、及び／又は樹状細胞分化を誘導することができるが、対照的に、本明細書に記載の免疫複合体は、別様に同一の濃度及び条件下で、4時間、8時間、12時間、16時間、又は1日以内に活性化及び／又は分化を誘導することができる。あるいは、APC活性化の増加は、APC活性化の量（例えば、APCの割合）、レベル（例えば、好適なマーカーの上方制御のレベルによって測定されるような）、又は速度（例えば、活性化に必要なインキュベーション時間によって検出されるような）を達成するために必要とされる免疫複合体の低減された濃度の形態で検出することができる。

【0092】

本発明の免疫複合体は、Fc領域を含む必要がある。非FcR結合蛋白質は、本発明のアジュバントと結合複合体化させたとき、骨髓細胞を活性化しない。

【0093】

一実施形態では、本発明の免疫複合体は、先行技術の免疫複合体（例えば、米国特許第8,951,528号に開示されている免疫複合体）と比較して、5%超の活性増大をもたらす。別の実施形態では、本発明の免疫複合体は、従来技術の免疫複合体と比較して、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、又は70%を超える活性増大をもたらす。活性の増加は、任意の好適な手段によって評価することができ、その多くは当業者に既知であり、サイトカイン分泌による骨髓活性化又は評価を含むことができる。

【0094】

一実施形態では、本発明の免疫複合体は、改善された薬物対アジュバントの比を提供する。いくつかの実施形態では、免疫複合体当たりのアジュバント部分の平均の数は、約1～約10の範囲である。望ましい薬物対アジュバントの比は、治療の所望の効果に応じて、当業者によって決定することができる。例えば、1.2を超える薬物対アジュバント比が望ましい場合がある。一実施形態では、0.2、0.4、0.6、0.8、1、1.2、1.4、1.6、1.8、2.0、2.2、2.4、2.6、2.8、3.0、3.2、3.4、3.6、3.8、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、又は9.0を超える薬物対アジュバント比が望ましい場合がある。別の実施形態では、10.0、9.0

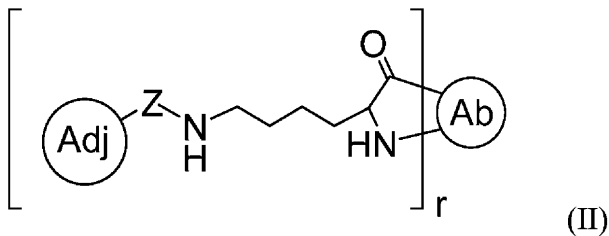
、8.0、7.0、6.0、5.0、4.0、3.8、3.6、3.4、3.2、3.0、2.8、2.6、2.4、2.2、2.0、1.8、1.6、1.4、1.2、0.8、0.6、0.4、又は0.2未満の薬物対アジュバント比が望ましい場合がある。薬物対アジュバント比は、任意の好適な手段によって評価することができ、その多くは当業者に既知である。

【0095】

いくつかの実施形態では、免疫複合体は、式 I I :

【0096】

【化9】



10

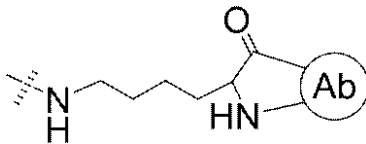
【0097】

(式中、

【0098】

【化10】

20

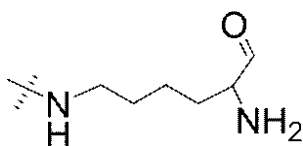


【0099】

は、抗体のリジン残基を表す

【0100】

【化11】



30

【0101】

残基を有する抗体であり、

【0102】

【化12】



【0103】

はZに対する結合点を表し、Adjは、アジュバントであり、下付き文字rは、1～10の整数であり、Zは、エチレングリコール基又はグリシン残基を有する二価の連結部分である)による構造を有する。Zは、好ましくは、アミド結合、C-N単結合、C-O単結合、又はC-C単結合を介してアジュバントに結合し、アミド結合又はC-N単結合を介して抗体に結合する。いくつかの実施形態では、Zは、アジュバントの窒素基及び抗体の窒素基に結合する。本明細書で使用するとき、用語「窒素基」は、アジュバント又は抗体中に存在する非置換又は置換アミン原子を指す。このような実施形態では、Zは、アミド結合、C-N単結合、又はこれらの組み合わせを介して隣接する窒素基に結合する。

40

【0104】

アジュバント

いくつかの実施形態では、アジュバント部分は、免疫応答を誘発する化合物である。い

50

くつかの実施形態では、アジュバント部分は、パターン認識受容体（「PRR」）アゴニストである。パターン認識受容体（PRR）を活性化することができる任意のアジュバントを、本発明の免疫複合体に組み込むことができる。本明細書で使用する時、用語「パターン認識受容体」及び「PRR」は、病原体関連分子パターン（「PAMP」）又は損傷関連分子パターン（「DAMP」）を認識し、自然免疫における主要なシグナル伝達要素として機能する、保存された哺乳類蛋白質の1つのクラスの任意のメンバーを指す。パターン認識受容体は、膜結合型PRR、細胞質PRR、及び分泌型PRRに分割される。膜結合型PRRの例としては、Toll様受容体（「TLR」）及びC型レクチン受容体（「CLR」）が挙げられる。細胞質PRRの例としては、NOD様受容体（「NLR」）及びRig-I様受容体（「RLR」）が挙げられる。いくつかの実施形態では、免疫複合体は、2つ以上の異なるPRRアジュバント部分を有することができる。

【0105】

特定の実施形態では、本発明の免疫複合体中のアジュバント部分は、Toll様受容体（TLR）アゴニストである。好適なTLRアゴニストとしては、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、TLR11、又はこれらの任意の組み合わせ（例えば、TLR7/8アゴニスト）が挙げられる。Toll様受容体（TLR）を活性化することができる任意のアジュバントを、本発明の免疫複合体に組み込むことができる。Toll様受容体（TLR）は、脊椎動物における自然免疫応答の開始に関与するI型膜貫通蛋白質である。TLRは、細菌、ウイルス、及び真菌からの様々な病原体関連分子パターンを認識し、進入する病原体に対する第1の防御線として作用する。TLRは、細胞発現の差異及びそれらが開始するシグナル伝達経路における差異に起因して、重ねて更に異なる生物学的応答を引き起こす。一旦、（例えば、天然刺激又は合成TLRアゴニストによって）関与すると、TLRは、シグナル伝達カスケードを開始し、アダプター蛋白質骨髄分化一次応答遺伝子88（MyD88）を介するNF-κBの活性化、及びIL-1受容体関連キナーゼ（IRAK）の動員をもたらす。IRAKのリン酸化は、次いで、TNF受容体関連因子6（TRAF6）の動員をもたらす、NF-κB阻害剤I-κBのリン酸化が生じる。結果として、NF-κBは細胞核に入り、プロモーターがサイトカインなどのNF-κB結合部位を含有する遺伝子の転写を開始する。TLRシグナル伝達の調節の更なるモードは、TRAF6のTRIF及びTRAF3を介したMyD88非依存経路の活性化を含み、インターフェロン応答因子3（interferon response factor three、IRF3）のリン酸化がもたらされる。同様に、MyD88依存経路はまた、IRF5及びIRF7を含むいくつかのIRFファミリーメンバーを活性化するが、一方で、TRIF依存経路はまた、NF-κB経路も活性化する。

【0106】

TLR3アゴニストの例としては、ポリイノシン-ポリシチジル酸（ポリ（I:C））、ポリアデニル-ポリウリジル酸（ポリ（A:U）、及びポリ（I）-ポリ（C12U））が挙げられる。

【0107】

TLR4アゴニストの例としては、リポ多糖（Lipopolysaccharide、LPS）及びモノホスホリルリピドA（Monophosphoryl lipid A、MPLA）が挙げられる。

【0108】

TLR5アゴニストの例としては、フラジェリンが挙げられる。

【0109】

TLR9アゴニストの例としては、単鎖CpGオリゴデオキシリヌクレオチド（CpG oligodeoxynucleotide、CpG ODN）が挙げられる。刺激性CpG ODNの3つの主要なクラスは、ヒト末梢血単核球（peripheral blood mononuclear cell、PBMC）、特にB細胞及び形質細胞様樹状細胞（plasmacytoid dendritic cell、pDC）に対する構造的特性及び活性に基づいて同定されている。これらの3つのクラスは、クラスA（D

型)、クラスB(K型)、及びクラスCである。

【0110】

Nod様受容体(NLR)アゴニストの例としては、iE-DAPのアシル化誘導体、D-ガンマー-Glu-mDAP、L-Ala-ガンマー-D-Glu-mDAP、C18脂肪酸鎖を有するムラミルジペプチド、ムラミルジペプチド、ムラミルトリペプチド、及びN-グリコシル化ムラミルジペプチドが挙げられる。

【0111】

RIG-I様受容体(RLR)アゴニストの例としては、5'-ppp-dsrna(5'-pppGCAUGCGACCUUGUUUGA-3'[配列番号1]:3'-CGUACGCUUGGAGACAAACU-5'[配列番号2])、及びポリ(デオキシアデニル-デオキシチミジル)酸(ポリ(dA:dT))が挙げられる。

10

【0112】

サイトゾルDNA及び環状ジヌクレオチドと呼ばれる固有の細菌核酸などの更なる免疫刺激性化合物は、サイトゾルDNAセンサを作用させることができるインターフェロン遺伝子(stimulator of interferon gene、「STING」)の刺激によって認識することができる。ADU-S100は、STINGアゴニストであり得る。STINGアゴニストの非限定的な例としては、環状[G(2',5')pA(2',5')p](2'2'-cGAMP)、環状[G(2',5')pA(3',5')p](2'3'-cGAMP)、環状[G(3',5')pA(3',5')p](3'3'-cGAMP)、環状ジアデニレートモノホスフェート(c-ジ-AMP)、2',5'-3',5'-c-ジAMP(2'3'-c-ジ-AMP)、環状ジグアニレートモノホスフェート(c-ジ-GMP)、2',5'-3',5'-c-ジGMP(2'3'-c-ジ-GMP)、環状ジイノシンモノホスフェート(c-ジ-IMP)、環状ジウリジンモノホスフェート(c-ジ-UMP)、KIN700、KIN1148、KIN600、KIN500、KIN100、KIN101、KIN400、KIN2000、又はSB-9200が挙げられ、認識することができる。

20

【0113】

TLR7及び/又はTLR8を活性化することができる任意のアジュバントを、本発明の免疫複合体に組み込むことができる。TLR7アゴニスト及びTLR8アゴニストの例は、例えば、Vacchelliら(OncoImmunology、2:8、e25238、DOI:10.4161/onci.25238(2013))、及びCarsonら(米国特許出願公開第2013/0165455号、これは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)によって記載されている。TLR7及びTLR8は両方とも、単球及び樹状細胞で発現される。ヒトでは、TLR7はまた、形質細胞様樹状細胞(pDC)及びB細胞でも発現される。TLR8は、骨髄起源のほとんどの細胞、すなわち単球、顆粒球、及び骨髄性樹状細胞で発現される。TLR7及びTLR8は、ウイルス侵入に応答する手段として、細胞内の「外来」一本鎖RNAの存在を検出することができる。TLR8アゴニストを用いるTLR8発現細胞の治療は、高レベルのIL-12、IFN-γ、IL-1、TNF-α、IL-6、及び他の炎症性サイトカインの産生をもたらす得る。同様に、TLR7アゴニストを用いるpDCなどのTLR7発現細胞の刺激は、高レベルのIFN-α及び他の炎症性サイトカインの産生をもたらす得る。TLR7/TLR8の関与及びその結果として得られるサイトカイン産生は、樹状細胞及び他の抗原提示細胞を活性化することができ、多様な自然及び獲得免疫応答機構を駆動して腫瘍破壊をもたらすことができる。

30

40

【0114】

TLR7、TLR8、又はTLR7/8アゴニストの例としては、限定するものではないが、Gardiquimod(1-(4-アミノ-2-エチルアミノメチルイミダゾ[4,5-c]キノリン-1-イル)-2-メチルプロパン-2-オール)、Imiquimod(R837)(TLR7のアゴニスト)、ロキソリビン(loxoribine)(TLR7のアゴニスト)、IRM1(1-(2-アミノ-2-メチルプロピル)-2-(エトキシ

50

メチル) - 1H-イミダゾー [4, 5-c] キノリン-4-アミン)、IRM2 (2-メチル-1-[2-(3-ピリジン-3-イルプロポキシ)エチル]-1H-イミダゾ [4, 5-c] キノリン-4-アミン) (TLR8のアゴニスト)、IRM3 (N-(2-[2-[4-アミノ-2-(2-メトキシエチル)-1H-イミダゾ [4, 5-c] キノリン-1-イル] エトキシ] エチル)-N-メチルシクロヘキサカルボキサミド) (TLR8のアゴニスト)、CL097 (2-(エトキシメチル)-1H-イミダゾ [4, 5-c] キノリン-4-アミン) (TLR7/8のアゴニスト)、CL307 (TLR7のアゴニスト)、CL264 (TLR7のアゴニスト)、Resiquimod (TLR7/8のアゴニスト)、3M-052/MEDI9197 (TLR7/8のアゴニスト)、SD-101 (N-[(4S)-2, 5-ジオキソ-4-イミダゾリジニル]-ウレア) (TLR7/8のアゴニスト)、motolimod (2-アミノ-N, N-ジプロピル-8-[4-(ピロリジン-1-カルボニル)フェニル]-3H-1-ベンゾアゼピン-4-カルボキサミド) (TLR8のアゴニスト)、CL075 (3M002、2-プロピルチアゾロ [4, 5-c] キノリン-4-アミン) (TLR7/8のアゴニスト)、及びTLR8-506 (3H-1-ベンゾアゼピン-4-カルボン酸、2-アミノ-8-(3-シアノフェニル)-、エチルエステル) (TLR8のアゴニスト) が挙げられる。

【0115】

TLR2アゴニストの例としては、限定するものではないが、N- α -パルミトイル-S-[2, 3-ビス(パルミトイルオキシ)-(2RS)-プロピル]-L-システイン、パルミトイル-Cys((RS)-2, 3-ジ(パルミトイルオキシ)-プロピル) (「Pam3Cys」)、例えば、Pam3Cys、Pam3Cys-Ser-(Lys)4 (「Pam3Cys-SKKKK」及び「Pam₃CSK₄」としても知られる)、トリアシルリピドA (「OM-174」)、リポテイコ酸 (Lipoteichoic acid、「LTA」)、ペプチドグリカン、及びCL419 (S-(2, 3-ビス(パルミトイルオキシ)-(2RS)プロピル)-(R)-システイニルスペルミン) が挙げられる。

【0116】

TLR2/6アゴニストの例は、Pam₂CSK₄ (S-[2, 3-ビス(パルミトイルオキシ)-(2RS)-プロピル]-[R]-システイニル-[S]-セリル-[S]-リシル-[S]-リシル-[S]-リシル-[S]-リシン×3 CF₃COOH) である。

【0117】

TLR2/7アゴニストの例は、CL572 (S-(2-ミリストイルオキシエチル)-(R)-システイニル4-(6-アミノ-2-(ブチルアミノ)-8-ヒドロキシ-9H-プリン-9-イル)メチル)アニリン)、CL413 (S-(2, 3-ビス(パルミトイルオキシ)-(2RS)プロピル)-(R)-システイニル-(S)-セリル-(S)-リシル-(S)-リシル-(S)-リシル-(S)-リシル-4-(6-アミノ-2-(ブチルアミノ)-8-ヒドロキシ-9H-プリン-9-イル)メチル)アニリン)、及びCL401 (S-(2, 3-ビス(パルミトイルオキシ)-(2RS)プロピル)-(R)-システイニル4-(6-アミノ-2(ブチルアミノ)-8-ヒドロキシ-9H-プリン-9-イル)メチル)アニリン)を含む。

【0118】

図1~23は、TLRアゴニストCL264、CL401、CL413、CL419、CL553、CL572、Pam₃CSK₄、及びPam₂CSK₄が、それらのアジュバント活性を維持しながら、本発明の免疫複合体に結合できる位置を示す。具体的には、アジュバントに対してリンカーを連結させるべき位置は円で囲まれている。

【0119】

いくつかの実施形態では、アジュバント部分はイミダゾキノリン化合物である。有用なイミダゾキノリン化合物の例としては、米国特許第5, 389, 640号、同第6, 069, 149号、及び同第7, 968, 562号に記載されているものが挙げられ、これら

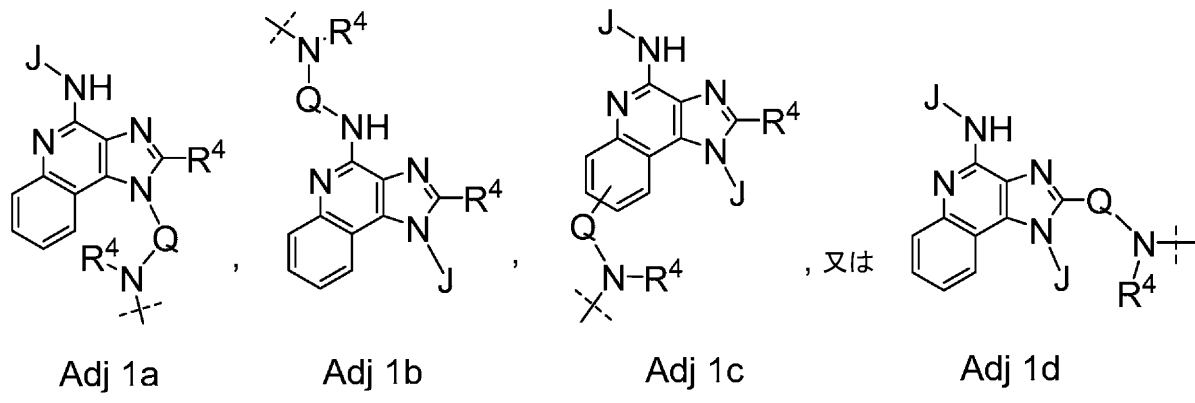
の文献は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0120】

いくつかの実施形態では、アジュバント (adjuvant、「Adj」) は、式：

【0121】

【化13】



10

【0122】

(式中、各 J は独立して、水素、OR⁴、又は R⁴ であり、各 R⁴ は、独立して、水素であるか、又は 1～8 個 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は 8 個) の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、又はヘテロアリールアルキル基であり、Q は、任意に存在し、1～8 個 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は 8 個) の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、又はヘテロアリールアルキル基であり、破線

20

【0123】

【化14】

(「/」)

【0124】

は、アジュバントの結合点を表す) のものである。

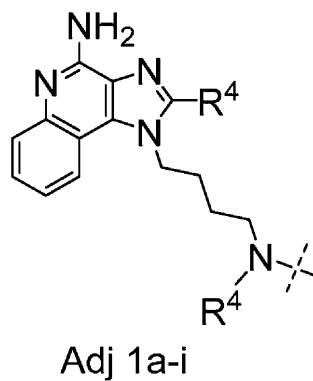
30

【0125】

特定の実施形態では、Q が存在する。特定の実施形態では、アジュバント (「Adj」) は、式：

【0126】

【化15】



40

【0127】

(式中、各 R⁴ は、独立して、水素、又は 1～8 個 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は 8 個) の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、又はヘテロアリール

50

アルキル基からなる群から選択され、破線

【0128】

【化16】

(「 $\sim$ 」)

【0129】

は、アジュバントの結合点を表す) のものである。

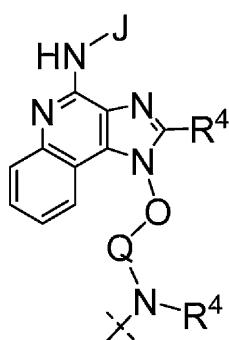
【0130】

いくつかの実施形態では、アジュバント (「Adj」) は、式：

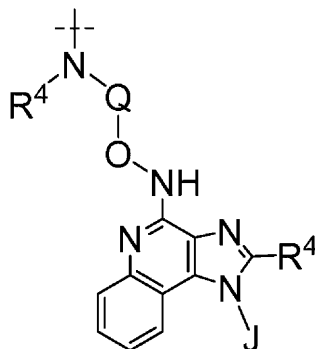
【0131】

10

【化17】

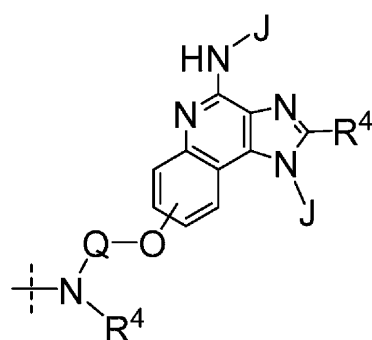


Adj 2a



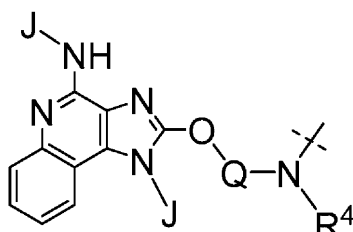
Adj 2b

20



Adj 2c

, 又は



Adj 2d

30

【0132】

(式中、Jは、水素、OR⁴、又はR⁴であり、各R⁴は、独立して、水素であるか、又は1～8個(すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は8個)の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、及びヘテロアリールアルキル基であり、Qは、1～8個(すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は8個)の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、及びヘテロアリールアルキル基からなる群から選択され、破線

40

【0133】

【化18】

(「 $\sim$ 」)

【0134】

は、アジュバントの結合点を表す) のものである。

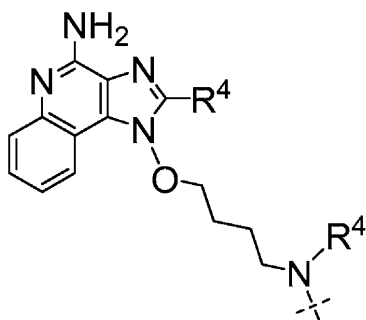
【0135】

50

特定の実施形態では、アジュバント（「Adj」）は、式：

【0136】

【化19】



Adj 2a-i

10

【0137】

（式中、各 R^4 は、独立して、水素、又は 1～8 個（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は 8 個）の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、及びヘテロアリールアルキル基からなる群から選択され、破線

【0138】

【化20】

20

（「／」）

【0139】

は、アジュバントの結合点を表す）のものである。

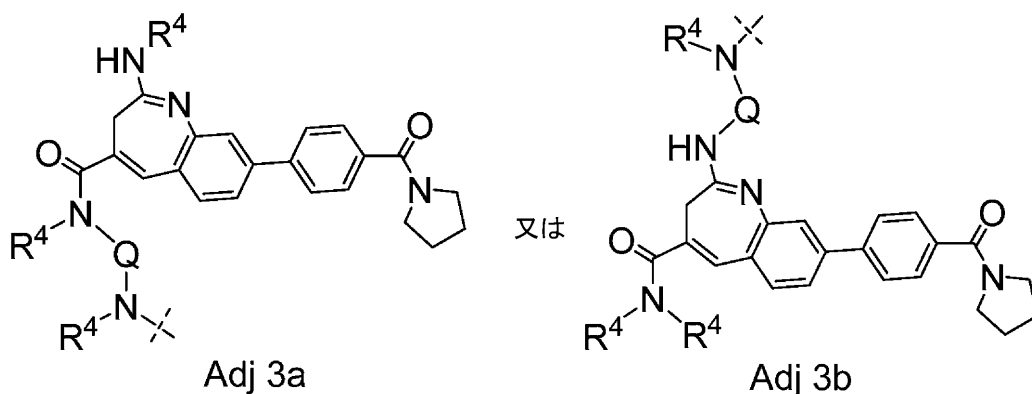
【0140】

いくつかの実施形態では、アジュバント（「Adj」）は、式：

【0141】

【化21】

30



Adj 3a

Adj 3b

40

【0142】

各 R^4 は、独立して、水素であるか、又は 1～8 個（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は 8 個）の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、又はヘテロアリールアルキル基であり、Q は、1～8 個（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は 8 個）の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、又はヘテロアリールアルキル基であり、破線

【0143】

【化 2 2】
(「 $\sim$ 」)

【0 1 4 4】

は、アジュバントの結合点を表す) のものである。

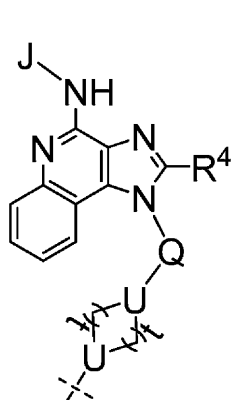
【0 1 4 5】

いくつかの実施形態では、アジュバント (「Adj」) は、式：

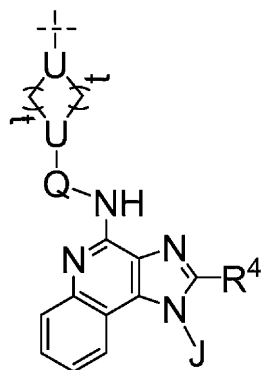
【0 1 4 6】

【化 2 3】

10

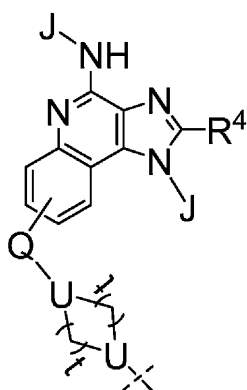


Adj 4a



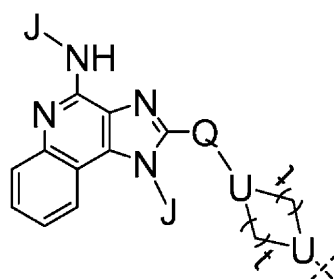
Adj 4b

20



Adj 4c

, 又は



Adj 4d

30

【0 1 4 7】

(式中、各 J は独立して、水素、OR⁴、又は R⁴ であり、各 R⁴ は、独立して、水素であるか、又は 1～8 個 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は 8 個) の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、又はヘテロアリールアルキル基であり、各 U は独立して、CH 又は N であり、少なくとも 1 つの U は N であり、各下付き文字 t は、独立して、1～3 (すなわち、1、2、又は 3) の整数であり、Q は、任意に存在し、1～8 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は 8) 個の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、又はヘテロアリールアルキル基であり、破線

40

【0 1 4 8】

【化 2 4】
(「 $\sim$ 」)

【0 1 4 9】

50

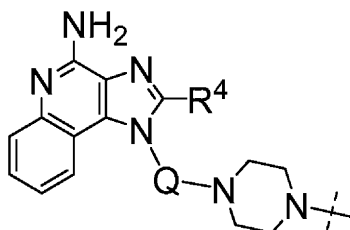
は、アジュバントの結合点を表す) のものである。

【0150】

特定の実施形態では、Qが存在する。特定の実施形態では、アジュバント(「Adj」)は、式：

【0151】

【化25】



Adj 4a-i

10

【0152】

(式中、R⁴は、水素、又は1～8(すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は8)個の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、及びヘテロアリールアルキル基からなる群から選択され、Qは、1～8(すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は8)個の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、又はヘテロアリールアルキル基であり、破線

20

【0153】

【化26】

(「」)

【0154】

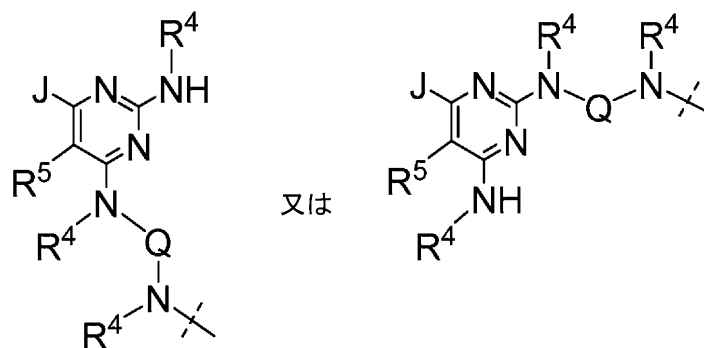
は、アジュバントの結合点を表す) のものである。

【0155】

いくつかの実施形態では、アジュバント(「Adj」)は、式：

【0156】

【化27】



Adj 5a

Adj 5b

40

【0157】

(式中、Jは、水素、OR⁴、又はR⁴であり、各R⁴は、独立して、水素であるか、又は1～8個(すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は8個)の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、又はヘテロアリールアルキル基であり、R⁵は、水素である

50

か、又は1～10（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10）個の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、又はヘテロアリールアルキル基であり、Qは、1～8個（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は8個）の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、又はヘテロアリールアルキル基であり、破線

【0158】

【化28】

(「 $\sim$ 」)

10

【0159】

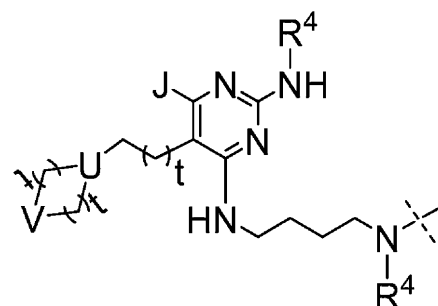
は、アジュバントの結合点を表す)のものである。

【0160】

特定の実施形態では、アジュバント(「Adj」)は、式：

【0161】

【化29】



20

Adj 5a-i

【0162】

(式中、Jは、水素、OR⁴、又はR⁴であり、各R⁴は、独立して、水素、又は1～8（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は8）個の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、及びヘテロアリールアルキル基からなる群より選択され、Uは、CH又はNであり、Vは、CH₂、O、又はNHであり、各下付き文字tは、独立して、1～3（すなわち、1、2、又は3）の整数であり、破線

30

【0163】

【化30】

(「 $\sim$ 」)

【0164】

は、アジュバントの結合点を表す)のものである。

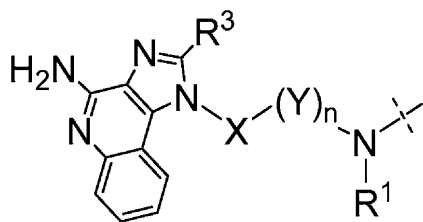
【0165】

いくつかの実施形態では、アジュバント(「Adj」)は、式：

40

【0166】

【化 3 1】



Adj 6a

10

【0 1 6 7】

(式中、 R^1 は、H 及び $C_1 \sim 4$ アルキルから選択され、 R^3 は、 $C_1 \sim 6$ アルキル及び 2～6 員ヘテロアルキルから選択され、これらはそれぞれ、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、オキソ(=O)、アルキルアミノ、アミド、アシル、ニトロ、シアノ、及びアルコキシからなる群から選択される 1 つ以上のメンバーで任意に置換され、X は、O 及び CH_2 から選択され、各 Y は独立して CHR^2 であり、式中、 R^2 は、H、OH、及び NH_2 から選択され、下付き文字 n は、1～12 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、又は 12) の整数であり、破線

【0 1 6 8】

【化 3 2】

20

(「 $\diagup$ 」)

【0 1 6 9】

は、アジュバントの結合点を表す) のものである。あるいは、 R^1 及びそれが結合している窒素原子は、5～8 員の複素環を含む連結部分を形成し得る。いくつかの実施形態では、下付き文字 n は、1～6 (すなわち、1、2、3、4、5、又は 6) の整数である。特定の実施形態では、下付き文字 n は、1～3 (すなわち、1、2、又は 3) の整数である。

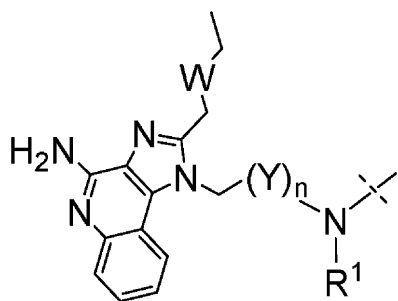
【0 1 7 0】

いくつかの実施形態では、アジュバント(「Adj」)は、式：

30

【0 1 7 1】

【化 3 3】



Adj 6a-i

40

【0 1 7 2】

(式中、W は、O 及び CH_2 からなる群から選択され、 R^1 は、H 及び $C_1 \sim 4$ アルキルから選択され、各 Y は独立して CHR^2 であり、式中、 R^2 は、H、OH、及び NH_2 から選択され、下付き文字 n は、1～12 の整数 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、又は 12) であり、破線

【0 1 7 3】

【化 3 4】
(「 $\diagup$ 」)

【0 1 7 4】

は、アジュバントの結合点を表す) のものである。あるいは、 R^1 及びそれが結合している窒素原子は、5～8 員の複素環を含む連結部分を形成し得る。いくつかの実施形態では、下付き文字 n は、1～6 (すなわち、1、2、3、4、5、又は 6) の整数である。特定の実施形態では、下付き文字 n は、1～3 (すなわち、1、2、又は 3) の整数である。

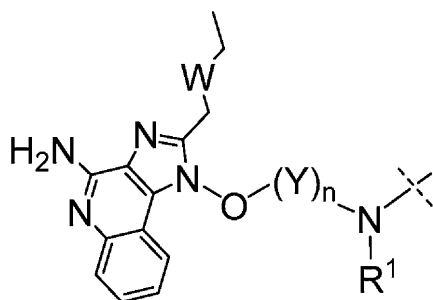
【0 1 7 5】

10

いくつかの実施形態では、アジュバント (「A d j」) は、式：

【0 1 7 6】

【化 3 5】



20

Adj 6a-ii

【0 1 7 7】

(式中、Wは、O及び CH_2 からなる群から選択され、 R^1 は、H及び $C_{1\sim 4}$ アルキルから選択され、各Yは独立して CHR^2 であり、式中、 R^2 は、H、OH、及び NH_2 から選択され、下付き文字 n は、1～12 の整数 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、又は12) であり、破線

【0 1 7 8】

30

【化 3 6】

(「 $\diagup$ 」)

【0 1 7 9】

は、アジュバントの結合点を表す) のものである。あるいは、 R^1 及びそれが結合している窒素原子は、5～8 員の複素環を含む連結部分を形成し得る。いくつかの実施形態では、下付き文字 n は、1～6 (すなわち、1、2、3、4、5、又は 6) の整数である。特定の実施形態では、下付き文字 n は、1～3 (すなわち、1、2、又は 3) の整数である。

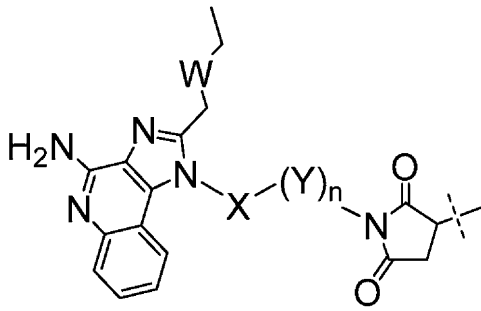
【0 1 8 0】

40

いくつかの実施形態では、アジュバント (「A d j」) は、式：

【0 1 8 1】

【化 3 7】



Adj 6a-iii

10

【0 1 8 2】

(式中、Wは、O及びCH₂からなる群から選択され、Xは、O及びCH₂から選択され、各Yは独立してCHR²であり、式中、R²は、H、OH、及びNH₂から選択され、下付き文字nは、1～12の整数(すなわち、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、又は12)であり、破線

【0 1 8 3】

【化 3 8】

(「 $\diagup$ 」)

20

【0 1 8 4】

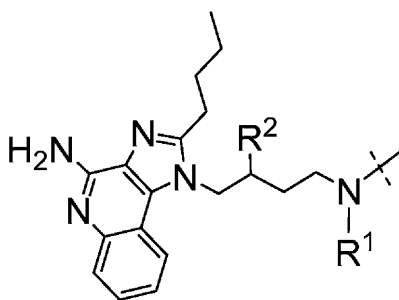
は、アジュバントの結合点を表す)のものである。いくつかの実施形態では、下付き文字nは、1～6(すなわち、1、2、3、4、5、又は6)の整数である。特定の実施形態では、下付き文字nは、1～3(すなわち、1、2、又は3)の整数である。

【0 1 8 5】

いくつかの実施形態では、アジュバント(「Adj」)は、式：

【0 1 8 6】

【化 3 9】



Adj 6a-iv

30

【0 1 8 7】

(式中、R¹は、H及びC₁～₄アルキルから選択され、R²は、H、OH、及びNH₂から選択され、破線

【0 1 8 8】

【化 4 0】

(「 $\diagup$ 」)

【0 1 8 9】

は、アジュバントの結合点を表す)のものである。

【0 1 9 0】

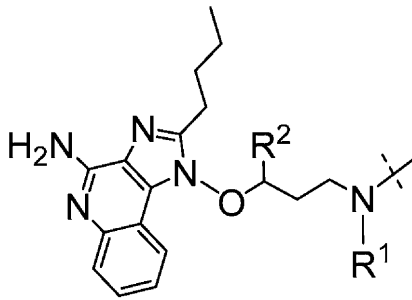
40

50

いくつかの実施形態では、アジュバント（「Adj」）は、式：

【0191】

【化41】



Adj 6a-v

10

【0192】

（式中、 R^1 は、H 及び $C_1 \sim 4$ アルキルから選択され、 R^2 は、H、OH、及び NH_2 から選択され、破線

【0193】

【化42】

（「 $\diagup$ 」）

20

【0194】

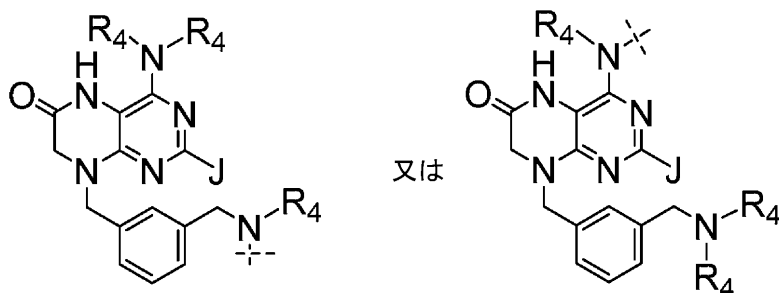
は、アジュバントの結合点を表す）のものである。

【0195】

いくつかの実施形態では、アジュバント（「Adj」）は、式：

【0196】

【化43】



Adj 7a

Adj 7b

30

【0197】

（式中、J は、水素、 OR^4 、又は R^4 であり、各 R^4 は、独立して、水素であるか、又は 1～8 個（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は 8 個）の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、又はヘテロアリールアルキル基であり、破線

40

【0198】

【化44】

（「 $\diagup$ 」）

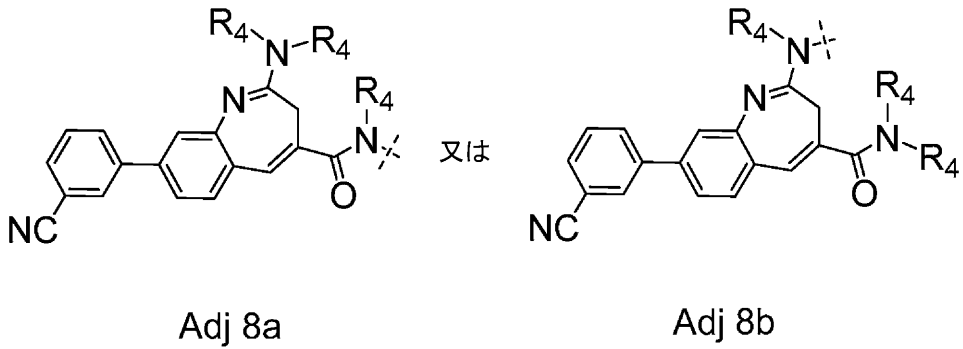
【0199】

は、アジュバントの結合点を表す）のものである。

【0200】

50

いくつかの実施形態では、アジュバント（「Adj」）は、式：
 【0201】
 【化45】



10

【0202】

（式中、各 R^4 は、独立して、水素、又は 1～8（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は 8）個の炭素単位を含むアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、又はヘテロアリールアルキル基であり、破線

【0203】

【化46】

20

（「 $\diagup$ 」）

【0204】

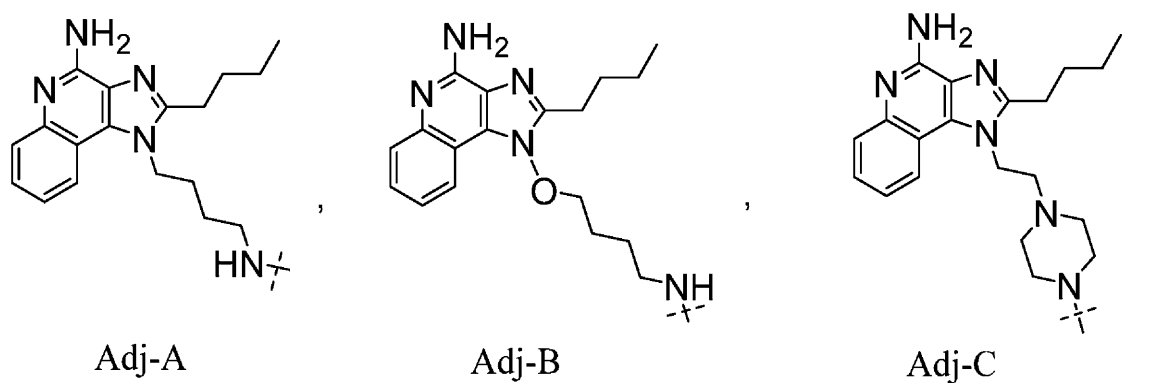
は、アジュバントの結合点を表す）のものである。

【0205】

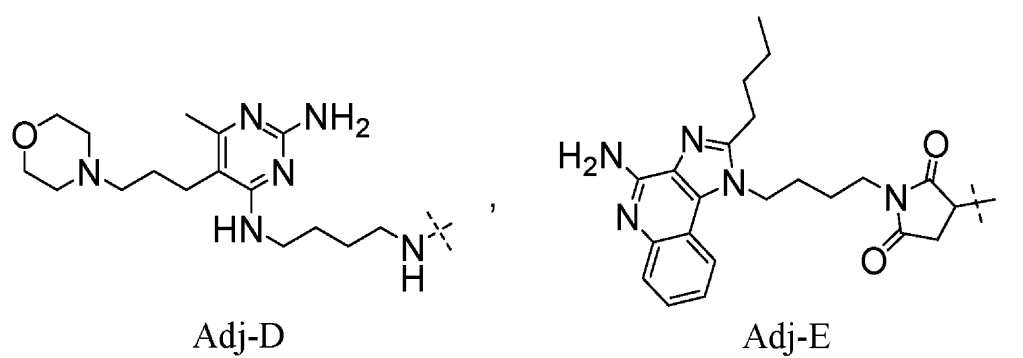
特定の実施形態では、アジュバント（「Adj」）は、

【0206】

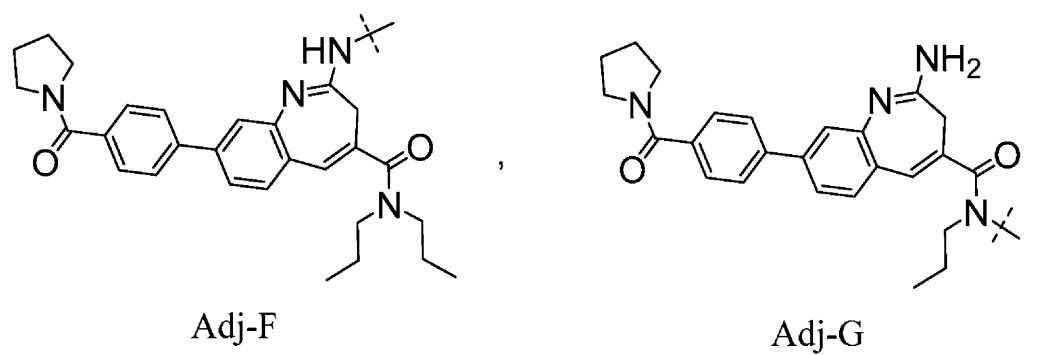
【化 4 7】



10



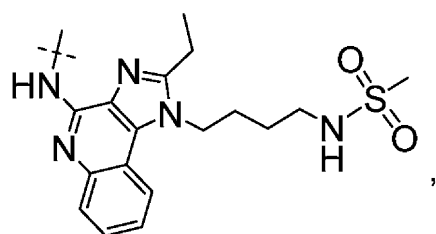
20



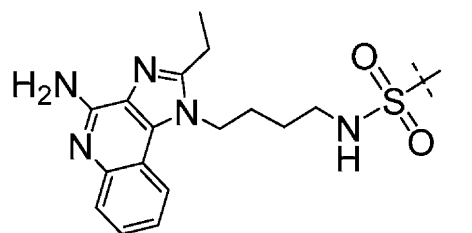
30

【 0 2 0 7 】

【化 4 8】

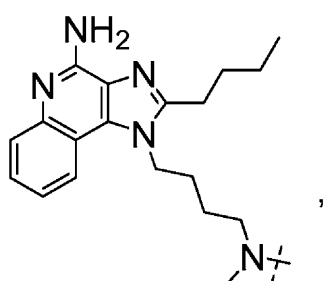


Adj-H

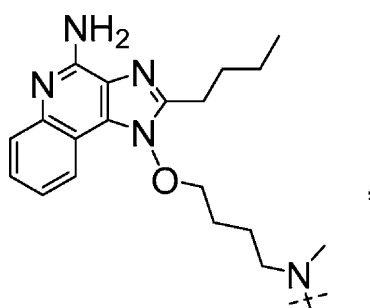


Adj-I

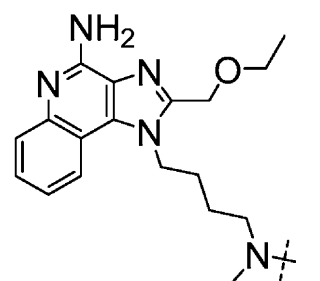
10



Adj-J

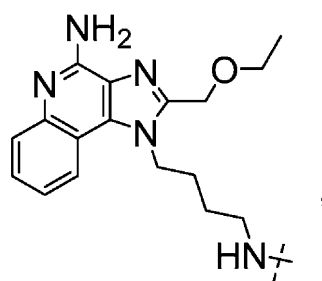


Adj-K

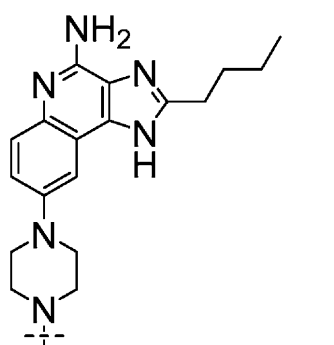


Adj-L

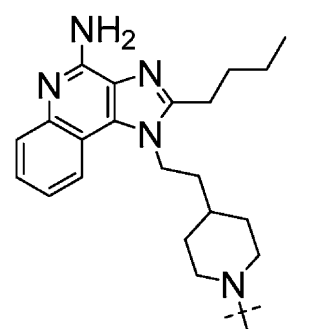
20



Adj-M

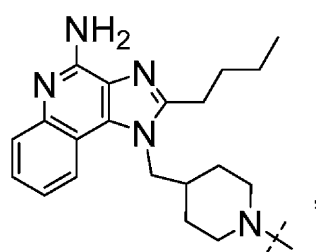


Adj-N



Adj-O

30

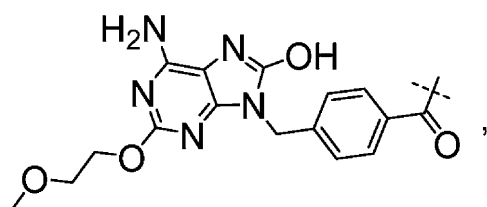


Adj-P

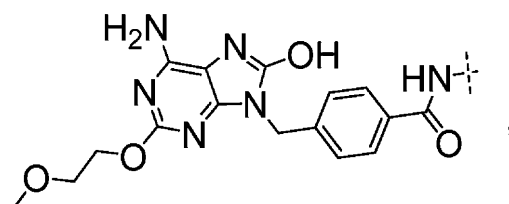
40

【 0 2 0 8 】

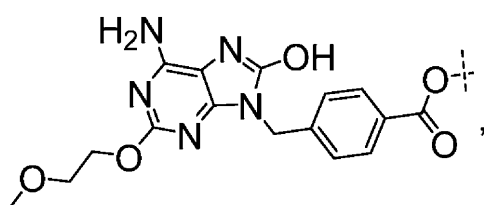
【化 4 9】



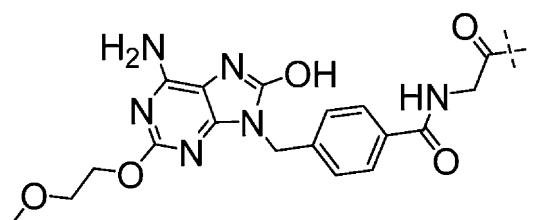
Adj-Q



Adj-R

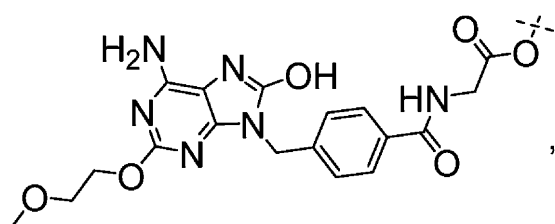


Adj-S

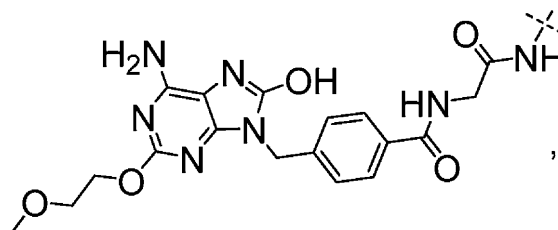


Adj-T

10

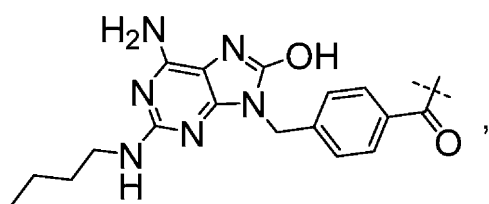


Adj-U

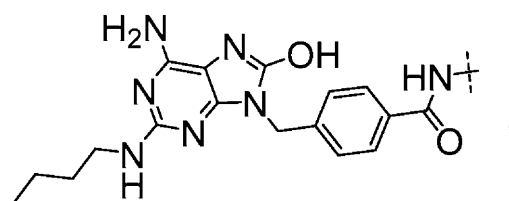


Adj-V

20



Adj-W

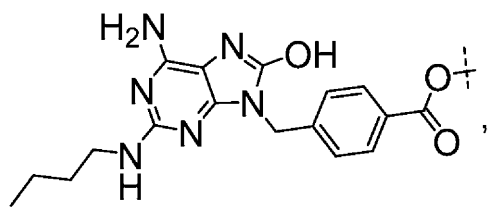


Adj-X

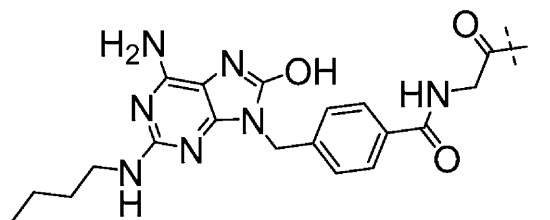
30

【 0 2 0 9 】

【化 5 0】

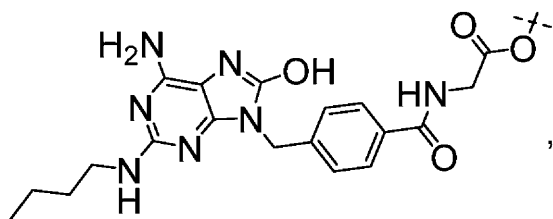


Adj-Y

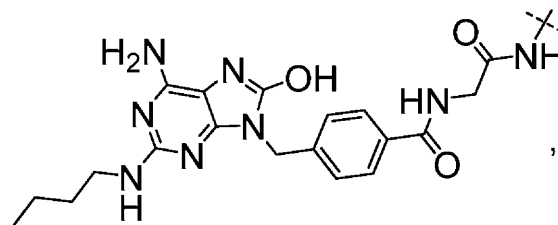


Adj-Z

10

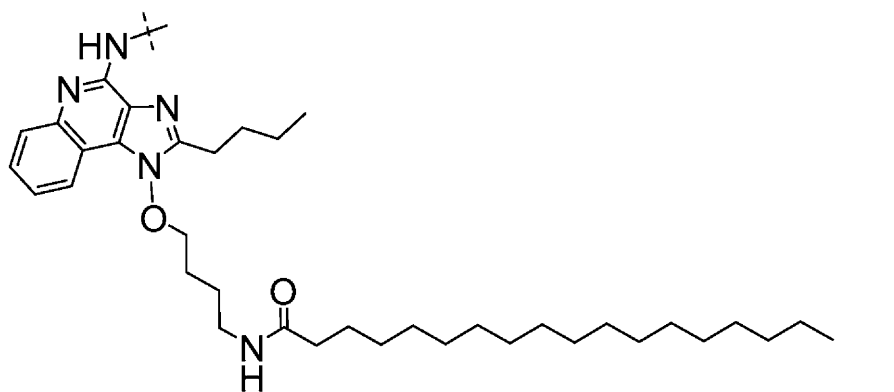


Adj-AA



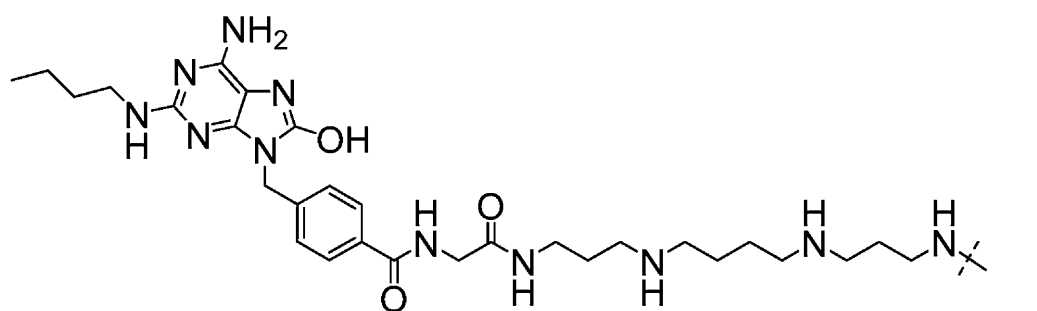
Adj-BB

20



Adj-CC

30

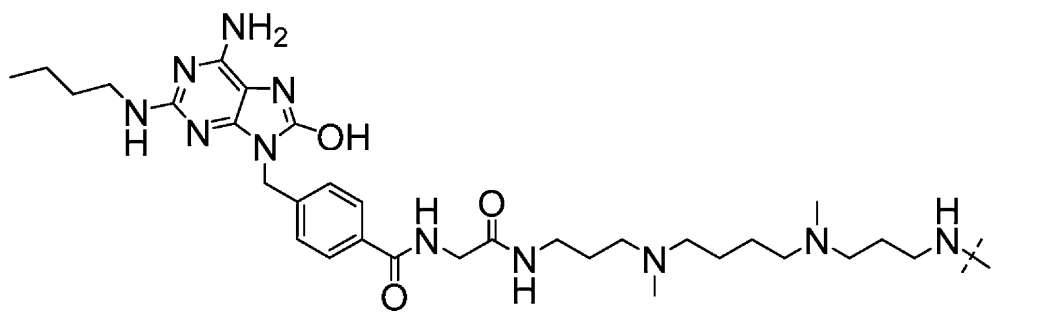


Adj-DD

40

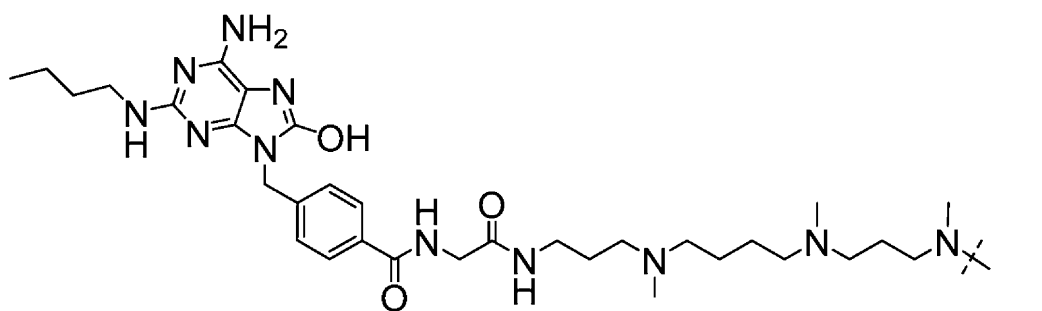
【 0 2 1 0】

【化 5 1】



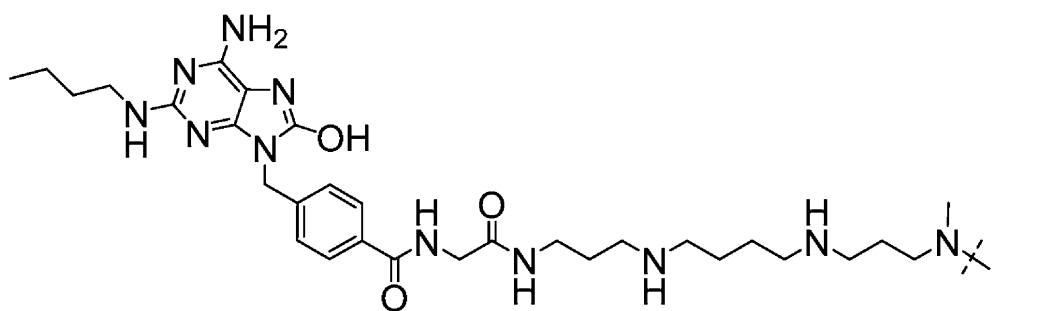
10

Adj-EE



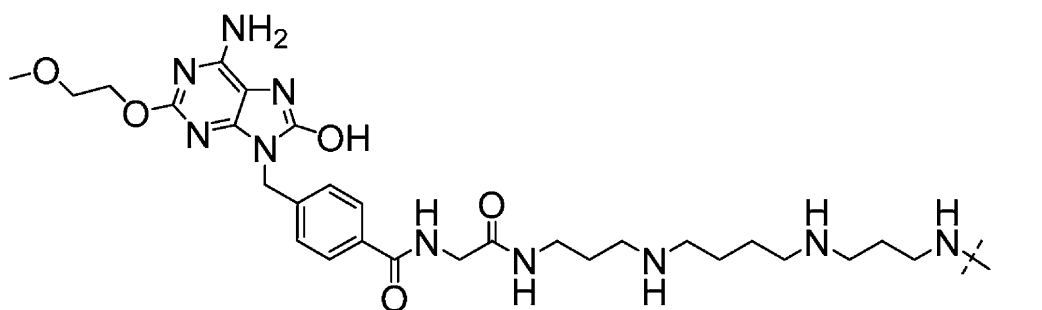
20

Adj-FF



30

Adj-GG

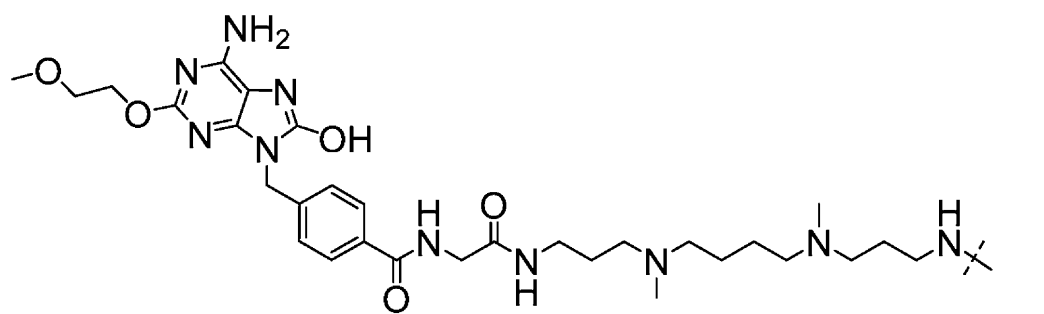


40

Adj-HH

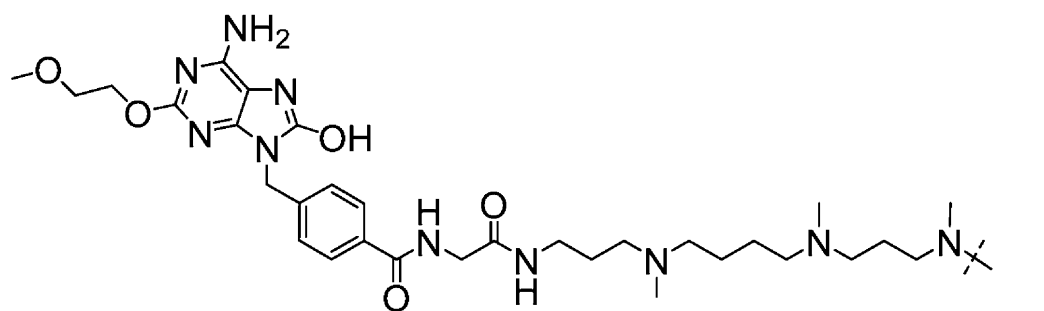
【 0 2 1 1】

【化 5 2】



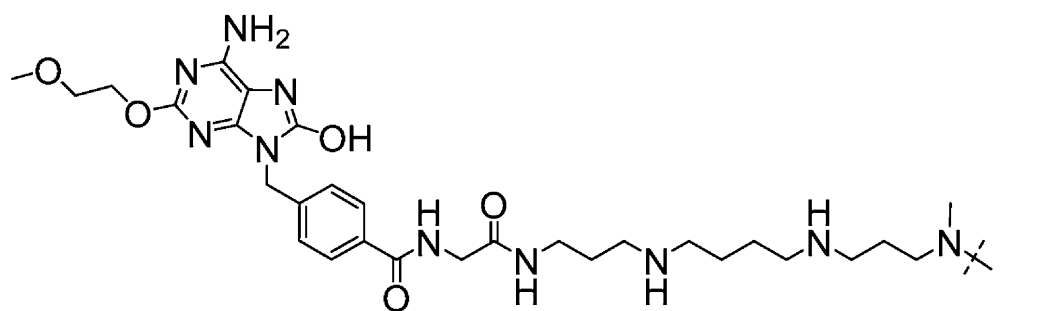
Adj-II

10



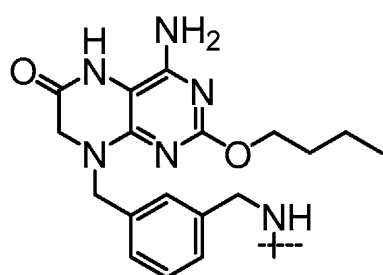
Adj-JJ

20

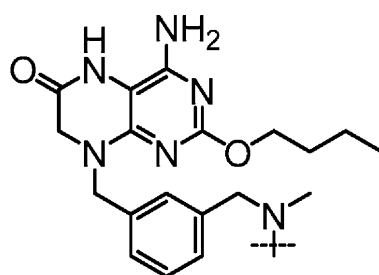


Adj-KK

30



Adj-LL



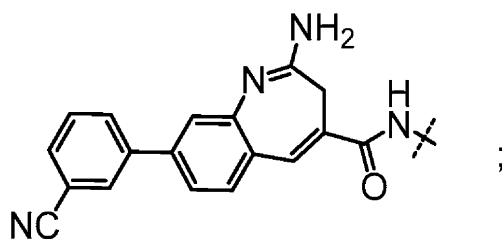
Adj-MM

, 又は

40

【 0 2 1 2 】

【化 5 3】



Adj-NN

10

【0 2 1 3】

(式中、破線

【0 2 1 4】

【化 5 4】

(「 $\diagup$ 」)

【0 2 1 5】

は、アジュバントの結合点を表す) のものである。

【0 2 1 6】

いくつかの実施形態では、アジュバントは、蛍光色素分子ではない。いくつかの実施形態では、アジュバントは、放射線診断用化合物ではない。いくつかの実施形態では、アジュバントは、放射線治療用化合物ではない。いくつかの実施形態では、アジュバントは、チューブリン阻害剤ではない。いくつかの実施形態では、アジュバントは、DNA 架橋剤／アルキル化剤ではない。いくつかの実施形態では、アジュバントは、トポイソメラーゼ阻害剤ではない。

20

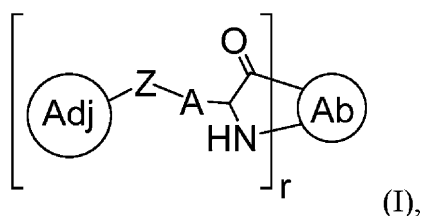
リンカー

【0 2 1 7】

アジュバント部分を抗体に共有結合させる連結部分を含有する、本発明の免疫複合体。いくつかの実施形態では、免疫複合体は、式 I :

【0 2 1 8】

【化 5 5】



30

【0 2 1 9】

(式中、A は、抗体中の非修飾アミノ酸側鎖又は抗体中の修飾アミノ酸側鎖であり、Ab は、アミノ酸側鎖 A を含有する抗体の残部であり、Z は連結部分であり、Adj はアジュバント部分であり、下付き文字 r は 1 ~ 10 の整数である) による構造を有する。

40

【0 2 2 0】

関連する一態様では、本発明は、本明細書に記載されるような複数の免疫複合体を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、免疫複合体当たりのアジュバント部分の平均の数は、約 1 ~ 約 10 (例えば、約 1 ~ 約 4) の範囲である。

【0 2 2 1】

複合体中のアジュバント部分は、蛋白質修飾のための様々な化学的性質を使用して抗体に共有結合することができ、上記の連結部分は、蛋白質官能基 (すなわち、アミノ酸側鎖) と反応性リンカー基を有する試薬との反応から生じる。多種多様なこのような試薬が当該技術分野において既知である。このような試薬の例としては、N-ヒドロキシスクシン

50

イミジル（NH S）エステル及びN－ヒドロキシスルホスクシンイミジル（スルホ－NH S）エステル（アミン反応性）；カルボジイミド（アミン及びカルボキシル反応性）；ヒドロキシメチルホスフィン（アミン反応性）；マレイミド（チオール反応性）；N－ヨードアセトアミド（チオール反応性）などのハロゲン化アセトアミド；アリールアジド（一級アミン反応性）、フッ素化アリールアジド（炭素－水素（C－H）挿入による反応）；ペンタフルオロフェニル（pentafluorophenyl、PF P）エステル（アミン反応性）；テトラフルオロフェニル（tetrafluorophenyl、TF P）エステル（アミン反応性）；イミドエステル（アミン反応性）；イソシアネート（ヒドロキシル反応性）；ビニルスルホン（チオール、アミン、及びヒドロキシル反応性）；ピリジルジスルフィド（チオール反応性）；及びベンゾフェノン誘導体（C－H結合挿入による反応）が挙げられるが、これらに限定されない。更なる試薬としては、Hermanson、Bioconjugate Techniques、2nd Edition、Academic Press、2008．に記載されているものが挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0222】

リンカーは、リンカーが抗体構築物及びアジュバント部分に共有結合しているとき、抗体構築物及びアジュバント部分の機能が維持されるように、任意の好適な長さを有することができる。リンカーは、約3 Å以上、例えば、約4 Å以上、約5 Å以上、約6 Å以上、約7 Å以上、約8 Å以上、約9 Å以上、又は約10 Å以上の長さを有し得る。あるいは、又はそれに加えて、リンカーは、約50 Å以下、例えば、約45 Å以下、約40 Å以下、約35 Å以下、約30 Å以下、約25 Å以下、約20 Å以下、又は約15 Å以下の長さを有してもよい。したがって、リンカーは、前述の端点のうちのいずれか2つによって画定される長さを有することができる。リンカーは、約3 Å～約50 Å、例えば、約3 Å～約45 Å、約3 Å～約40 Å、約3 Å～約35 Å、約3 Å～約30 Å、約3 Å～約25 Å、約3 Å～約20 Å、約3 Å～約15 Å、約5 Å～約50 Å、約5 Å～約25 Å、約5 Å～約20 Å、約10 Å～約50 Å、約10 Å～約20 Å、約5 Å～約30 Å、又は約5 Å～約15 Åの長さを有することができる。特定の実施形態では、リンカーは、約3 Å～約20 Åの長さを有する。

【0223】

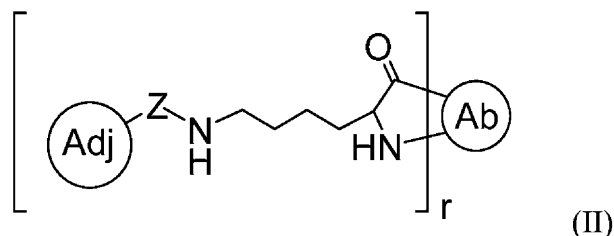
いくつかの実施形態では、リンカーは、生理学的条件下で切断不可能である。

【0224】

いくつかの実施形態では、免疫複合体は、式II：

【0225】

【化56】

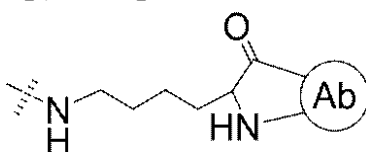


【0226】

（式中、

【0227】

【化57】

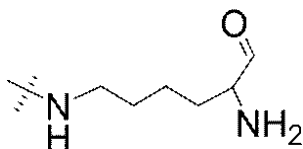


【0228】

は、抗体のリジン残基を表す

【0229】

【化58】



【0230】

残基を有する抗体であり、

【0231】

【化59】



【0232】

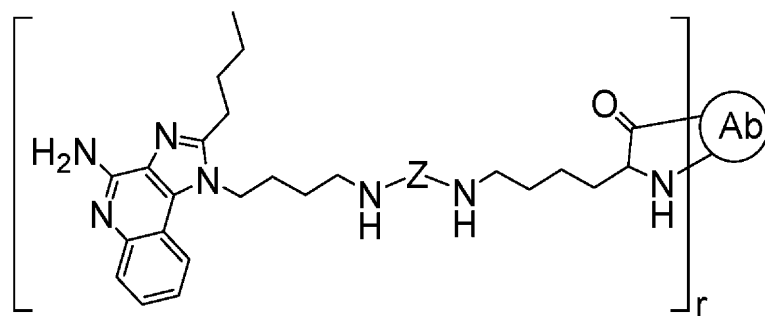
はZに対する結合点を表し、Adjは、アジュバントであり、下付き文字rは、1～10の整数であり、Zは、エチレングリコール基又はグリシン残基を有する二価の連結部分である）による構造を有する。Zは、好ましくは、アミド結合、C－N単結合、C－O単結合、又はC－C単結合を介してアジュバントに結合し、アミド結合又はC－N単結合を介して抗体に結合する。いくつかの実施形態では、Zは、アジュバントの窒素基及び抗体の窒素基に結合する。このような実施形態では、Zは、アミド結合、C－N単結合、又はこれらの組み合わせを介して隣接する窒素基に結合する。

【0233】

特定の実施形態では、本発明は、式IIa：

【0234】

【化60】



(IIa)

【0235】

(式中、

Abは抗体であり、

下付き文字rは、1～10の整数であり、

Zは、エチレングリコール基又はグリシン残基を含む二価連結部分である）による構造を有する。Zは、好ましくは、アミド結合、C－N単結合、C－O単結合、又はC－C単結合を介してアジュバントに結合し、アミド結合又はC－N単結合を介して抗体に結合する。いくつかの実施形態では、Zは、アジュバントの窒素基及び抗体の窒素基に結合する。このような実施形態では、Zは、アミド結合、C－N単結合、又はこれらの組み合わせを介して隣接する窒素基に結合する。

【0236】

いくつかの実施形態では、Zは、ポリ（エチレングリコール）基を含む。特定の実施形態では、Zは、少なくとも2個のエチレングリコール基（例えば、少なくとも3個のエチレングリコール基、少なくとも4個のエチレングリコール基、少なくとも5個のエチレングリコール基、少なくとも6個のエチレングリコール基、少なくとも7個のエチレングリコール基、少なくとも8個のエチレングリコール基、少なくとも9個のエチレングリコール基、少なくとも10個のエチレングリコール基、少なくとも11個のエチレングリコー

ル基、少なくとも 1 2 個のエチレングリコール基、少なくとも 1 3 個のエチレングリコール基、少なくとも 1 4 個のエチレングリコール基、少なくとも 1 5 個のエチレングリコール基、少なくとも 1 6 個のエチレングリコール基、少なくとも 1 7 個のエチレングリコール基、少なくとも 1 8 個のエチレングリコール基、少なくとも 1 9 個のエチレングリコール基、少なくとも 2 0 個のエチレングリコール基、少なくとも 2 1 個のエチレングリコール基、少なくとも 2 2 個のエチレングリコール基、少なくとも 2 3 個のエチレングリコール基、少なくとも 2 4 個のエチレングリコール基、又は少なくとも 2 5 個のエチレングリコール基)を含む。特定の実施形態において、Z は、ジ(エチレングリコール)基、トリ(エチレングリコール)基、又はテトラ(エチレングリコール)基、5 個のエチレングリコール基、6 個のエチレングリコール基、8 個のエチレングリコール基、1 2 個のエチレングリコール基、2 4 個のエチレングリコール基、又は 2 5 個のエチレングリコール基を含む。

【 0 2 3 7 】

いくつかの実施形態では、Zはグリシン残基を含む。特定の実施形態では、Zは、少なくとも2個のグリシン残基（例えば、少なくとも3個のグリシン残基、少なくとも4個のグリシン残基、少なくとも5個のグリシン残基、少なくとも6個のグリシン残基、少なくとも7個のグリシン残基、少なくとも8個のグリシン残基、少なくとも9個のグリシン残基、少なくとも10個のグリシン残基、少なくとも11個のグリシン残基、少なくとも12個のグリシン残基、少なくとも13個のグリシン残基、少なくとも14個のグリシン残基、少なくとも15個のグリシン残基、少なくとも16個のグリシン残基、少なくとも17個のグリシン残基、少なくとも18個のグリシン残基、少なくとも19個のグリシン残基、少なくとも20個のグリシン残基、少なくとも21個のグリシン残基、少なくとも22個のグリシン残基、少なくとも23個のグリシン残基、少なくとも24個のグリシン残基、又は少なくとも25個のグリシン残基）を含む。特定の実施形態では、Zは、2個のグリシン残基、3個のグリシン残基、4個のグリシン残基、5個のグリシン残基、6個のグリシン残基、8個のグリシン残基、12個のグリシン残基、24個のグリシン残基、又は25個のグリシン残基を含む。

【 0 2 3 8 】

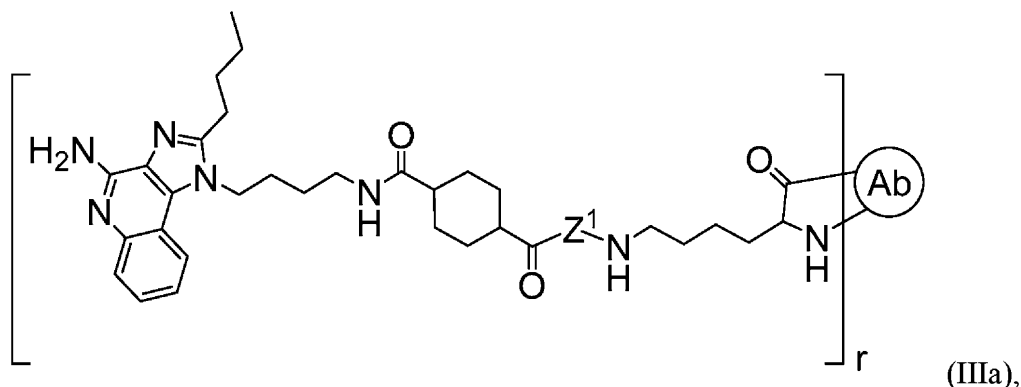
いくつかの実施形態では、Zは、二価シクロヘキシレン基を更に含む。

【 0 2 3 9 】

いくつかの実施形態では、免疫複合体は、式 I I I a :

【 0 2 4 0 】

【化 6 1】

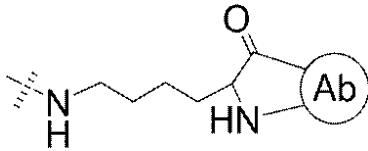


【 0 2 4 1 】

(式中、

【 0 2 4 2 】

【化 6 2】

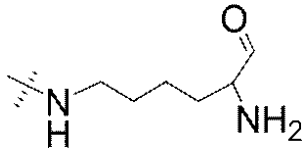


【0 2 4 3】

は、抗体のリジン残基を表す

【0 2 4 4】

【化 6 3】



【0 2 4 5】

残基を有する抗体であり、

【0 2 4 6】

【化 6 4】



【0 2 4 7】

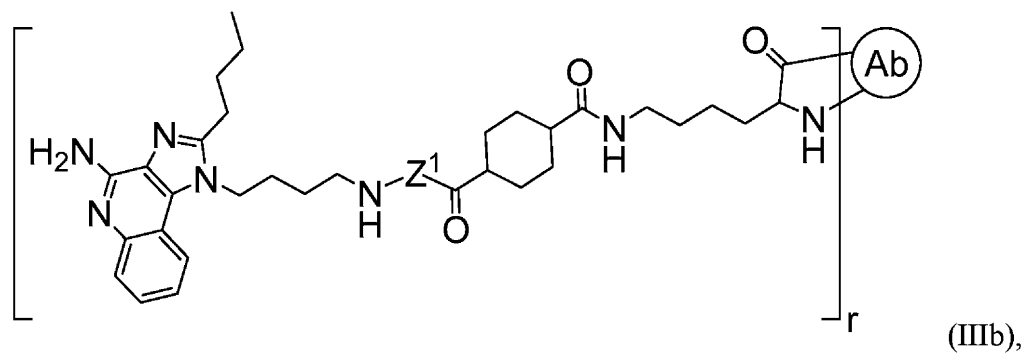
は、 Z^1 に対する結合点を表し、 Z^1 は、少なくとも 1 つのエチレングリコール基又は少なくとも 1 つのグリシン残基を含む) による構造を有する。

【0 2 4 8】

いくつかの実施形態では、免疫複合体は、式 III b :

【0 2 4 9】

【化 6 5】

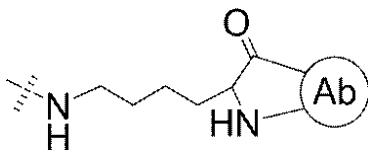


【0 2 5 0】

(式中、

【0 2 5 1】

【化 6 6】

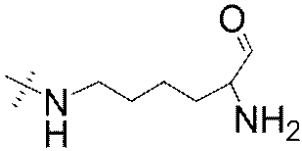


【0 2 5 2】

は、抗体のリジン残基を表す

【0 2 5 3】

【化 6 7】



【0 2 5 4】

残基を有する抗体であり、

【0 2 5 5】

【化 6 8】



10

【0 2 5 6】

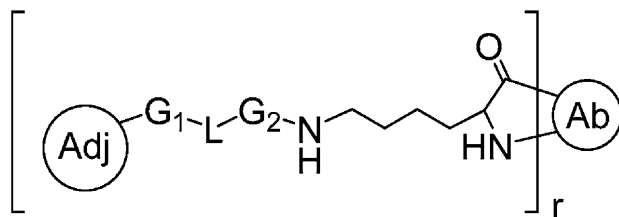
は、Z¹ に対する結合点を表し、Z¹ は、少なくとも 1 つのエチレングリコール基又は少なくとも 1 つのグリシン残基を含み、Z¹ は、少なくとも 1 つのエチレングリコール基又は少なくとも 1 つのグリシン残基を含む) による構造を有する。

【0 2 5 7】

いくつかの実施形態では、免疫複合体は、式 I V :

【0 2 5 8】

【化 6 9】



20

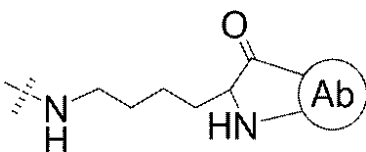
(IV)

【0 2 5 9】

(式中、

【0 2 6 0】

【化 7 0】

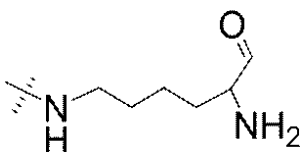


【0 2 6 1】

は、抗体のリジン残基を表す

【0 2 6 2】

【化 7 1】



40

【0 2 6 3】

残基を有する抗体であり、

【0 2 6 4】

【化 7 2】



【0 2 6 5】

50

は、 G_2 に対する結合点を表し、Adj はアジュバントであり、 G_1 は、 CH_2 、 $C=O$ 、又は結合であり、 G_2 は、 CH_2 、 $C=O$ 、又は結合であり、L はリンカーであり、下付き文字 r は 1～10（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは 10）の整数である）による構造を有するか、又はその薬学的に許容される塩である。式 I V の免疫複合体の特定の実施形態では、抗体はチオール修飾されたリジン側鎖を含有しない。

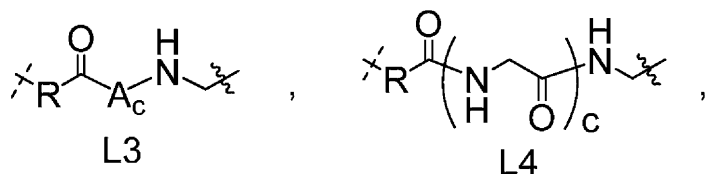
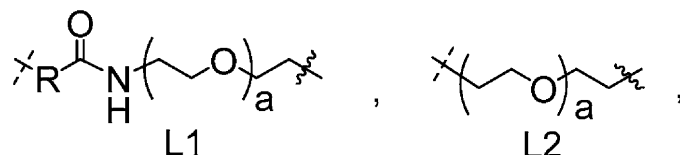
【0266】

いくつかの実施形態では、L は、以下：

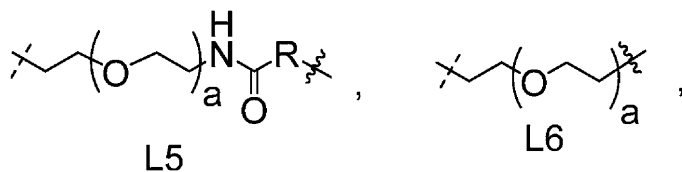
【0267】

【化73】

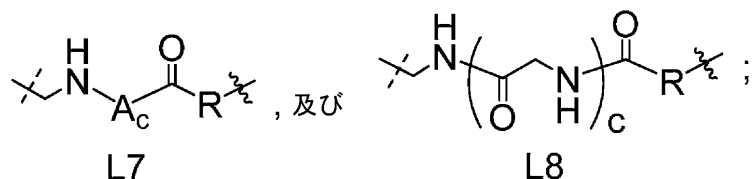
10



20



30



【0268】

（式中、R は、任意に存在し、1～8 個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、a は、1～40 の整数であり、各 A は、独立して、任意のアミノ酸から選択され、下付き文字 c は、1～25 の整数であり、破線

40

【0269】

【化74】

(「 $\diagup$ 」)

【0270】

は、 G_1 に対する結合点を表し、波線

【0271】

【化75】

(「 $\sim$ 」)

50

【0272】

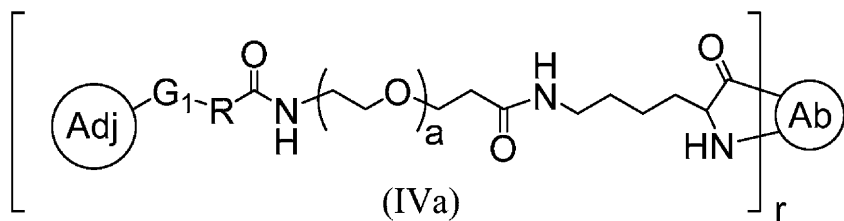
は、 G_2 に対する結合点を表す) から選択される。特定の実施形態では、 a は、2～25の整数である。特定の実施形態では、 c は、2～8の整数である。

【0273】

いくつかの実施形態では、免疫複合体は、式IVa：

【0274】

【化76】



10

【0275】

(式中、 Ab は、本明細書に定義されたとおりであり、 Adj は、アジュバントであり、 G_1 は、 CH_2 、 $C=O$ 、又は結合であり、 R は、任意に存在し、1～8個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、下付き文字 a は、1～40の整数であり、下付き文字 r は、1～10 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10) の整数である) による構造を有するか、又はその薬学的に許容される塩である。特定の実施形態では、 a は、2～25の整数である。

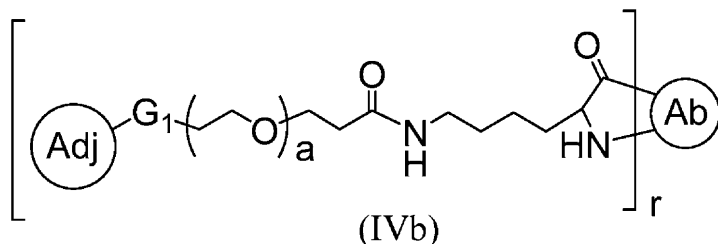
20

【0276】

いくつかの実施形態では、免疫複合体は、式IVb：

【0277】

【化77】



30

【0278】

(式中、 Ab は、本明細書に定義されたとおりであり、 Adj は、アジュバントであり、 G_1 は、 CH_2 、 $C=O$ 、又は結合であり、下付き文字 a は、1～40の整数であり、下付き文字 r は、1～10 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10) の整数である) による構造を有するか、又はその薬学的に許容される塩である。特定の実施形態では、 a は、2～25の整数である。

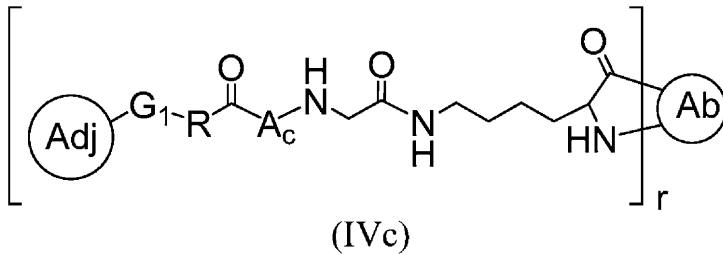
【0279】

いくつかの実施形態では、免疫複合体は、式IVc：

【0280】

40

【化 7 8】



【0 2 8 1】

10

(式中、A b は、本明細書に定義されるとおりであり、A d j は、アジュバントであり、 G_1 は、 CH_2 、 $C=O$ 、又は結合であり、R は、任意に存在し、1～8 個の炭素単位を含む直鎖又は分枝鎖、環状又は直線状、飽和又は不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、各 A は、独立して、任意のアミノ酸から選択され、下付き文字 c は、1～25 の整数であり、下付き文字 r は、1～10 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10) の整数である) による構造を有するか、又はその薬学的に許容される塩である。特定の実施形態では、c は、2～8 の整数である。

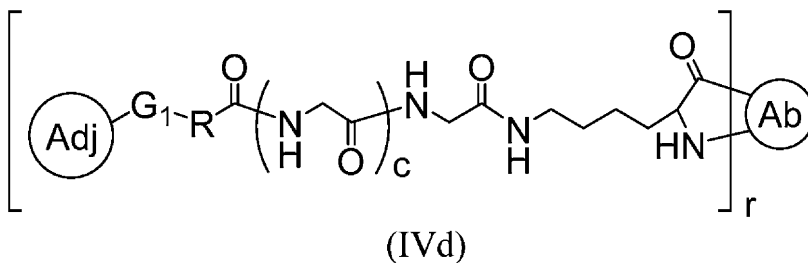
【0 2 8 2】

いくつかの実施形態では、免疫複合体は、式 I V d :

【0 2 8 3】

20

【化 7 9】



【0 2 8 4】

30

(式中、A b は、本明細書に定義されるとおりであり、A d j は、アジュバントであり、 G_1 は、 CH_2 、 $C=O$ 、又は結合であり、R は、任意に存在し、1～8 個の炭素単位を含む直鎖又は分枝鎖、環状又は直線状、飽和又は不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、下付き文字 c は、1～25 の整数であり、下付き文字 r は、1～10 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10) の整数である) による構造を有するか、又はその薬学的に許容される塩である。特定の実施形態では、c は、2～8 の整数である。

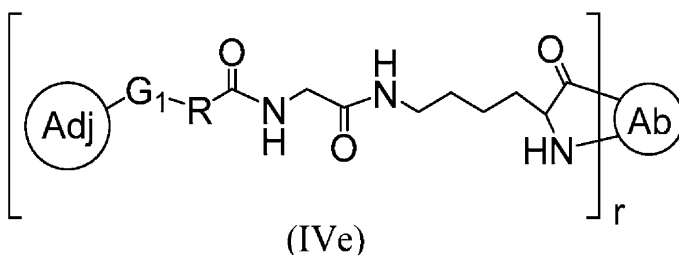
【0 2 8 5】

いくつかの実施形態では、免疫複合体は、式 I V e による構造を有する。

【0 2 8 6】

40

【化 8 0】



【0 2 8 7】

50

(式中、A b は、本明細書に定義されるとおりであり、A d j は、アジュバントであり、 G_1 は、 CH_2 、 $C=O$ 、又は結合であり、R は、任意に存在し、1～8 個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、下付き文字 r は、1～10（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10）の整数である）による構造を有するか、又はその薬学的に許容される塩である。

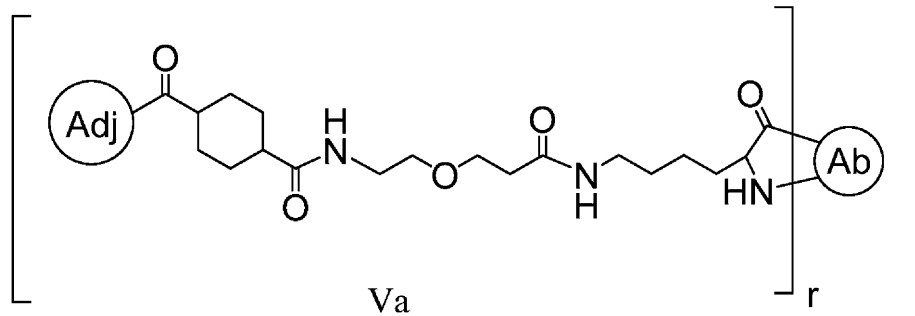
【0288】

したがって、免疫複合体は、式 V a ～式 V f f：

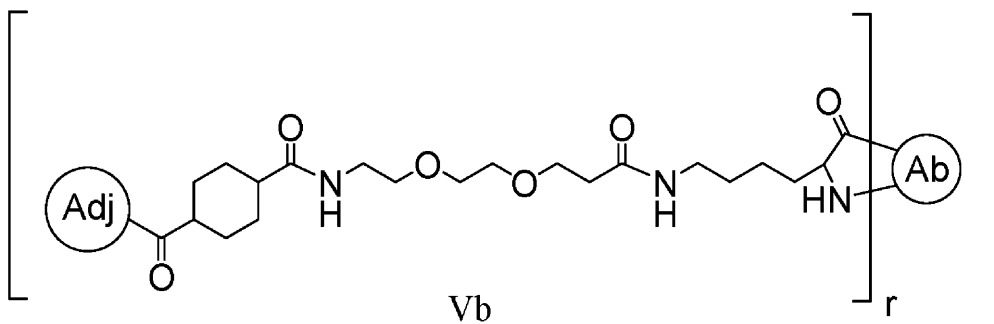
【0289】

【化81】

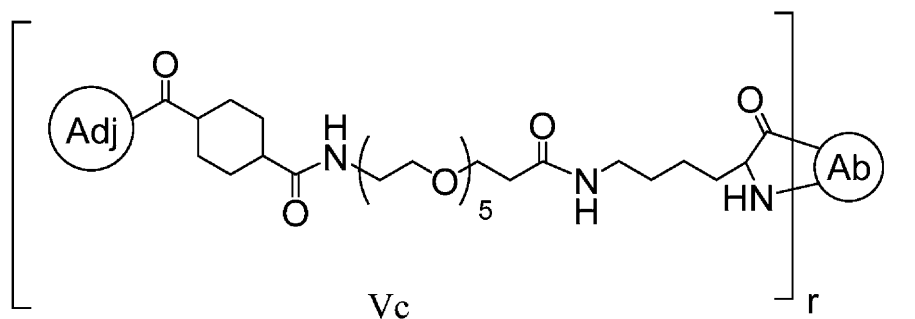
10



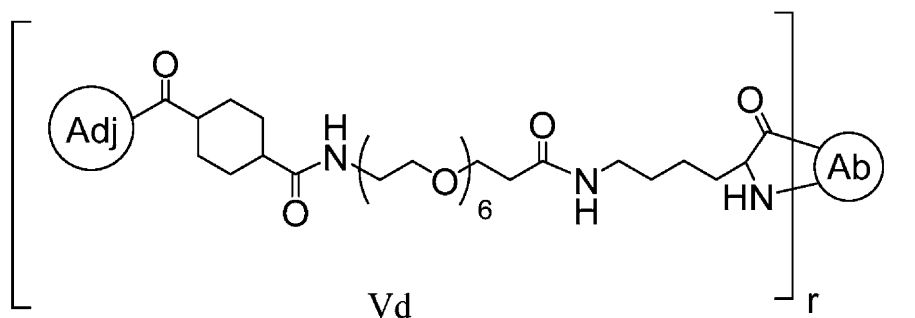
20



30



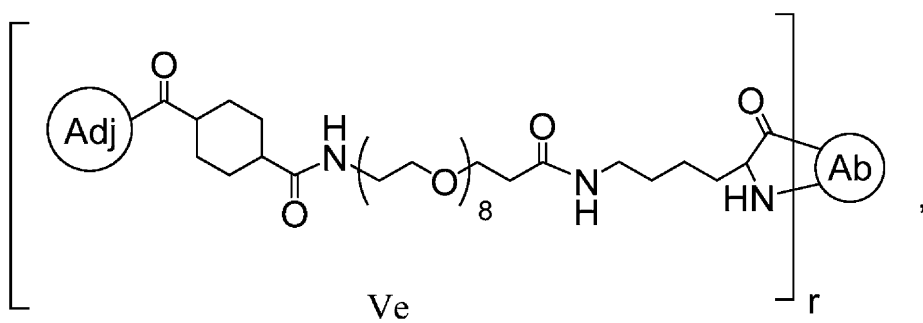
40



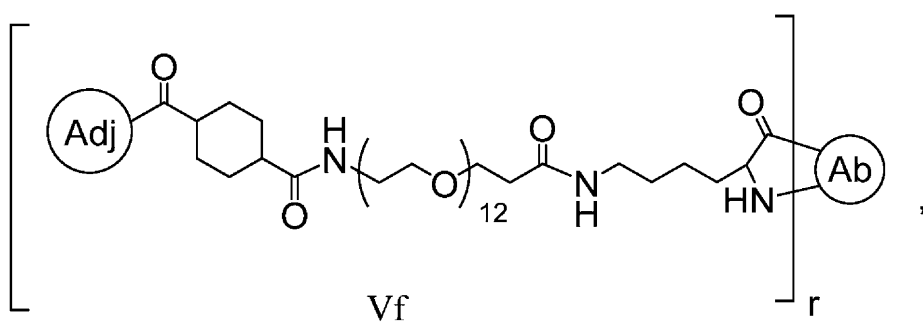
50

【 0 2 9 0 】

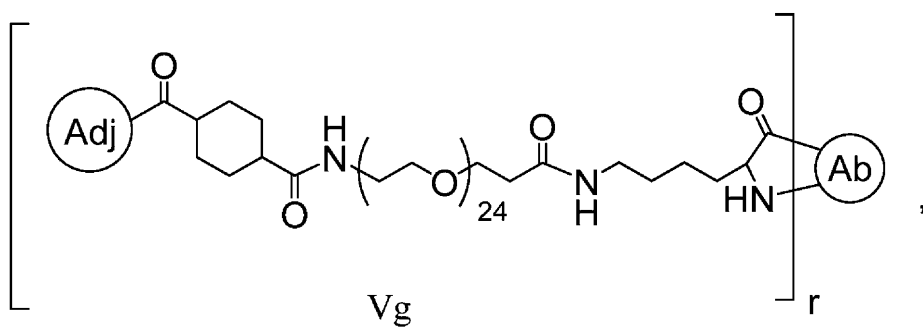
【 化 8 2 】



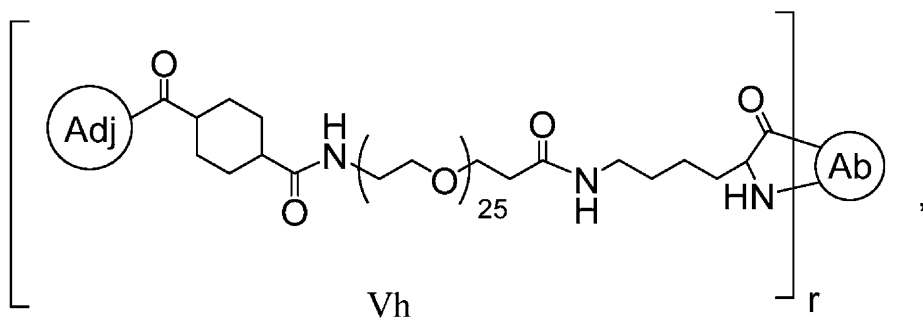
10



20



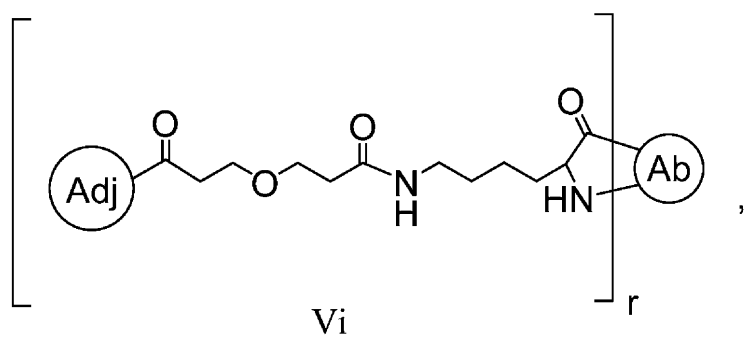
30



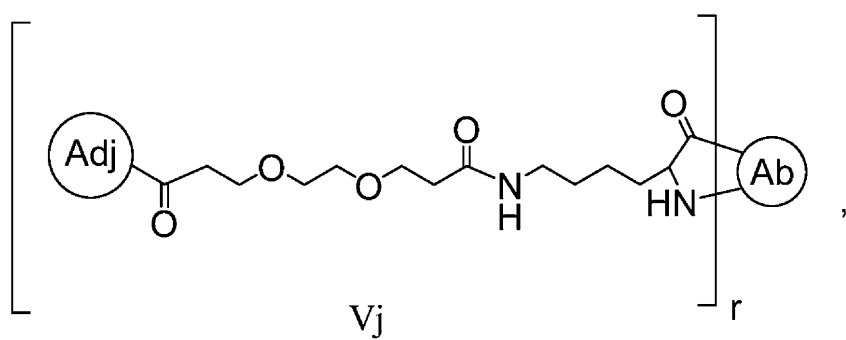
40

【 0 2 9 1 】

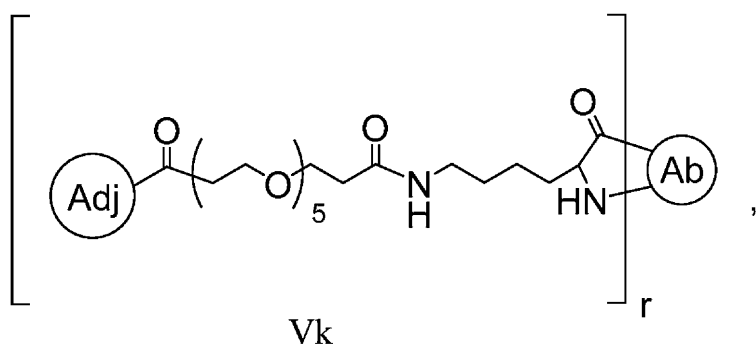
【化 8 3】



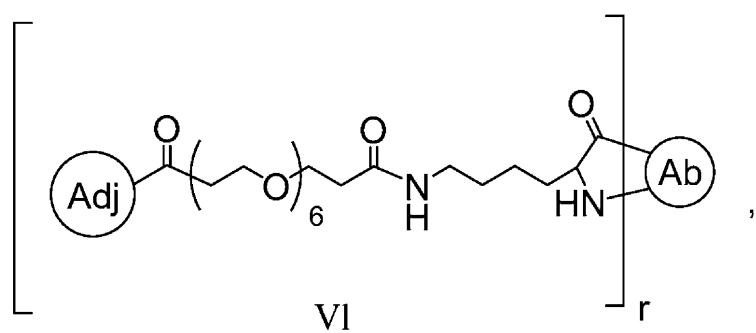
10



20



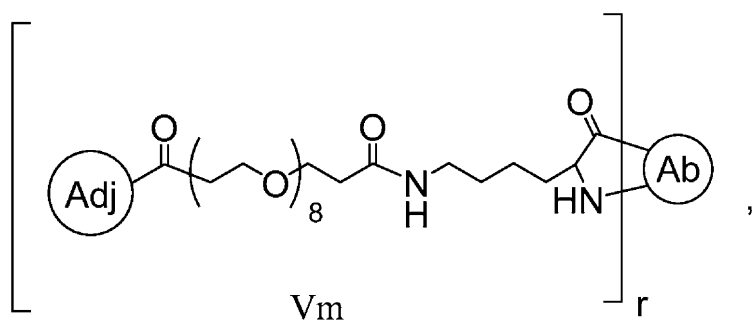
30



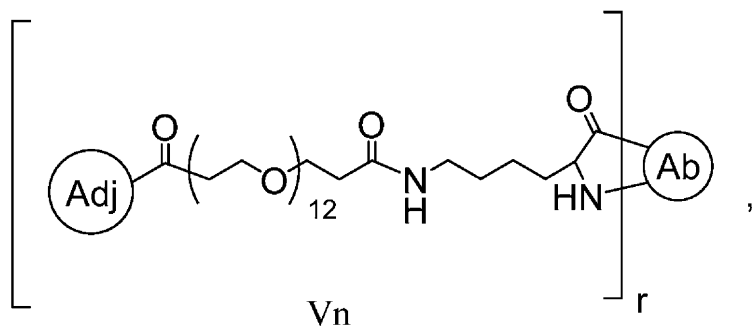
40

【 0 2 9 2】

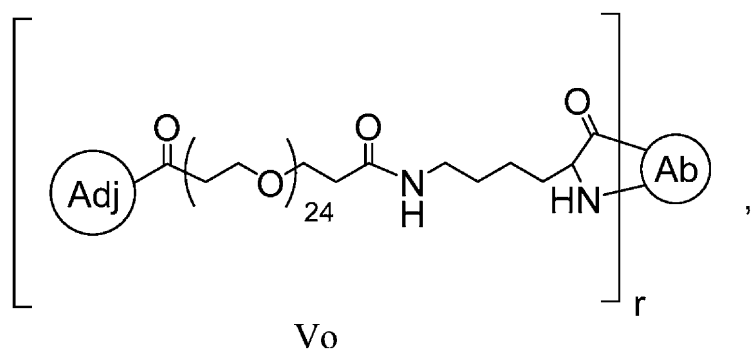
【化 8 4】



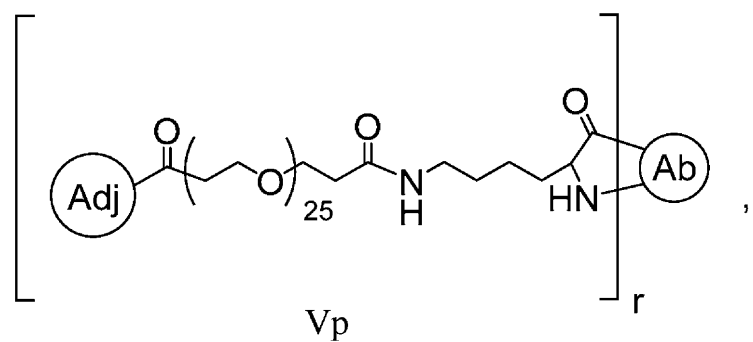
10



20



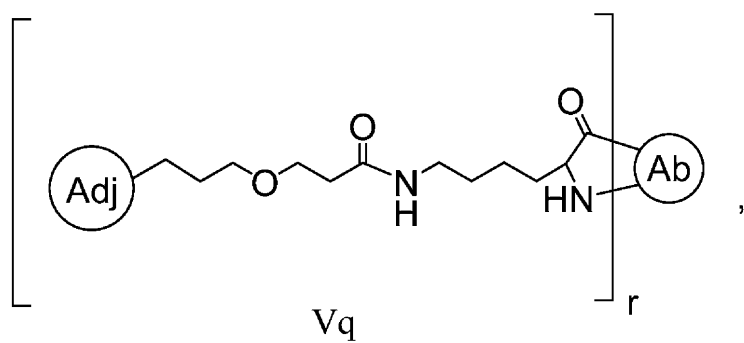
30



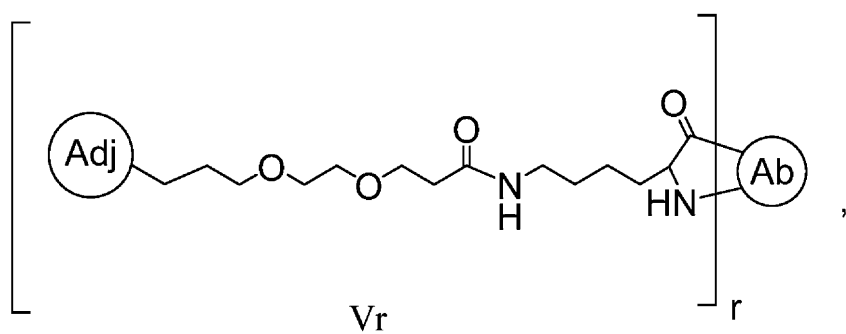
40

【 0 2 9 3 】

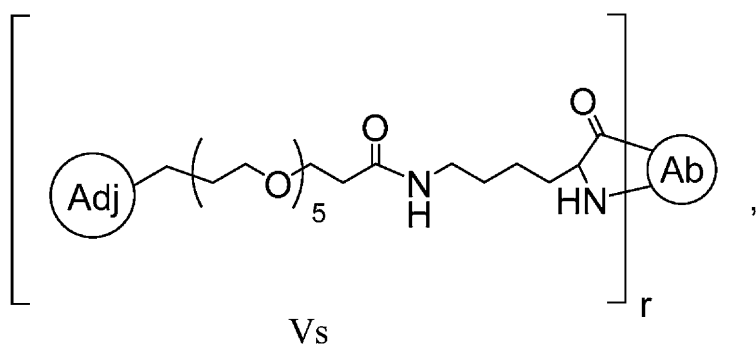
【化 8 5】



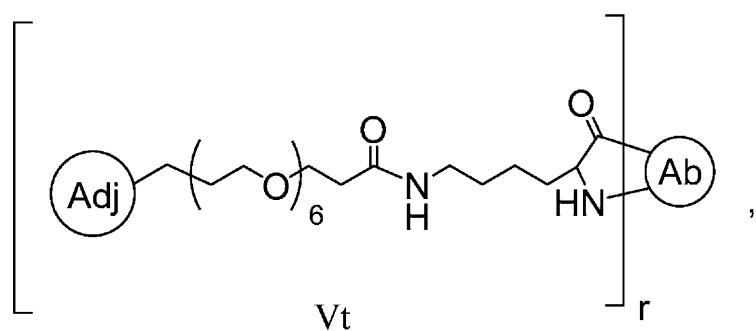
10



20



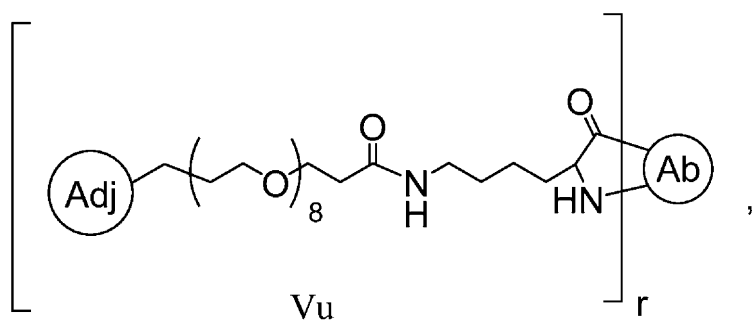
30



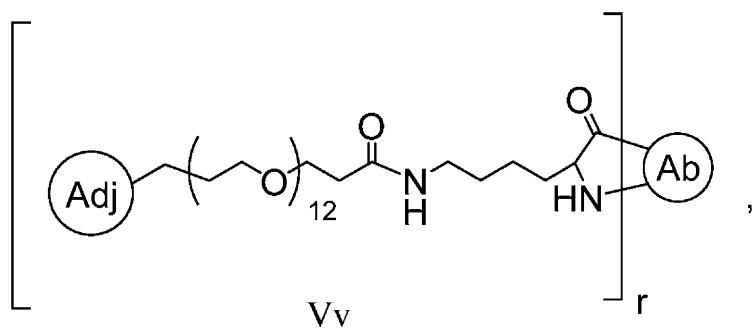
40

【 0 2 9 4】

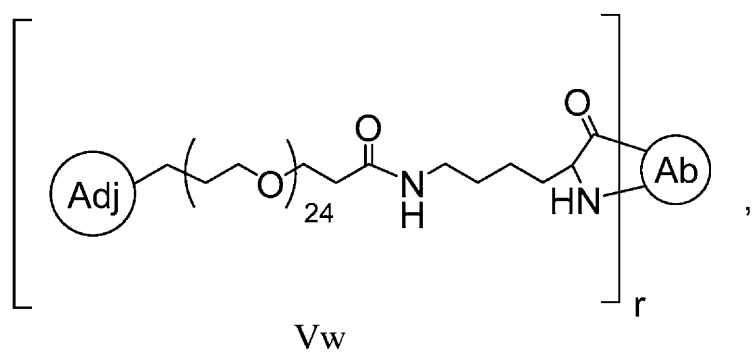
【化 8 6】



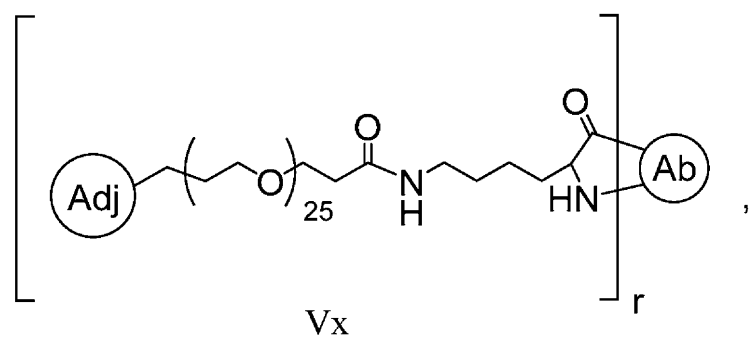
10



20



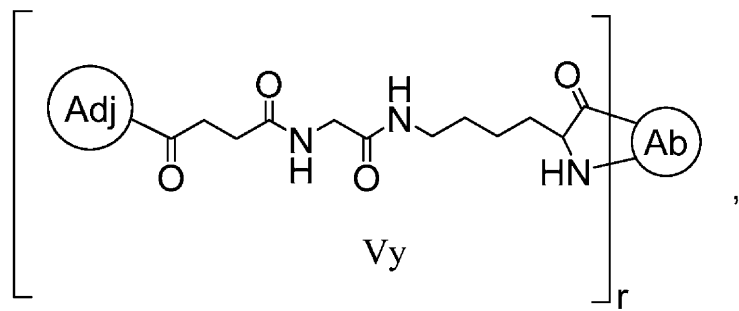
30



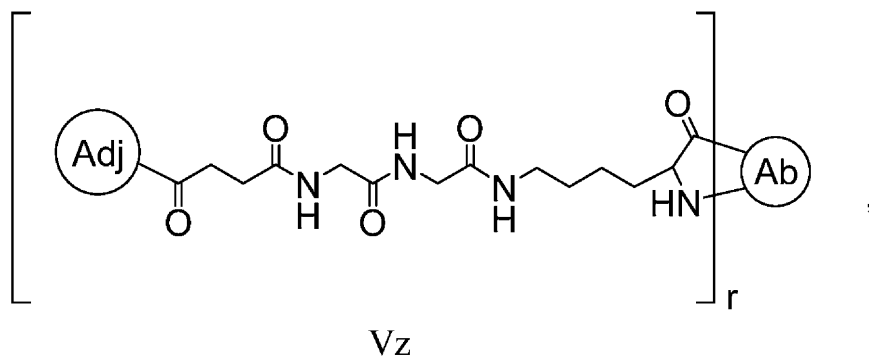
40

【 0 2 9 5 】

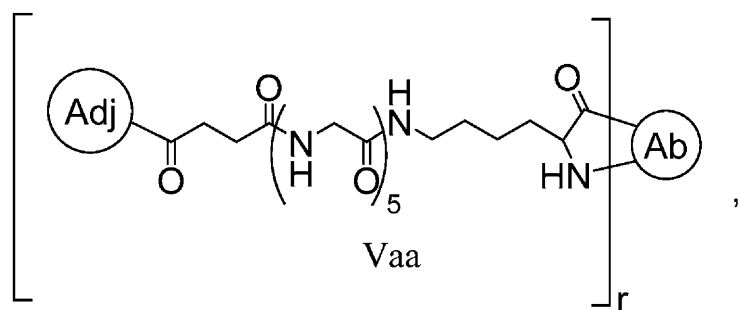
【化 8 7】



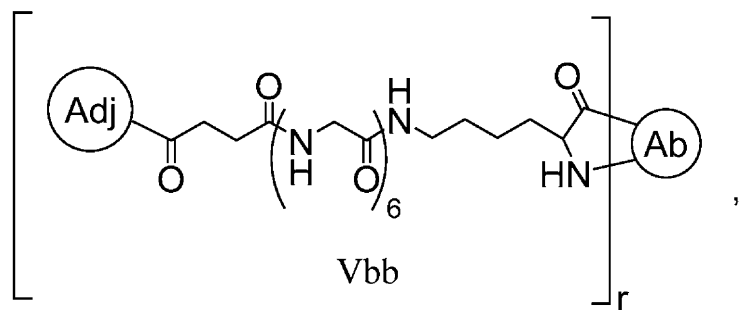
10



20



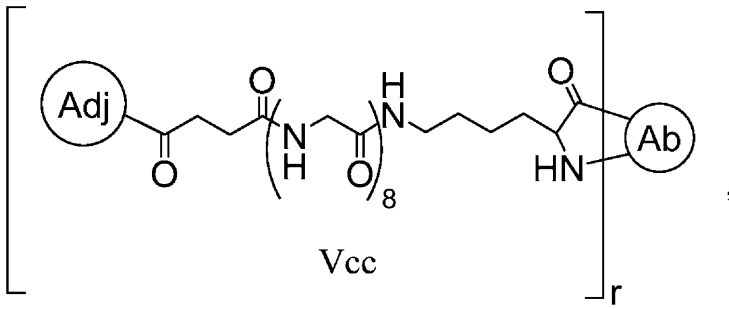
30



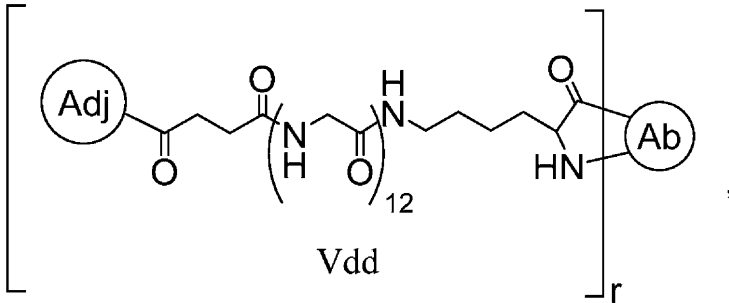
【 0 2 9 6】

40

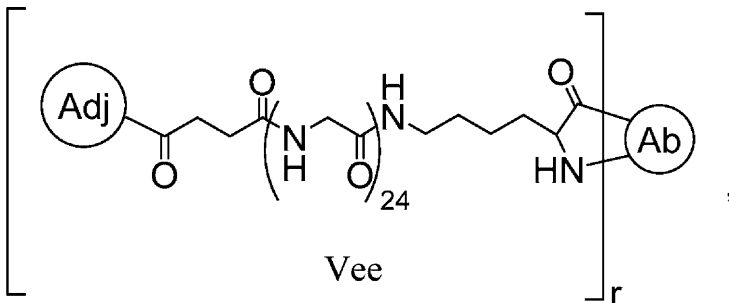
【化 8 8】



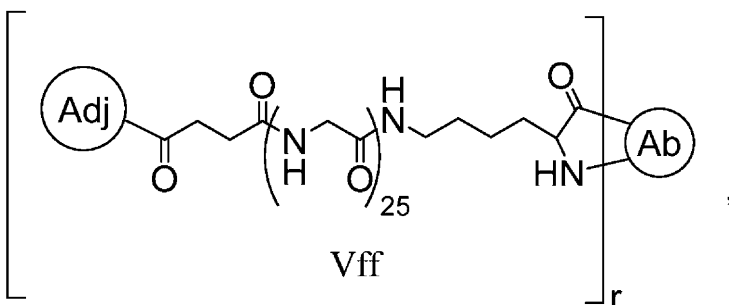
10



20



30



【0297】

40

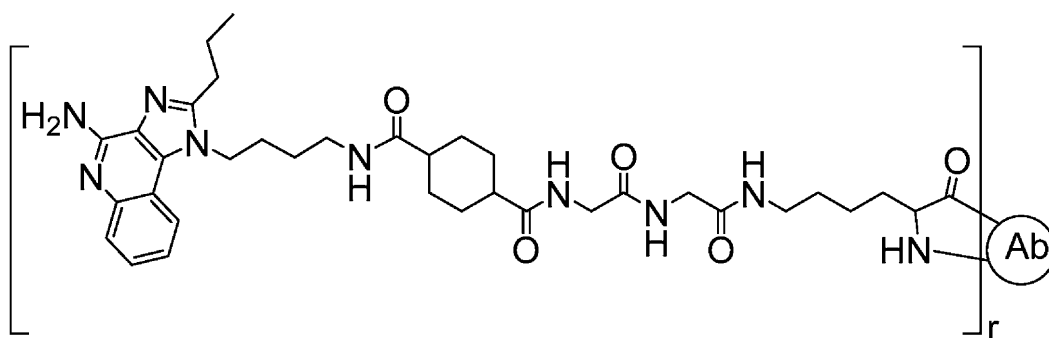
（式中、Abは、本明細書に定義されたとおりであり、Adjは、アジュバントであり、下付き文字rは、1～10（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10）の整数である）による構造を有するか、又はその薬学的に許容される塩であり得る。特定の実施形態では、下付き文字rは、1～4（すなわち、1、2、3、又は4）の整数である。

【0298】

例えば、免疫複合体は、式VIa～VIj：

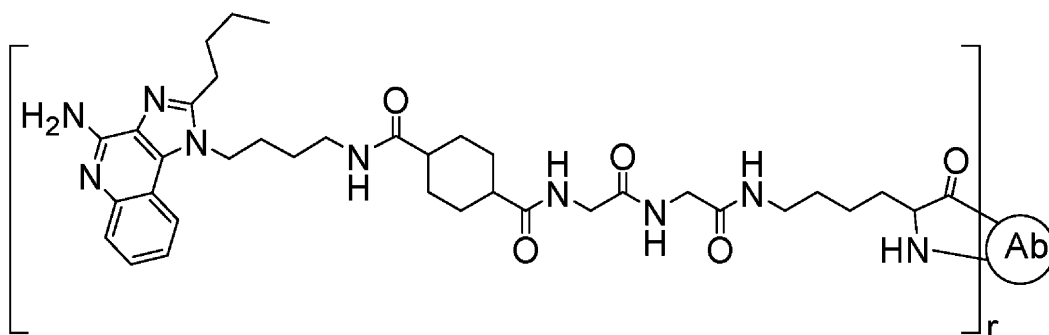
【0299】

【化 8 9】



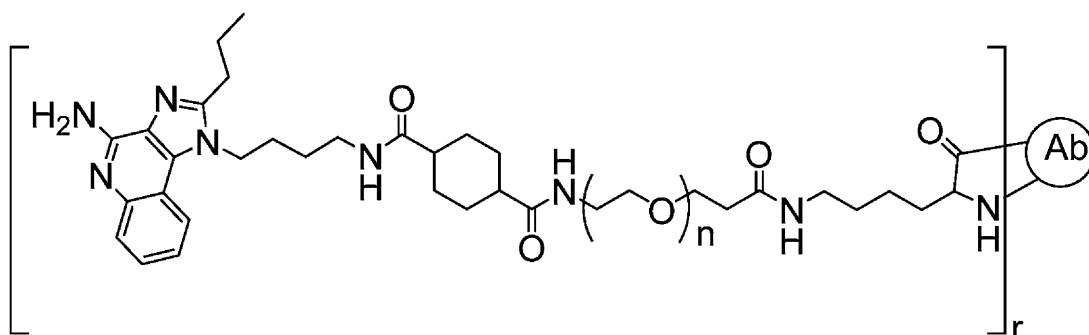
(VIa),

10



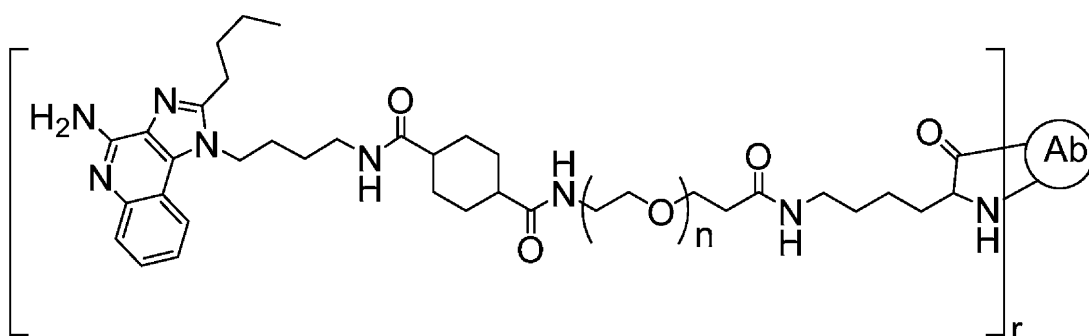
(VIb),

20



(VIc),

30

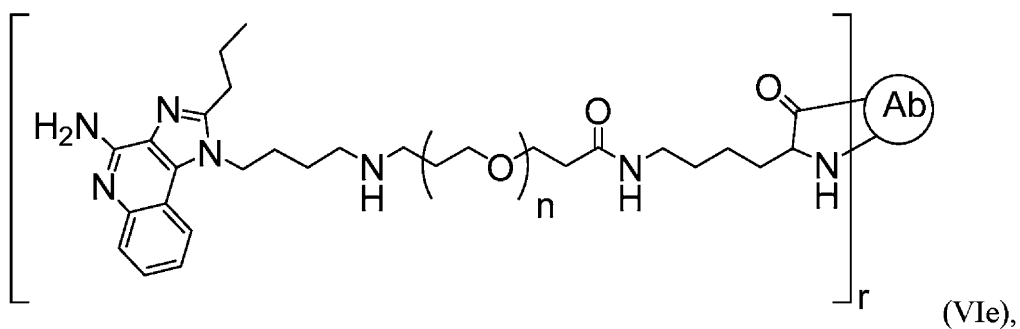


(VIId),

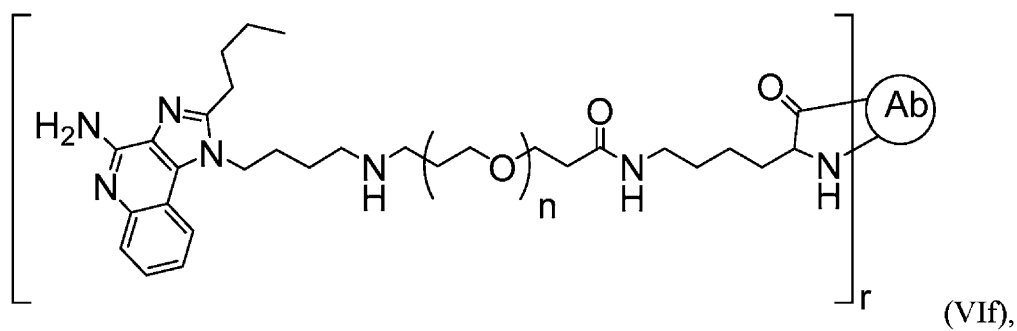
40

【 0 3 0 0 】

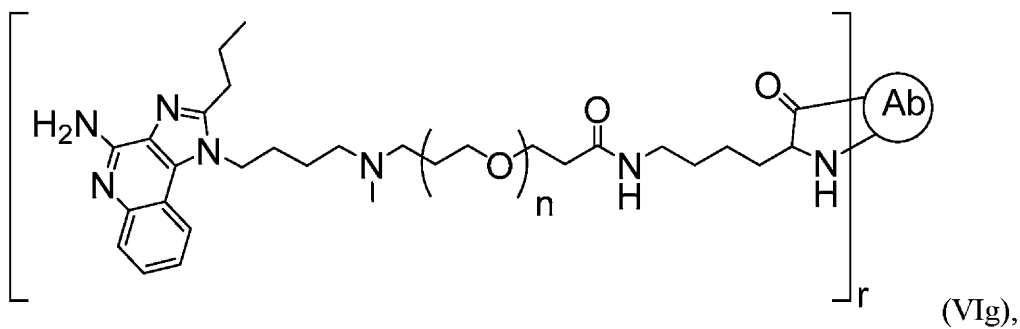
【化 9 0】



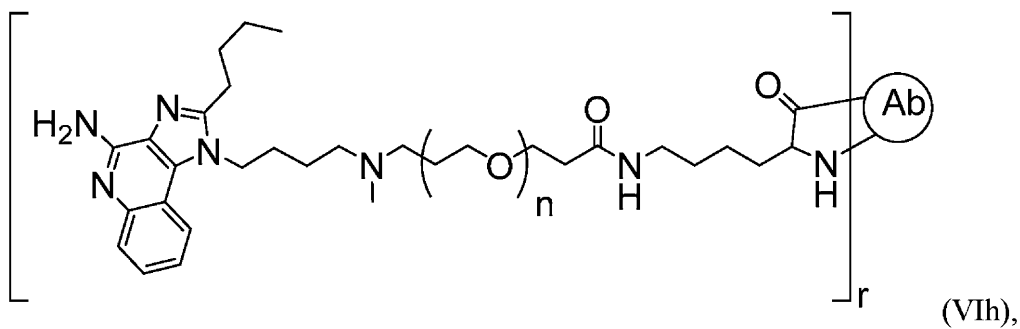
10



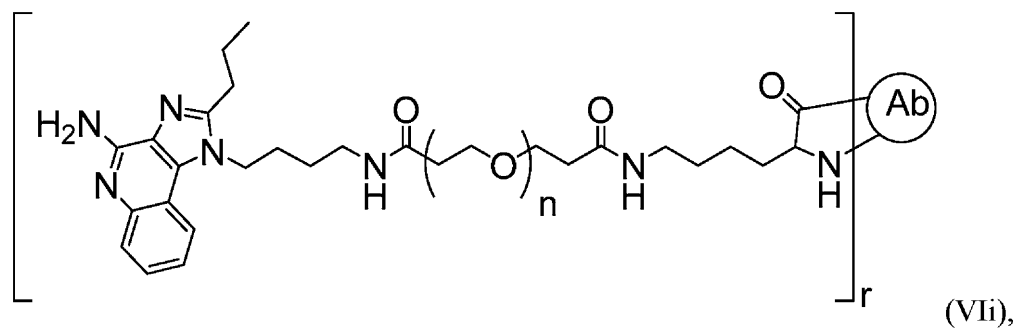
20



30

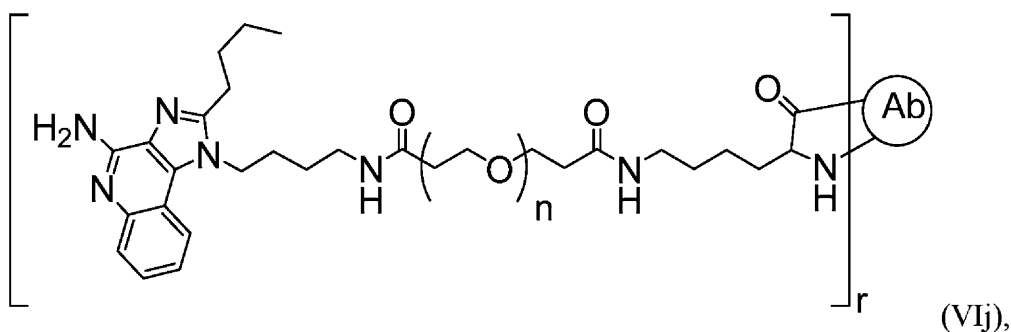


40



【 0 3 0 1】

【化 9 1】



10

【0302】

(式中、 n は、1～40の整数であり、 r は、1～10（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10）の整数である）による構造を有することができる。特定の実施形態では、下付き文字 r は、1～4（すなわち、1、2、3、又は4）の整数である。いくつかの実施形態では、 n は、2～25の整数である。特定の実施形態では、 n は、2～8の範囲の整数である。

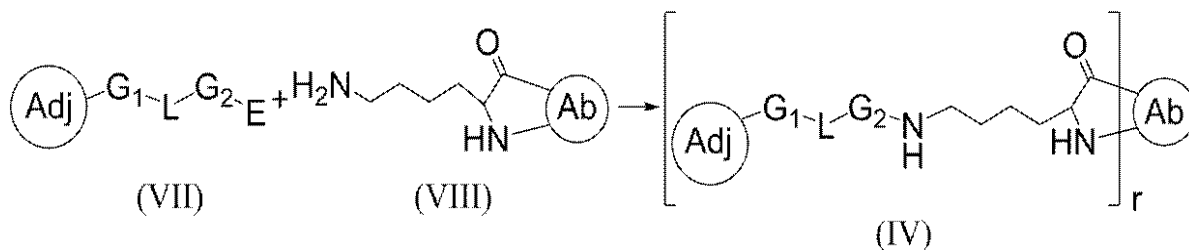
【0303】

第2の一態様では、本発明は、式VIIの1つ以上の化合物及び式VIIIの抗体から式IVの免疫複合体を産生するための改良された方法であって、

【0304】

20

【化 9 2】



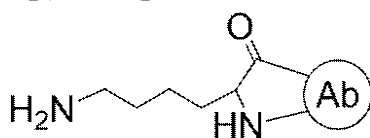
【0305】

(式中、

30

【0306】

【化 9 3】



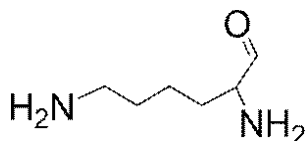
【0307】

は、抗体のリジン残基を表す

【0308】

【化 9 4】

40



【0309】

残基を有する抗体であり、Adjは、アジュバントであり、 G_1 は、 CH_2 、 $C=O$ 、又は結合であり、 G_2 は、 CH_2 、 $C=O$ 、又は結合であり、Lはリンカーであり、Eは、エステルであり、下付き文字 r は、1～10（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10）の整数である）の工程を含む方法を提供する。特定の実施形態では、下付き文字 r は、1～4（すなわち、1、2、3、又は4）の整数である。

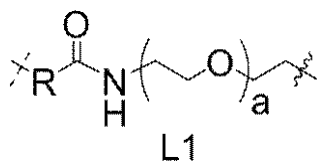
50

【0310】

任意の好適なリンカーは、エステルを介して抗体（式VIIの化合物）に結合することができる。例えば、リンカー（「L」）は、以下の式

【0311】

【化95】



【0312】

を有することができ、式中、Rは任意に存在し、1～8（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は8）個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、下付き文字aは、1～40の整数であり、破線

【0313】

【化96】

(「」)

【0314】

は、G₁に対する結合点を表し、波線

【0315】

【化97】

(「」)

【0316】

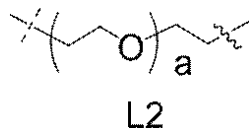
は、G₂に対する結合点を表す。いくつかの実施形態では、下付き文字aは、1～25の整数である。いくつかの実施形態では、下付き文字aは、2～25の整数である。いくつかの実施形態では、下付き文字aは、2～8の整数である。特定の実施形態では、Rは任意に存在し、1～8（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は8）個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖である。

【0317】

リンカー（「L」）は、以下の式

【0318】

【化98】



【0319】

（式中、下付き文字aは、1～40の整数であり、破線

【0320】

【化99】

(「」)

【0321】

は、G₁に対する結合点を表し、波線

【0322】

10

20

30

40

【化 1 0 0】

(「」)

【0 3 2 3】

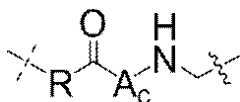
は、 G_2 に対する結合点を表す) を有し得る。いくつかの実施形態では、下付き文字 a は、1～25 の整数である。いくつかの実施形態では、下付き文字 a は、2～25 の整数である。いくつかの実施形態では、下付き文字 a は、2～8 の整数である。

【0 3 2 4】

リンカー (「L」) は、以下の式

【0 3 2 5】

【化 1 0 1】



L3

【0 3 2 6】

を有することができ、式中、R は任意に存在し、1～8 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は8) 個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、各 A は、独立して、任意のアミノ酸から選択され、下付き文字 c は、1～25 の整数であり、破線

【0 3 2 7】

【化 1 0 2】

(「」)

【0 3 2 8】

は、 G_1 に対する結合点を表し、波線

【0 3 2 9】

【化 1 0 3】

(「」)

【0 3 3 0】

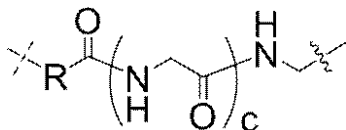
は、 G_2 に対する結合点を表す。いくつかの実施形態では、下付き文字 c は 2～25 の整数である。いくつかの実施形態では、下付き文字 c は、1～8 の整数である。いくつかの実施形態では、下付き文字 c は 2～8 の整数である。特定の実施形態では、R は任意に存在し、1～8 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は8) 個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖である。

【0 3 3 1】

リンカー (「L」) は、以下の式

【0 3 3 2】

【化 1 0 4】



L4

【0 3 3 3】

(式中、R は任意に存在し、1～8 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は8) 個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和ア

10

20

30

40

50

ルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、下付き文字 c は、1～25の整数であり、破線

【0334】

【化105】

(「」)

【0335】

は、G₁に対する結合点を表し、波線

【0336】

【化106】

(「」)

10

【0337】

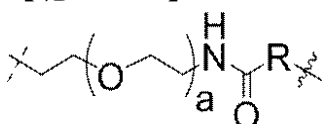
は、G₂に対する結合点を表す)を有することもできる。いくつかの実施形態では、下付き文字 c は2～25の整数である。いくつかの実施形態では、c は1～8の整数である。いくつかの実施形態では、c は2～8の整数である。特定の実施形態では、R は任意に存在し、1～8 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は8) 個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖である。

【0338】

リンカー (「L」) は、以下の式

【0339】

【化107】



L5

20

【0340】

を有することができ、式中、R は任意に存在し、1～8 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は8) 個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、下付き文字 a は、1～40の整数であり、破線

30

【0341】

【化108】

(「」)

【0342】

は、G₁に対する結合点を表し、波線

【0343】

【化109】

(「」)

40

【0344】

は、G₂に対する結合点を表す。いくつかの実施形態では、下付き文字 a は、1～25の整数である。いくつかの実施形態では、下付き文字 a は、2～25の整数である。いくつかの実施形態では、下付き文字 a は、2～8の整数である。特定の実施形態では、R は任意に存在し、1～8 (すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は8) 個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖である。

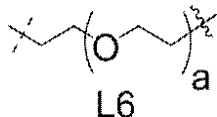
50

【0345】

リンカー（「L」）は、以下の式

【0346】

【化110】



【0347】

（式中、下付き文字 a は、1～40の整数であり、破線

【0348】

【化111】

（「」）

【0349】

は、G₁に対する結合点を表し、波線

【0350】

【化112】

（「」）

【0351】

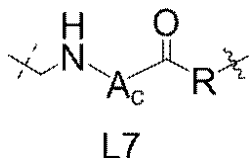
は、G₂に対する結合点を表す）を有することができる。いくつかの実施形態では、下付き文字 a は、1～25の整数である。いくつかの実施形態では、下付き文字 a は、2～25の整数である。いくつかの実施形態では、下付き文字 a は、2～8の整数である。

【0352】

リンカー（「L」）は、以下の式

【0353】

【化113】



【0354】

を有することができ、式中、Rは任意に存在し、1～8（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は8）個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、各Aは、独立して、任意のアミノ酸から選択され、下付き文字 c は、1～25の整数であり、破線

【0355】

【化114】

（「」）

【0356】

は、G₁に対する結合点を表し、波線

【0357】

【化115】

（「」）

【0358】

は、G₂に対する結合点を表す）を有することもできる。いくつかの実施形態では、下付き文字 c は2～25の整数である。いくつかの実施形態では、下付き文字 c は、1～8

10

20

30

40

50

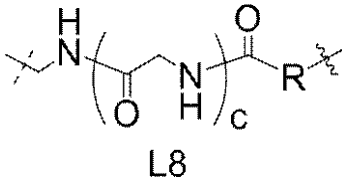
の整数である。いくつかの実施形態では、下付き文字 c は 2～8 の整数である。特定の実施形態では、 R は任意に存在し、1～8（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は 8）個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖である。

【0359】

リンカー（「L」）は、以下の式

【0360】

【化116】



10

【0361】

（式中、 R は任意に存在し、1～8（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は 8）個の炭素単位を含む直鎖又は分枝鎖、環状又は直線状、飽和又は不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、下付き文字 c は、1～20 の整数であり、破線

【0362】

【化117】

(「」)

20

【0363】

は、 G_1 に対する結合点を表し、波線

【0364】

【化118】

(「」)

【0365】

は、 G_2 に対する結合点を表す）を有することもできる。いくつかの実施形態では、下付き文字 c は 2～25 の整数である。いくつかの実施形態では、下付き文字 c は、1～8 の整数である。いくつかの実施形態では、下付き文字 c は 2～8 の整数である。特定の実施形態では、 R は任意に存在し、1～8（すなわち、1、2、3、4、5、6、7、又は 8）個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖である。

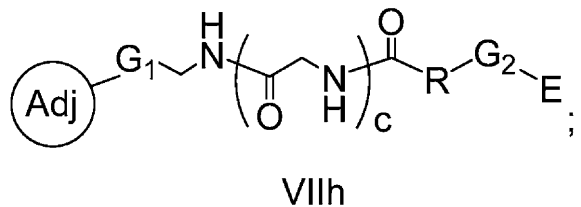
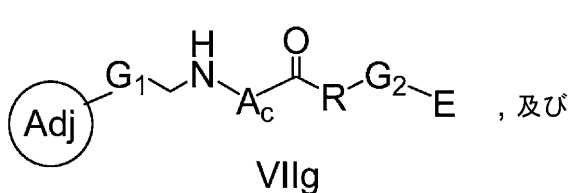
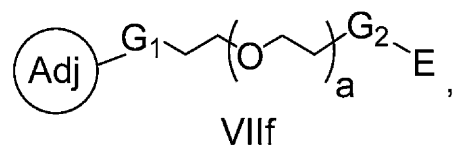
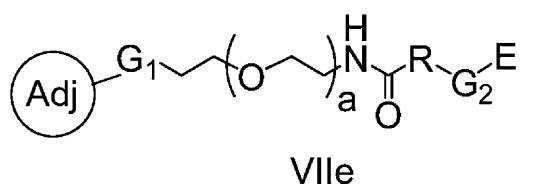
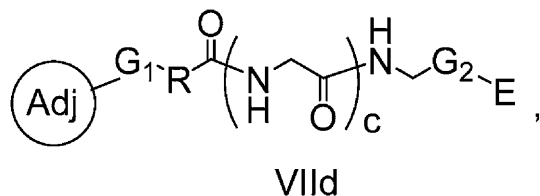
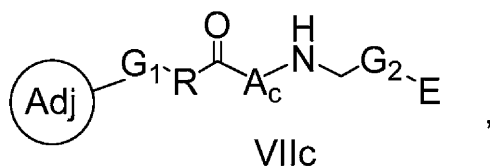
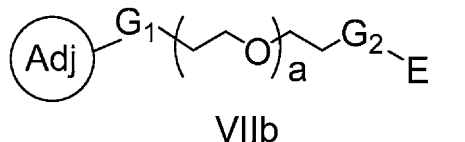
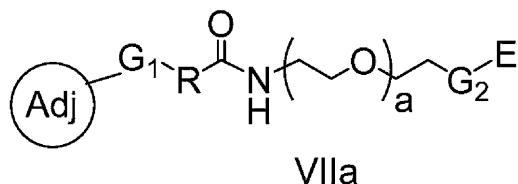
30

【0366】

いくつかの実施形態では、式 VII の化合物は、以下：

【0367】

【化 1 1 9】



【0368】

(式中、 G_1 は、 CH_2 、 $\text{C}=\text{O}$ 、又は結合であり、 G_2 は、 CH_2 、 $\text{C}=\text{O}$ 、又は結合であり、 R は、任意に存在し、1～8個の炭素単位を含む直鎖又は分枝鎖、環状又は直線状、飽和又は不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、下付き文字 a は、1～40の整数であり、各 A は、独立して、任意のアミノ酸から選択され、下付き文字 c は、1～25の整数であり、 E はエステルである) から選択される。特定の実施形態では、下付き文字 a は、2～25の整数である。特定の実施形態では、下付き文字 c は、2～8の整数である。

【0369】

既に記載されているように、免疫複合体を形成する多くの方法が存在する。先行技術の方法のそれぞれには、欠点がある。本方法は、リンカーを含むように修飾されたアジュバントを抗体(式VIIの化合物)のリジン側鎖に複合体化させる、一工程プロセスを含む。このプロセスは、エステルを使用することによって可能である。エステルは、式VIIの化合物を抗体(式VIIの化合物)のリジン側鎖に連結することができる任意の好適なエステルであり得る。

【0370】

例えば、式VIIのエステルは、式：

【0371】

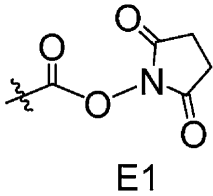
10

20

30

40

【化 1 2 0】



【 0 3 7 2】

(式中、波線

【 0 3 7 3】

【化 1 2 1】

(「」)

【 0 3 7 4】

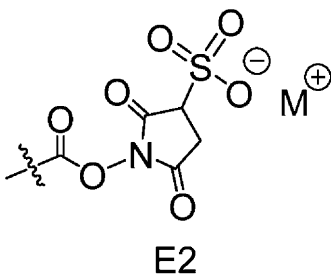
は、 G_2 への結合点を表す) の N-ヒドロキシスクシンイミド (N-hydroxysuccinimide、 NH S) エステルであり得る。

【 0 3 7 5】

式 V I I のエステルは、式：

【 0 3 7 6】

【化 1 2 2】



【 0 3 7 7】

(式中、Mは任意のカチオンであり、波線

【 0 3 7 8】

【化 1 2 3】

(「」)

【 0 3 7 9】

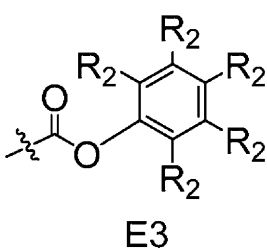
は、 G_2 への結合点を表す) のスルホ-N-ヒドロキシスクシンイミドエステルであってもよい。例えば、カチオン対イオン (M) は、プロトン、アンモニウム、四級アミン、アルカリ金属のカチオン、アルカリ土類金属のカチオン、遷移金属のカチオン、希土類金属のカチオン、典型元素カチオン、又はこれらの組み合わせであり得る。

【 0 3 8 0】

式 V I I のエステルは、式：

【 0 3 8 1】

【化 1 2 4】



10

20

30

40

50

【0382】

(式中、各 R_2 は、水素又はフッ素から独立して選択され、波線

【0383】

【化125】

(「」)

【0384】

は、 G_2 への結合点を表す) のフェノールエステルであり得る。

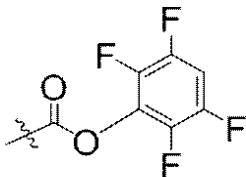
【0385】

式VIIのエステルは、式：

10

【0386】

【化126】



E3a

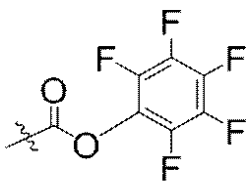
【0387】

(テトラフルオロフェニル) 又は

20

【0388】

【化127】



E3b

30

【0389】

(ペンタフルオロフェニル) ；

(式中、波線

【0390】

【化128】

(「」)

【0391】

は、 G_2 への結合点を表す) のフェノールエステルであり得る。

【0392】

40

いくつかの実施形態では、式VIIの抗体及び式VIIのエステルは、任意の好適な水性緩衝液中で組み合わされる。好適な水性緩衝液の例示的なリストは、リン酸緩衝生理食塩水、ホウ酸緩衝生理食塩水、及びトリス緩衝生理食塩水である。

【0393】

テトラフルオロフェニル (「TFP」) 又はペンタフルオロフェニル (「PFP」) を使用することは、本発明の免疫複合体の合成において特に有効である。

【0394】

抗体

免疫複合体中の抗体は、同種異系抗体であり得る。「同種異系抗体」又は「同種抗体」という用語は、対象となる個体 (例えば、腫瘍を有し治療を探求している個体) からでは

50

ないが、同じ種に由来する抗体、又は異なる種に由来するが、異種抗体（例えば、非自己）としての認識を低減、緩和、又は回避するよう遺伝子操作されている抗体を指す。例えば、「同種異系抗体」は、ヒト化抗体であり得る。特に明記しない限り、本明細書で使用する時、「抗体」及び「同種異系抗体」は、免疫グロブリン G（immunoglobulin G、Ig G）又は免疫グロブリン A（immunoglobulin A、Ig A）を指す。

【0395】

ヒト個体の癌細胞が、その同じヒトによって産生されなかった抗体（例えば、抗体は、第2のヒト個体によって産生されたか、抗体は、マウスなどの別の種によって産生されたか、抗体は、別の種によって産生された抗体をヒト化したものである）と接触する場合、抗体は（第1の個体に対して）同種異系であると考えられる。ヒト抗原（例えば、癌特異的抗原、癌細胞内及び／又は癌細胞上で豊富な抗原など）を認識するヒト化マウスモノクローナル抗体は、「同種抗体」（同種異系抗体）であると考えられる。

【0396】

いくつかの実施形態では、抗体は、ポリクローナル同種異系 Ig G 抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、複数の結合特異性を有するポリクローナル Ig G 抗体の混合物中に存在する。場合によっては、混合物の抗体は、異なる標的分子に特異的に結合し、場合によっては、混合物の抗体は、同じ標的分子の異なるエピトープに特異的に結合する。したがって、抗体の混合物は、場合によっては、本発明の2つ以上の免疫複合体を含むことができる（例えば、アジュバント部分は、混合物の抗体、例えば、ポリクローナル Ig G 抗体の混合物と共有結合して、本発明の抗体-アジュバント複合体の混合物をもたらすことができる）。抗体の混合物は、2個体以上（例えば、3個体以上、4個体以上、5個体以上、6個体以上、7個体以上、8個体以上、9個体以上、10個体以上など）からプールすることができる。場合によっては、プールされた血清は、同種抗体の供給源として使用され、血清は、第1の個体ではない任意の数の個体由来することができる（例えば、血清は2個体以上、3個体以上、4個体以上、5個体以上、6個体以上、7個体以上、8個体以上、9個体以上、10個体以上などからプールすることができる）。場合によっては、抗体は、使用前に血清から単離されるか又は精製される。精製は、異なる個体から抗体をプールする前又は後に実施することができる。

【0397】

免疫複合体中の抗体が血清からの複数の Ig G を含むいくつかの場合、ある程度の（例えば、0%超～50%未満）、半分、大部分（50%超～100%未満）、又は更には全ての（すなわち、血清からの複数の Ig G）抗体についての標的抗原は不明である。しかしながら、このような混合物は多種多様な標的抗原に特異的な多種多様な抗体を含有するため、混合物中の少なくとも1つの抗体が目的の標的抗原を認識する可能性は高い。

【0398】

いくつかの実施形態では、抗体は、ポリクローナル同種異系 Ig A 抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、複数の結合特異性を有するポリクローナル Ig A 抗体の混合物中に存在する。場合によっては、混合物の抗体は、異なる標的分子に特異的に結合し、場合によっては、混合物の抗体は、同じ標的分子の異なるエピトープに特異的に結合する。したがって、抗体の混合物は、場合によっては、本発明の2つ以上の免疫複合体を含むことができる（例えば、アジュバント部分は、混合物の抗体、例えば、ポリクローナル Ig A 抗体の混合物と共有結合して、本発明の抗体-アジュバント複合体の混合物をもたらすことができる）。抗体の混合物は、2個体以上（例えば、3個体以上、4個体以上、5個体以上、6個体以上、7個体以上、8個体以上、9個体以上、10個体以上など）からプールすることができる。場合によっては、プールされた血清は、同種抗体の供給源として使用され、血清は、第1の個体ではない任意の数の個体由来することができる（例えば、血清は2個体以上、3個体以上、4個体以上、5個体以上、6個体以上、7個体以上、8個体以上、9個体以上、10個体以上などからプールすることができる）。場合によっては、抗体は、使用前に血清から単離されるか又は精製される。精製は、異なる個体から抗体をプールする前又は後に実施することができる。

【0399】

免疫複合体中の抗体が血清からの複数のIgAを含むいくつかの場合、ある程度の（例えば、0%超～50%未満）、半分、大部分（50%超～100%未満）、又は更には全ての（すなわち、血清からの複数のIgA）抗体についての標的抗原は不明である。しかしながら、このような混合物は多種多様な標的抗原に特異的な多種多様な抗体を含有するため、混合物中の少なくとも1つの抗体が目的の標的抗原を認識する可能性は高い。

【0400】

いくつかの場合では、免疫複合体中の抗体は、静脈内免疫グロブリン（intravenous immunoglobulin、IVIg）及び／又はIVIgに由来する（例えば、IVIg由来のものが豊富な、IVIgから精製された、例えば、IVIgからアフィニティ精製された）抗体を含む。IVIgは、多数（例えば、場合によっては、1,000超～60,000）の正常かつ健康な血液ドナーに由来する血漿（例えば、場合によっては、任意の他の蛋白質を含まない）からプールされたIgG（免疫グロブリンG）を含有する血液製品である。IVIgは市販されている。IVIgは、高い割合の天然ヒト単量体IVIgを含有し、低IgA含有量を有する。静脈内投与されると、IVIgは、いくつかの疾患状態を改善する。したがって、米国食品医薬品局（the United States Food and Drug Administration、FDA）は、（1）川崎病、（2）免疫介在性血小板減少症、（3）一次免疫不全、（4）造血幹細胞移植（20歳以上について）、（5）慢性B細胞リンパ球性白血病、及び（6）小児HIV1型感染症、を含む多数の疾患のためにIVIgの使用を認可した。2004年に、FDAは、腎臓移植レシピエントについてのCedars-Sinai
IVIgプロトコルを認可し、その結果、このようなレシピエントは、血液型（ABO不適合）又は組織適合にかかわらず、任意の健康なドナーから生体ドナー腎臓を受容することができる。IVIgのこれら及び他の態様は、例えば、米国特許出願公開第2010/0150942号、同第2004/0101909号、同第2013/0177574号、同第2013/0108619号、及び同第2013/0011388号に記載されており、これらは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0401】

いくつかの場合において、抗体は、定義されたサブクラス（例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁、又はIgA₂）のモノクローナル抗体である。抗体の組み合わせが使用される場合、抗体は、同じサブクラス又は異なるサブクラスに由来し得る。例えば、抗体は、IgG₁抗体であり得る。異なる相対比率で異なるサブクラスの様々な組み合わせを、当業者によって得ることができる。場合によっては、特定のサブクラス、又は異なるサブクラスの特定の組み合わせは、癌治療又は腫瘍サイズの低減において特に有効であり得る。したがって、本発明のいくつかの実施形態は、抗体がモノクローナル抗体である免疫複合体を提供する。いくつかの実施形態では、モノクローナル抗体はヒト化される。

【0402】

いくつかの実施形態では、抗体は、癌細胞の抗原に結合する。例えば、抗体は、癌細胞の表面上に少なくとも10、100、1,000、10,000、100,000、1,000,000、2.5×10⁶、5×10⁶、又は1×10⁷コピー以上の量で存在する標的抗原に結合し得る。

【0403】

いくつかの実施形態では、抗体は、非癌細胞上の対応する抗原よりも高い親和性で癌又は免疫細胞上の抗原に結合する。例えば、抗体は、非癌又は非免疫細胞上の対応する野生型抗原の認識と比較して、癌又は免疫細胞上に見出される多型を含有する抗原を優先的に認識し得る。場合によっては、抗体は、非癌又は非免疫細胞よりも高い結合活性を伴って癌又は免疫細胞に結合する。例えば、癌又は免疫細胞は、より高い密度の抗原を発現することができ、したがって、多価抗体の癌又は免疫細胞に対するより高い親和性結合を提供することができる。

【0404】

10

20

30

40

50

場合によっては、抗体は非癌抗原に有意に結合しない（例えば、抗体は、標的癌抗原よりも少なくとも10倍、100倍、1,000倍、10,000倍、100,000倍、又は1,000,000倍低い親和性（より高いKd）を伴って1つ以上の非癌抗原に結合する）。場合によっては、抗体が結合する標的癌抗原は、癌細胞上に豊富である。例えば、標的癌抗原は、対応する非癌細胞よりも少なくとも2倍、5倍、10倍、100倍、1,000倍、10,000倍、100,000倍、又は1,000,000倍高いレベルで、癌細胞の表面上に存在し得る。一部の場合には、対応する非癌細胞は、過剰増殖性ではない、又はそうでなければ癌性ではない、同一組織又は起源の細胞である。一般に、癌細胞の抗原（標的抗原）に特異的に結合する対象IgG抗体は、他の利用可能な抗原に対して、その特定の抗原に優先的に結合する。しかしながら、標的抗原は、他の細胞と比較して、癌細胞に特異的である必要はなく、又は癌細胞中で豊富である必要はない（例えば、標的抗原は、他の細胞によって発現され得る）。したがって、語句「癌細胞の抗原に特異的に結合する抗体」という語句において、「特異的に」という用語は、抗体の特異性を指し、その特定の細胞型における抗原の固有性を指すものではない。

10

【0405】

修飾されたFc領域

いくつかの実施形態では、免疫複合体中の抗体は、修飾されたFc領域を含有し、修飾は、Fc領域の1つ以上のFc受容体への結合を調節する。

【0406】

用語「Fc受容体」又は「FcR」は、抗体のFc領域に結合する受容体を指す。Fc受容体の3つの主要なクラス：IgGに結合するFcγR、IgAに結合するFcαR、及びIgEに結合するFcεR、が存在する。FcγRファミリーは、FcγI（CD64）、FcγRIIA（CD32A）、FcγRIIB（CD32B）、FcγRIIIA（CD16A）、FcγRIIIB（CD16B）などのいくつかのメンバーを含む。Fcγ受容体は、IgGに対する親和性が異なり、IgGサブクラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4）について異なる親和性も有する。

20

【0407】

いくつかの実施形態では、免疫複合体中の抗体（例えば、リンカーを介してTLR7/8アゴニストなどのTLRアゴニストに複合体化した抗体）は、Fc領域内に1つ以上の修飾（例えば、アミノ酸挿入、欠失、及び／又は置換）を含み、これにより、Fc領域内の変異を欠く天然抗体と比較して、1つ以上のFc受容体（例えば、FcγRI（CD64）、FcγRIIA（CD32A）、FcγRIIB（CD32B）、FcγRIIIA（CD16a）、及び／又はFcγRIIIB（CD16b））に対する調節された結合がもたらされる。いくつかの実施形態では、免疫複合体中の抗体は、Fc領域内に1つ以上の修飾（例えば、アミノ酸挿入、欠失、及び／又は置換）を含み、これにより、抗体のFc領域のFcγRIIBに対する結合が低減する。いくつかの実施形態では、免疫複合体中の抗体は、抗体のFc領域内に1つ以上の修飾（例えば、アミノ酸挿入、欠失、及び／又は置換）を含み、これは、Fc領域内に変異を欠く天然抗体と比較して、FcγRI（CD64）、FcγRIIA（CD32A）、及び／又はFcγRIIIA（CD16a）に対する結合を同じに維持するか、又はそれらに対する結合を増大するが、抗体のFcγRIIBに対する結合を低減させる。いくつかの実施形態では、免疫複合体中の抗体は、Fc領域内に1つ以上の修飾を含み、これにより、抗体のFc領域のFcγRIIBに対する結合が増大する。

30

40

【0408】

いくつかの場合では、調節された結合は、抗体の天然Fc領域に対する抗体のFc領域における突然変異によって提供される。変異は、CH2ドメイン、CH3ドメイン、又はこれらの組み合わせであり得る。「天然Fc領域」は、「野生型Fc領域」と同義であり、天然に見出されるFc領域のアミノ酸配列と同一であるか、又は天然抗体（例えば、リツキシマブ）のFc領域のアミノ酸配列と同一であるアミノ酸配列を含む。天然配列ヒトFc領域は、天然配列ヒトIgG1 Fc領域、天然配列ヒトIgG2 Fc領域、天然

50

配列ヒトIgG3Fc領域、及び天然配列ヒトIgG4Fc領域、並びに天然に存在するそれらの変異体、を含む。天然配列Fcは、Fcの様々なアロタイプを含む（例えば、Jefferrisら、mAbs、1(4):332-338(2009)を参照されたい）。

【0409】

いくつかの実施形態では、1つ以上のFc受容体に対する調節された結合をもたらすFc領域中の突然変異は、以下の突然変異：SD(S239D)、SDIE(S239D/I332E)、SE(S267E)、SELF(S267E/L328F)、SDIE(S239D/I332E)、SDIEAL(S239D/I332E/A330L)、GA(G236A)、ALIE(A330L/I332E)、GASDALIE(G236A/S239D/A330L/I332E)、V9(G237D/P238D/P271G/A330R)、及びV11(G237D/P238D/H268D/P271G/A330R)の1つ以上、及び／又は以下のアミノ酸：E233、G237、P238、H268、P271、L328、及びA330の1つ以上の突然変異を含み得る。Fc受容体結合を調節するための更なるFc領域修飾は、例えば、米国特許出願公開第2016/0145350号及び米国特許第7,416,726号及び同第5,624,821号に記載されている。

10

【0410】

いくつかの実施形態では、免疫複合体の抗体のFc領域は、天然の非修飾Fc領域と比較して、Fc領域のグリコシル化パターンを変化させるように修飾される。

20

【0411】

ヒト免疫グロブリンは、各重鎖のCγ2ドメイン中のAsn297残基でグリコシル化される。このN-結合型オリゴ糖は、コアの六糖類、N-アセチルグルコサミン4マンノース3(GlcNAc4Man3)から構成される。エンドグリコシダーゼ又はPNGaseFによる六糖類の除去は、抗体Fc領域における立体構造変化をもたらすことが知られており、これは、抗体結合親和性を有意に低下させて、FcγRを活性化させることができ、エフェクター機能の低下をもたらす。コアの六糖類は、多くの場合、ガラクトースと結合し、GlcNAc、フコース、又はシアル酸を二等分し、活性化及び阻害性FcγRに対するFc結合に差次的に影響する。加えて、α2,6-シアル化が、生体内で抗炎症活性を強化する一方で、脱フコシル化は、改善されたFcγRIIIa結合をもたらし、抗体依存性細胞毒性及び抗体依存性食作用において10倍の増加をもたらすことが実証されている。したがって、特定のグリコシル化パターンを使用して、炎症性エフェクター機能を制御することができる。

30

【0412】

いくつかの実施形態では、グリコシル化パターンを変更する修飾は突然変異である。例えば、Asn297における置換。いくつかの実施形態では、Asn297はグルタミン(N297Q)に変異している。FcγR調節シグナル伝達を調節する抗体を用いる免疫応答を制御するための方法は、例えば、米国特許第7,416,726号、並びに米国特許第2007/0014795号及び同第2008/0286819号に記載されている。

40

【0413】

いくつかの実施形態では、免疫複合体の抗体は、非天然に生じるグリコシル化パターンを伴う操作されたFab領域を含有するように修飾される。例えば、ハイブリドーマは、FcγRIIIa結合及びエフェクター機能の増大を可能にする特定の突然変異を用いて、アフコシル化mAb、脱シアル化mAb、又は脱グリコシル化Fcを分泌するように、遺伝子操作することができる。いくつかの実施形態では、免疫複合体の抗体は、アフコシル化されるように操作される(In vivo genから入手可能な、アフコシル化リツキシマブ、hcd20-mab13)。

【0414】

いくつかの実施形態では、免疫複合体中の抗体のFc領域全体が異なるFc領域と交換

50

され、その結果、抗体の F a b 領域は、非天然 F c 領域に複合体化される。例えば、通常 I g G 1 F c 領域を含むリツキシマブの F a b 領域は、I g G 2、I g G 3、I g G 4、又は I g A に複合体化することができ、又は通常 I g G 4 F c 領域を含むニボルマブの F a b 領域は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g A 1、又は I g G 2 に複合体化させることができる。いくつかの実施形態では、非天然 F c ドメインを有する F c 修飾抗体はまた、記載される F c ドメインの安定性を調節する、I g G 4 F c 内の S 2 2 8 P 変異などの 1 つ以上のアミノ酸修飾を含む。いくつかの実施形態では、非天然 F c ドメインを有する F c 修飾抗体はまた、F c R に対する F c 結合を調節する、本明細書に記載の 1 つ以上のアミノ酸修飾を含む。

【0415】

10

いくつかの実施形態では、F c 領域の F c R への結合を調節する修飾はまた、天然の非修飾抗体と比較して、抗体の F a b 領域のその抗原への結合を改変しない。他の実施形態では、F c 領域の F c R への結合を調節する修飾はまた、天然の非修飾抗体と比較して、抗体の F a b 領域のその抗原への結合を増大させる。

抗体標的化

【0416】

いくつかの実施形態では、抗体は、5 T 4、A B L、A B C F 1、A C V R 1、A C V R 1 B、A C V R 2、A C V R 2 B、A C V R L 1、A D O R A 2 A、A g g r e c a n、A G R 2、A I C D A、A I F 1、A I G I、A K A P 1、A K A P 2、A M H、A M H R 2、A N G P T 1、A N G P T 2、A N G P T L 3、A N G P T L 4、A N P E P、A P C、A P O C 1、A R、アロマターゼ、A T X、A X 1、A Z G P 1（亜鉛－a－糖蛋白質）、B 7. 1、B 7. 2、B 7－H 1、B A D、B A F F、B A G 1、B A I 1、B C R、B C L 2、B C L 6、B C M A、B D N F、B L N K、B L R 1（M D R 1 5）、B I y S、B M P 1、B M P 2、B M P 3 B（G D F I O）、B M P 4、B M P 6、B M P 8、B M P R 1 A、B M P R 1 B、B M P R 2、B P A G 1（プレクチン）、B R C A 1、C 1 9 o r f l O（I L 2 7 w）、C 3、C 4 A、C 5、C 5 R 1、C A 9、C A N T 1、C A P R I N－1、C A S P 1、C A S P 4、C A V 1、C C B P 2（D 6／J A B 6 1）、C C L 1（1－3 0 9）、C C L I 1（エオタキシン）、C C L 1 3（M C P－4）、C C L 1 5（M I P－I d）、C C L 1 6（H C C－4）、C C L 1 7（T A R C）、C C L 1 8（P A R C）、C C L 1 9（M I P－3 b）、C C L 2（M C P－1）、M C A F、C C L 2 0（M I P－3 a）、C C L 2 1（M E P－2）、S L C、e x o d u s－2、C C L 2 2（M D C／S T C－I）、C C L 2 3（M P I F－I）、C C L 2 4（M P I F－2／エオタキシン－2）、C C L 2 5（T E C K）、C C L 2 6（エオタキシン－3）、C C L 2 7（C T A C K／I L C）、C C L 2 8、C C L 3（M I P－I a）、C C L 4（M I P I b）、C C L 5（R A N T E S）、C C L 7（M C P－3）、C C L 8（m c p－2）、C C N A 1、C C N A 2、C C N D 1、C C N E 1、C C N E 2、C C R 1（C K R 1／H M 1 4 5）、C C R 2（m c p－I R B／R A）、C C R 3（C K R 3／C M K B R 3）、C C R 4、C C R 5（C M K B R 5／C h e m R 1 3）、C C R 6（C M K B R 6／C K R－L 3／S T R L 2 2／D R Y 6）、C C R 7（C K R 7／E B I 1）、C C R 8 又は C D w 1 9 8（C M K B R 8／T E R I／C K R－L 1）、C C R 9（G P R－9－6）、C C R L 1（V S H K 1）、C C R L 2（L－C C R）、C D 1 6 4、C D 1 9、C D I C、C D 2、C D 2 0、C D 2 1、C D 2 0 0、C D－2 2、C D 2 4、C D 2 7、C D 2 8、C D 3、C D 3 3、C D 3 5、C D 3 7、C D 3 8、C D 3 E、C D 3 G、C D 3 Z、C D 4、C D 3 8、C D 4 0、C D 4 0 L、C D 4 4、C D 4 5 R B、C D 4 7、C D 5 2、C D 6 9、C D 7 2、C D 7 4、C D 7 9 A、C D 7 9 B、C D 8、C D 8 0、C D 8 1、C D 8 3、C D 8 6、C D 1 3 7、C D 1 5 2、C D 2 7 4、C D H 1（E カドヘリン）、C D H 1 O、C D H 1 2、C D H 1 3、C D H 1 8、C D H 1 9、C D H 2 O、C D H 5、C D H 7、C D H 8、C D H 9、C D K 2、C D K 3、C D K 4、C D K 5、C D K 6、C D K 7、C D K 9、C D K N 1 A（p 2 1 W a p 1／C i p 1）、C D K N 1 B（p 2 7 K i p 1）、C D K N 1 C、C D

20

30

40

50

KN2A (p16INK4a)、CDKN2B、CDKN2C、CDKN3、CEBPB、CERI、CHGA、CHGB、キチナーゼ、CHST1O、CKLFSF2、CKLFSF3、CKLFSF4、CKLFSF5、CKLFSF6、CKLFSF7、CKLFSF8、CLDN3、CLDN7 (クロディン-7)、CLN3、CLU (クラスレリン)、CMKLR1、CMKOR1 (RDC1)、CNR1、COL18A1、COL1A1、COL4A3、COL6A1、CR2、CripTo、CRP、CSF1 (M-CSF)、CSF2 (GM-CSF)、CSF3 (G-CSF)、CTAG1B (NY-ESO-1)、CTL8、CTNNB1 (b-カテニン)、CTSB (カテプシンB)、CX3CL1 (SCYD1)、CX3CR1 (V28)、CXCL1 (GRO1)、CXCL1O (IP-IO)、CXCL11 (1-TAC/IP-9)、CXCL12 (SDF1)、CXCL13、CXCL14、CXCL16、CXCL2 (GRO2)、CXCL3 (GRO3)、CXCL5 (ENA-78/LIX)、CXCL6 (GCP-2)、CXCL9 (MIG)、CXCR3 (GPR9/CKR-L2)、CXCR4、CXCR6 (TYMSTR/STRL33/Bonzo)、CYB5、CYC1、CYSLTR1、DAB2IP、DES、DKFZp451J0118、DNCL1、DPP4、E2F1、Engel、Edge、ウイキョウ、EFNA3、EFNB2、EGF、EGFR、ELAC2、ENG、Enola、ENO2、ENO3、EPHA1、EPHA2、EPHA3、EPHA4、EPHA5、EPHA6、EPHA7、EPHA8、EPHA9、EPHA10、EPHB1、EPHB2、EPHB3、EPHB4、EPHB5、EPHB6、EPHRIN-A1、EPHRIN-A2、EPHRINA3、EPHRIN-A4、EPHRIN-A5、EPHRIN-A6、EPHRIN-B1、EPHRIN-B2、EPHRIN-B3、EPHB4、EPG、ERBB2 (HER2)、EREG、ERK8、エストロゲン受容体、Earl、ESR2、F3 (TF)、FADD、ファルネシルトランスフェラーゼ、FasL、FASnf、FCER1A、FCER2、FCGR3A、FGF、FGF1 (aFGF)、FGF10、FGF11、FGF12、FGF12B、FGF13、FGF14、FGF16、FGF17、FGF18、FGF19、FGF2 (bFGF)、FGF20、FGF21、FGF22、FGF23、FGF3 (int-2)、FGF4 (HST)、FGF5、FGF6 (HST-2)、FGF7 (KGF)、FGF8、FGF9、FGFR3、FIGF (VEGFD)、FIL1 (EPSILON)、FBL1 (ZETA)、FLJ12584、FLJ25530、FLRT1 (フィブロネクチン)、FLT1、FLT-3、FOLR1、FOS、FOSL1 (FRA-1)、FY (DARC)、GABRP (GABAa)、GAGEB1、GAGEC1、GALNAC4S-6ST、GATA3、GD2、GDF5、GFI1、GGT1、GM-CSF、GNAS1、GNRH1、GPC3、GPR2 (CCR10)、GPR31、GPR44、GPR81 (FKSG80)、GRCC1O (C1O)、GRP、GSN (デルソリン)、GSTP1、HAVCR2、HDAC、HDAC4、HDAC5、HDAC7A、HDAC9、ハリネズミ、HGF、HIF1A、HIP1、ヒスタミン及びヒスタミン受容体、HLA-A、HLA-DRA、HLA-E、HM74、HMOXI、HSP90、HUMCYT2A、ICEBERG、ICOSL、ID2、IFN-a、IFNA1、IFNA2、IFNA4、IFNA5、EFNA6、BFNA7、IFNB1、IFNgamma、IFNW1、IGBP1、IGF1、IGFIR、IGF2、IGFBP2、IGFBP3、IGFBP6、DL-1、ILIO、ILIORA、ILIORB、IL-1、IL1R1 (CD121a)、IL1R2 (CD121b)、IL-IRA、IL-2、IL2RA (CD25)、IL2RB (CD122)、IL2RG (CD132)、IL-4、IL-4R (CD123)、IL-5、IL5RA (CD125)、IL3RB (CD131)、IL-6、IL6RA、(CD126)、IR6RB (CD130)、IL-7、IL7RA (CD127)、IL-8、CXCR1 (IL8RA)、CXCR2、(IL8RB/CD128)、IL-9、IL9R (CD129)、IL-10、IL10RA (CD210)、IL10RB (CDW210B)、IL-11、IL11RA、IL-12、IL-12A、IL-12B、IL-12RB1、IL-1

2RB2、IL-13、IL13RA1、IL13RA2、IL14、IL15、IL15RA、IL16、IL17、IL17A、IL17B、IL17C、IL17R、IL18、IL18BP、IL18R1、IL18RAP、IL19、IL1A、IL1B、IL1F10、IL1F5、IL1F6、IL1F7、IL1F8、DL1F9、IL1HY1、IL1R1、IL1R2、IL1RAP、IL1RAPL1、IL1RAPL2、IL1RL1、IL1RL2、IL1RN、IL2、IL20、IL20RA、IL21R、IL22、IL22R、IL22RA2、IL23、DL24、IL25、IL26、IL27、IL28A、IL28B、IL29、IL2RA、IL2RB、IL2RG、IL3、IL30、IL3RA、IL4、IL4、IL6ST（糖蛋白質130）、ILK、INH A、INHBA、INSL3、INSL4、IRAK1、IRAK2、ITGA1、ITGA2、ITGA3、ITGA6（ α 6 インテグリン）、ITGAV、ITGB3、ITGB4（ β 4 インテグリン）、JAG1、JAK1、JAK3、JTB、JUN、K6HF、KAI1、KDR、KITLG、KLF5（GC Box BP）、KLF6、KLK10、KLK12、KLK13、KLK14、KLK15、KLK3、KLK4、KLK5、KLK6、KLK9、KRT1、KRT19（ケラチン19）、KRT2A、KRTHB6（毛髪特異的I型ケラチン）、L1CAM、LAG3、LAMA5、LEP（レプチン）、ルイスY抗原、Lingo-p75、Lingo-Troy、LRRC15、LPS、LTA（TNF-b）、LTB、LTB4R（GPR16）、LTB4R2、LTBR、MACMARCHS、MAG又はOMgp、MAGEA3、MAGEA6、MAP2K7（c-Jun）、MCP-1、MDK、MIB1、ミッドカイン、MIF、MISRII、MJP-2、MSLN、MK、MKI67（Ki-67）、MMP2、MMP9、MS4A1、MSMB、MT3（メタロチオネクチン-UI）、mTOR、MTSS1、MUC1（mucin）、MYC、MYD88、NCK2、ニューロカン、NFKB1、NFKB2、NGFB（NGF）、NGFR、NgR-リング、NgRNogo66、（Nogo）、NgR-p75、NgR-Troy、NME1（NM23A）、NOTCH、NOTCH1、NOX5、NPPB、NROB1、NROB2、NR1D1、NR1D2、NR1H2、NR1H3、NR1H4、NR112、NR113、NR2C1、NR2C2、NR2E1、NR2E3、NR2F1、NR2F2、NR2F6、NR3C1、NR3C2、NR4A1、NR4A2、NR4A3、NR5A1、NR5A2、NR6A1、NRP1、NRP2、NT5E、NTN4、ODZI、OPRDI、P2RX7、PAP、PART1、PATE、PAWR、PCA3、PCDGF、PCNA、PDGFA、PDGFB、PDGFRA、PDGFRB、PECAMI、peg-アスパラギナーゼ、PF4（CXCL4）、PGF、PGR、ホスファカン、PIAS2、PI3キナーゼ、PIK3CG、PLAU（uPA）、PLG、PLXDCI、PKC、PKC-ベータ、PPBP（CXCL7）、PPID、PR1、PRKCQ、PRKD1、PRL、PROC、PROK2、PSAP、PSCA、PSMA、PTAFR、PTEN、PTGS2（COX-2）、PTN、PVRIG、RAC2（P21Rac2）、RANK、RANK リガンド、RAR B、RGS1、RGS13、RGS3、RNFI1O（ZNF144）、Ron、ROBO2、ROR1、RXR、S100A2、SCGB1D2（リポフィリンB）、SCGB2A1（マンマグロビン2）、SCGB2A2（マンマグロビン1）、SCYE1（エンドセリアル単球活性化サイトカイン）、SDF2、SERPENA1、SERPINA3、SERPINB5（maspin）、SERPINE1（PAI-1）、SERPINFI、SHIP-1、SHIP-2、SHB1、SHB2、SHBG、Sf cAZ、SLC2A2、SLC33A1、SLC43A1、SLIT2、SPP1、SPRR1B（Spr1）、ST6GAL1、STAB1、STATE、STEAP、STEAP2、TB4R2、TBX21、TCP1O、TDGF1、TEK、TGFA、TGFB1、TGFB1I1、TGFB2、TGFB3、TGFB1、TGFB1R1、TGFB1R2、TGFB1R3、TH1L、THBS1（トロンボスポンジン-1）、THBS2、THBS4、THPO、TIE（Tie-1）、TIMP3、組織因子、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6

、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、TLR11、TNF、TNF- α 、TNFAIP2 (B94)、TNFAIP3、TNFRSF11A、TNFRSF1A、TNFRSF1B、TNFRSF21、TNFRSF5、TNFRSF6 (Fas)、TNFRSF7、TNFRSF8、TNFRSF9、TNFSF10 (TRAIL)、TNFSF11 (TRANCE)、TNFSF12 (APO3L)、TNFSF13 (April)、TNFSF13B、TNFSF14 (HVEM-L)、TNFRSF14 (HVEM)、TNFSF15 (VEGI)、TNFSF18、TNFSF4 (OX40 リガンド)、TNFSF5 (CD40 リガンド)、TNFSF6 (FasL)、TNFSF7 (CD27 リガンド)、TNFSF8 (CD30 リガンド)、TNFSF9 (4-1BB リガンド)、TOLLIP、Toll様受容体、TOP2A (トポイソメラーゼIia)、TP53、TPM1、TPM2、TRADD、TRAF1、TRAF2、TRAF3、TRAF4、TRAF5、TRAF6、TRKA、TREM1、TREM2、TROP2、TRPC6、TSLP、TWEAK、チロシナーゼ、uPAR、VEGF、VEGFB、VEGFC、パーシカン、VHL C5、VLA-4、WT1、Wnt-1、XCL1 (リンフォタクチン)、XCL2 (SCM-Ib)、XCRI (GPR5/CXCR1)、YY1、ZFPM2、CLEC4C (BDCA-2、DLEC、CD303、CLECSF7)、CLEC4D (MCL、CLECSF8)、CLEC4E (ミンクル)、CLEC6A (デクチン-2)、CLEC5A (MDL-1、CLECSF5)、CLEC1B (CLEC-2)、CLEC9A (DNDR-1)、CLEC7A (Dectin-1)、CLEC11A、PDGFR α 、SLAMF7、GP6 (GPVI)、LILRA1 (CD85I)、LILRA2 (CD85H、ILT1)、LILRA4 (CD85G、ILT7)、LILRA5 (CD85F、ILT11)、LILRA6 (CD85b、ILT8)、LILRB1、NCR1 (CD335、LY94、NKp46)、NCR3 (CD335、LY94、NKp46)、NCR3 (CD337、NKp30)、OSCAR、TARM1、CD300C、CD300E、CD300LB (CD300B)、CD300LD (CD300D)、KIR2DL4 (CD158D)、KIR2DS、KLRC2 (CD159C、NKG2C)、KLRK1 (CD314、NKG2D)、NCR2 (CD336、NKp44)、PILRB、SIGLEC1 (CD169、SN)、SIGLEC5、SIGLEC6、SIGLEC7、SIGLEC8、SIGLEC9、SIGLEC10、SIGLEC11、SIGLEC12、SIGLEC14、SIGLEC15 (CD33L3)、SIGLEC16、SIRPA、SIRPB1 (CD172B)、TREM1 (CD354)、TREM2、及びKLRF1 (NKp80) から選択される1つ以上の標的に結合する (例えば、から選択される標的に特異的に結合する) ことができる。

【0417】

いくつかの実施形態では、抗体は、FcR γ 共役受容体に結合する。いくつかの実施形態では、FcR γ 共役受容体は、GP6 (GPVI)、LILRA1 (CD85I)、LILRA2 (CD85H、ILT1)、LILRA4 (CD85G、ILT7)、LILRA5 (CD85F、ILT11)、LILRA6 (CD85B、ILT8)、LILRB1、NCR1 (CD335、LY94、NKp46)、NCR3 (CD335、LY94、NKp46)、NCR3 (CD337、NKp30)、OSCAR、及びTARM1 からなる群から選択される。

【0418】

いくつかの実施形態では、抗体は、DAP12 共役受容体に結合する。いくつかの実施形態では、DAP12 共役受容体は、CD300C、CD300E、CD300LB (CD300B)、CD300LD (CD300D)、KIR2DL4 (CD158D)、KIR2DS、KLRC2 (CD159C、NKG2C)、KLRK1 (CD314、NKG2D)、NCR2 (CD336、NKp44)、PILRB、SIGLEC1 (CD169、SN)、SIGLEC5、SIGLEC6、SIGLEC7、SIGLEC8、SIGLEC9、SIGLEC10、SIGLEC11、SIGLEC12、SIGLEC

14、SIGLEC15 (CD33L3)、SIGLEC16、SIRPB1 (CD172B)、TREM1 (CD354)、及びTREM2からなる群より選択される。

【0419】

いくつかの実施形態では、抗体は、hemITAM含有受容体に結合する。いくつかの実施形態では、hemITAM含有受容体は、KLRF1 (NKp80) である。

【0420】

いくつかの実施形態では、抗体は、CLEC4C (BDCA-2、DLEC、CD303、CLECSF7)、CLEC4D (MCL、CLECSF8)、CLEC4E (ミンクル)、CLEC6A (デクチン-2)、CLEC5A (MDL-1、CLECSF5)、CLEC1B (CLEC-2)、CLEC9A (DNDR-1)、及びCLEC7A (デクチン-1) から選択される1つ以上の標的に結合することができる。いくつかの実施形態では、抗体は、CLEC6A (デクチン-2) 又はCLEC5Aに結合することができる。いくつかの実施形態では、抗体は、CLEC6A (デクチン-2) に結合することができる。

【0421】

いくつかの実施形態では、抗体は、ATP5I (Q06185)、OAT (P29758)、AIFM1 (Q9Z0X1)、AOF A (Q64133)、MTDC (P18155)、CMC1 (Q8BH59)、PREP (Q8K411)、YMEL1 (O88967)、LPPRC (Q6PB66)、LONM (Q8CGK3)、ACON (Q99KI0)、ODO1 (Q60597)、IDHP (P54071)、ALDH2 (P47738)、ATPB (P56480)、AATM (P05202)、TMM93 (Q9CQW0)、ERGI3 (Q9CQE7)、RTN4 (Q99P72)、CL041 (Q8BQR4)、ERLN2 (Q8BFZ9)、TERA (Q01853)、DAD1 (P61804)、CALX (P35564)、CALU (O35887)、VAPA (Q9WV55)、MOGS (Q80UM7)、GANAB (Q8BHN3)、ERO1A (Q8R180)、UGGG1 (Q6P5E4)、P4HA1 (Q60715)、HYEP (Q9D379)、CALR (P14211)、AT2A2 (O55143)、PDIA4 (P08003)、PDIA1 (P09103)、PDIA3 (P27773)、PDIA6 (Q922R8)、CLH (Q68FD5)、PPIB (P24369)、TCPG (P80318)、MOT4 (P57787)、NICA (P57716)、BASI (P18572)、VAPA (Q9WV55)、ENV2 (P11370)、VAT1 (Q62465)、4F2 (P10852)、ENOA (P17182)、ILK (O55222)、GPNMB (Q99P91)、ENV1 (P10404)、ERO1A (Q8R180)、CLH (Q68FD5)、DSG1A (Q61495)、AT1A1 (Q8VDN2)、HYOU1 (Q9JKR6)、TRAP1 (Q9CQN1)、GRP75 (P38647)、ENPL (P08113)、CH60 (P63038)、及びCH10 (Q64433) から選択される1つ以上の標的に結合することができる。前述のリストでは、アクセッション番号は括弧内に示されている。

【0422】

いくつかの実施形態では、抗体は、CCR8、CDH1、CD19、CD20、CD29、CD30、CD38、CD40、CD47、EpCAM、MUC1、MUC16、EGFR、HER2、SLAMF7、及びgp75から選択される抗原に結合する。いくつかの実施形態では、抗原は、CCR8、CD19、CD20、CD47、EpCAM、MUC1、MUC16、EGFR、及びHER2から選択される。いくつかの実施形態では、抗体は、Tn抗原及びThomsen-Friedenreich抗原から選択される抗原に結合する。いくつかの実施形態では、抗体は、EGFR、CCR8、及びHER2から選択される抗原に結合する。特定の実施形態では、抗体はHER2に結合する。

【0423】

いくつかの実施形態では、抗体又はFc融合蛋白質は、アバゴボマブ、アバタセプト (ORENCIA (商標) としても知られる)、アブシキシマブ (REOPRO (商標))、

c 7 E 3 F a bとしても知られる)、アダリムマブ(HUMIRA(商標)としても知られる)、アデカツムマブ、アレムツズマブ(CAMPATH(商標)、M a b C a m p a t h又はC a m p a t h-1 Hとしても知られる)、アルツモマブ、アフエリモマブ、アナツモマブマフェナトックス(mafenatox)、アネツムマブ、アンルキズマブ、アポリズマブ、アーシツモマブ、アセリズマブ、アトリズマブ、アトロリムマブ、バビネウズマブ、バシリキシマブ(SIMULECT(商標)としても知られる)、バビツキシマブ、ベクツモマブ(LYMPHOSCAN(商標)としても知られる)、ベリムマブ(LYMPHO-STATT-B(商標)としても知られる)、ベルチリムマブ、ベシレソマブ、ビバシズマブ(AVASTIN(商標)としても知られる)、ビシロマブブラロバービタル(brallobarbitol)、ビバツズマブメルタンシン、c a m p a t h、カナキヌマブ(ACZ 8 8 5としても知られる)、カンツズマブメルタンシン、カプロマブ(PROSTASCINT(商標)としても知られる)、カツマキシマブ(REMOVAB(商標)としても知られる)、セデリズマブ(CIMZIA(商標)としても知られる)、セルトリズマブペゴール、セツキシマブ(ERBITUX(商標)としても知られる)、クレノリキシマブ、ダセツズマブ、ダクリキシマブ、ダクリズマブ(ZENAPAX(商標)としても知られる)、デノスマブ(AMG 1 6 2としても知られる)、デツモマブ、ドルリモマブアリトックス、ドルリキシズマブ、ダムツムマブ、デュリムルマブ、デュルムルマブ、エクロメキシマブ、エクリズマブ(SOLIRIS(商標)としても知られる)、エドバコマブ、エドレコロマブ(M a b 1 7-1 A、PANOREX(商標)としても知られる)、エファリズマブ(RAPTIVA(商標)としても知られる)、エフングマブ(MYCOGRAB(商標)としても知られる)、エルシリモマブ、エンリモマブペゴール、エピツモマブシツセタン(cituxetan)、エファリズマブ、エピツモマブ、エブラツズマブ、エルリズマブ、エルツマキシマブ(REXOMUN(商標)としても知られる)、エタネルセプト(ENBRELE(商標)としても知られる)、エタラシズマブ(エタラツズマブ、VITAXIN(商標)、ABEGRIN(商標)としても知られる)、エクスピビルマブ(exbivirumab)、ファノレソマブ(NEUTROSPEC(商標)としても知られる)、ファラリモマブ、フェルビズマブ、フオントリズマブ(HUZAF(商標)としても知られる)、ガリキシマブ、ガンテネルマブ、ガビリモマブ(ABXCBL(商標)としても知られる)、ゲムツズマブオゾガマイシン(MYLOTARG(商標)としても知られる)、ゴリムマブ(CNTO 1 4 8としても知られる)、ゴミリキシマブ、イバリズマブ(TNX-3 5 5としても知られる)、イブリツモマブチウキセタン(tiuxetan)(ZEVALIN(商標)としても知られる)、イゴボマブ、イムシロマブ、インフリキシマブ(REMICADE(商標)としても知られる)、イノリモマブ、イノツズマブオゾガマイシン、イピリムマブ(MDX-0 1 0、MDX-1 0 1としても知られる)、イラツムマブ、ケリキシマブ、ラベツズマブ、レマレソマブ、レブリリズマブ、レルデリムマブ、レキサツムマブ(HGS-ETR2、ETR2-STO1としても知られる)、レキシツムマブ、リビビルマブ、リンツズマブ、ルカツムマブ、ルミリキシマブ、マパツムマブ(HGSETR1、TRM-1としても知られる)、マスリモマブ、マツズマブ(EMD72000としても知られる)、メポリズマブツ(BSATRIA(商標)としても知られる)、メテリムマブ、ミラツズマブ、ミンレツモマブ、ミツモマブ、モロリムマブ、モタビズマブ(NUMAX(商標)としても知られる)、ムロモナブ(OKT3としても知られる)、ナコロマブタフェナトックス、ナプツモマブエスタフェナトックス、ナタリズマブ(TYSABRI(商標)、ANTEGREN(商標)としても知られる)、ネバクマブ、ネレリモマブ、ニモツズマブ(THERACIM hR3(商標)、THERA-CIM-hR3(商標)、THERALOC(商標)としても知られる)、ノフェツモマブメルペンタン(VERLUMA(商標)としても知られる)、オクレリズマブ、オヅリモマブ、オフアツムマブ、オマリズマブ(XOLAIR(商標)としても知られる)、オレゴボマブ(OVAREX(商標)としても知られる)、オテリキシズマブ、パギバキシマブ、パリビズマブ(SYNAGI(商標)としても知られる)、パニツムマブ(ABX-EGF、VECTIBIX(商標)としても知られる)、パスコリズマブ、ペム

ツモマブ (THERAGYN (商標) としても知られる)、ペルツズマブ (2C4、OMNITARG (商標) としても知られる)、ペキセリズマブ、ピンツモマブ、プリリキシマブ、ピリツムマブ、ラニビズマブ (LUCENTIS (商標) としても知られる)、ラキシバクマブ、レガビルマブ、レスリズマブ、リツキシマブ (RITUXAN (商標)、MabTHERA (商標) としても知られる)、ロベリズマブ、ルビリズマブ、サツモマブ、セビルマブ、シブロッツズマブ、シプリズマブ (MED-507 としても知られる)、ソんツズマブ、スタムルマブ (MYO-029 としても知られる)、スレソマブ (LEUKOSCAN (商標) としても知られる)、タクツズマブテトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、タプリツモマブパプトックス (paptox)、テフィバズマブ (AUREX I (商標) としても知られる)、テリモマブアリトックス、テネリキシアブ、テプリズマブ、チシリムマブ、トシリズマブ (ACTEMRA (商標) としても知られる)、トラリズマブ、トシツモマブ、トラスツズマブ (HERCEPTIN (商標) としても知られる)、トレメリムマブ (CP-675、206 としても知られる)、ツコツズマブ、セルモレウキン、ツビルマブ、ウルトキサズマブ、ウステキヌマブ (CNT01275 としても知られる)、バパリキシマブ、ベルツズマブ、ベパリモマブ、ビシリズマブ (NUVION (商標) としても知られる)、ボロシキシマブ (M200 としても知られる)、ボツムマブ (HUMASPECT (商標) としても知られる)、ザルツムマブ、ザノリムマブ (HUMAX-CD4 としても知られる)、ジラリムマブ、ゾリモマブアリトックス、ダラツムマブ、エロツキスマブ、オビンツンズマブ、オララツマブ、ブレンツキシマブベドチン、アフアイバーセプト (afibercept)、アバタセプト、ベラタセプト、アフアイバーセプト、エタネルセプト、ロミプロスティム、SBT-040 (米国特許第2017/0158772号に列挙されている配列) から選択される。いくつかの実施形態では、抗体は、トラスツズマブ、セツキシマブ、パニツムマブ、ザルツムマブ、ニモツズマブ、又はマツズマブである。特定の実施形態では、抗体は、トラスツズマブである。

【0424】

チェックポイント阻害剤

任意の好適な免疫チェックポイント阻害剤は、本明細書に開示される免疫複合体と共に使用するために企図される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。別の実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質とそのリガンドとの間の相互作用を低下させる。免疫チェックポイント分子の発現及び／又は活性を低下させる阻害性核酸もまた、本明細書に開示される方法で 사용할ことができる。

【0425】

ほとんどのチェックポイント抗体は、細胞を殺傷しようとしていないが、シグナル伝達を遮断するように、エフェクター機能を有さないように設計されている。本発明の免疫複合体は、骨髄免疫を活性化するために必要な「エフェクター官能基」を追加することができる。したがって、ほとんどのチェックポイント抗体阻害剤では、この発見は重要である。

【0426】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、細胞毒性Tリンパ球抗原4 (CTLA4、CD152 としても知られる)、Ig 及びITIMドメインを有するT細胞免疫受容体 (TIGIT)、グルコシルチコイド誘導性TNFR関連蛋白質 (GITR、TNFRSF18 としても知られる)、誘導性T細胞共刺激性 (ICOS、CD278 としても知られる)、CD96、ポリオウイルス受容体関連2 (PVR12、CD112R としても知られる)、プログラム細胞死蛋白質1 (PD-1、CD279 としても知られる)、プログラム細胞死1リガンド1 (PD-L1、B7-H3 及びCD274 としても知られる)、プログラム細胞死リガンド2 (PD-L2、B7-DC 及びCD273 としても知られる)、リンパ球活性化遺伝子-3 (LAG-3、CD223 としても知られる)、B7-H4、キラー免疫グロブリン受容体 (KIR)、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー4 (TNFRSF4、OX40 及びCD134 としても知られる) 及

びそのリガンドOX40L (CD252)、インドレアミン2, 3-ジオキシゲナーゼ1 (IDO-1)、インドレアミン2, 3-ジオキシゲナーゼ2 (IDO-2)、癌胎児性抗原関連細胞接着分子1 (CEACAM1)、B及びTリンパ球減衰剤 (BTLA、CD272としても知られる)、T細胞膜蛋白質3 (TIM3)、アデノシンA2A受容体 (A2Ar)、及びT細胞活性化のVドメインIg抑制剤 (VISTA蛋白質) である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、CTLA4、PD-1、又はPD-L1の阻害剤である。

【0427】

いくつかの実施形態では、抗体は、イピリムマブ (Yervoy (登録商標) としても知られる) ペンプロリズマブ (Keytruda (登録商標) としても知られる)、ニボルマブ (Opdivo (登録商標) としても知られる)、アテゾリズマブ (Tecentrig (登録商標) としても知られる)、アベルマブ (Bavencio (登録商標) としても知られる)、及びデュルバルマブ (Imfinzi (商標) としても知られる) から選択される。いくつかの実施形態では、抗体は、イピリムマブ (Yervoy (登録商標) としても知られる) ペンプロリズマブ (Keytruda (登録商標) としても知られる)、ニボルマブ (Opdivo (登録商標) としても知られる)、及びアテゾリズマブ (Tecentrig (登録商標) としても知られる) から選択される。

【0428】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤はCTLA4の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、CTLA4に対する抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、CTLA4に対するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、CTLA4に対するヒト又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、CTLA4などの1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。

【0429】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-1の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-1に対する抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-1に対するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-1に対するヒト又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-1などの1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。

【0430】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-L1の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-L1に対する抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-L1に対するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-L1に対するヒト又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-L1などの1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-1とPD-L1との間の相互作用を低減する。

【0431】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-L2の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-L2に対する抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-L2に対するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-L2に対するヒト又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-L2などの1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-1と

P D-L 2 との間の相互作用を低減する。

【0432】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、LAG-3 の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、LAG-3 に対する抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、LAG-3 に対するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、LAG-3 に対するヒト又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、LAG-3 などの1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。

【0433】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、B7-H4 の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、B7-H4 に対する抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、B7-H4 に対するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、B7-H4 に対するヒト又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、B7-H4 などの1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。

【0434】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、KIR の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、KIR に対する抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、KIR に対するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、KIR に対するヒト又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、KIR などの1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。

【0435】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、TNFRSF4 の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、TNFRSF4 に対する抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、TNFRSF4 に対するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、TNFRSF4 に対するヒト又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、TNFRSF4 などの1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。

【0436】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、OX40L の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、OX40L に対する抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、OX40L に対するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、OX40L に対するヒト又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、OX40L などの1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、TNFRSF4 と OX40L との間の相互作用を低減する。

【0437】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、IDO-1 の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、IDO-1 に対する抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、IDO-1 に対するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、IDO-1 に対するヒト又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、IDO-1 などの1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。

【0438】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、I D O - 2 の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、I D O - 2 に対する抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、I D O - 2 に対するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、I D O - 2 に対するヒト又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、I D O - 2 などの1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。

【0439】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、C E A C A M 1 の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、C E A C A M 1 に対する抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、C E A C A M 1 に対するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、C E A C A M 1 に対するヒト又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、C E A C A M 1 などの1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。

10

【0440】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、B T L A の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、B T L A に対する抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、B T L A に対するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、B T L A に対するヒト又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、B T L A などの1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。

20

【0441】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、T I M 3 の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、T I M 3 に対する抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、T I M 3 に対するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、T I M 3 に対するヒト又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、T I M 3 などの1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。

30

【0442】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、A 2 A r の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、A 2 A r に対する抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、A 2 A r に対するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、A 2 A r に対するヒト又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、A 2 A r などの1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。

【0443】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、V I S T A 蛋白質の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、V I S T A 蛋白質に対する抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、V I S T A 蛋白質に対するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、V I S T A 蛋白質に対するヒト又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、V I S T A 蛋白質などの1つ以上の免疫チェックポイント蛋白質の発現又は活性を低下させる。

40

【0444】

バイオシミラー

本発明の免疫複合体は、市販のものと非常に類似しているか、若しくはバイオシミラー

50

である抗体構築物、又は「イノベーター」抗体構築物を用いて、効果的になり得る。パイオシミラー免疫複合体は、市販の抗体と同様に効果的に骨髄活性化を誘発する可能性が高い。

【0445】

DAR比

本発明の免疫複合体は、望ましいDAR比を提供する。例えば、DAR比は約1である。

【0446】

アイソタイプ修飾

リツキシマブなどの抗体のIgG1Fc領域が、IgG1AF、IgG1NQ、IgG2、IgG3、IgG4、又はIgA2と交換され、次いで、本発明の免疫複合体に形成されると、免疫複合体の活性は、所望の用途のために調節され、多くの場合、改善され得る。

【0447】

ヒトIgGのおよそ30%は、Fab領域内でグリコシル化され、本発明の免疫複合体中の抗体は、非天然に生じるグリコシル化パターンを有する操作されたFab領域を含有することができる。例えば、ハイブリドーマは、FcRγIIIIa結合及びエフェクター機能の増大を可能にする特定の突然変異を用いて、アフコシル化mAb、脱シアリル化mAb、又は脱グリコシル化Fcを分泌するように、遺伝子操作することができる。

【0448】

免疫複合体を形成するための抗体は、アジュバント部分を抗体に共有結合させるために使用される試薬に対して改変された（例えば、増強された）反応性によって特徴付けられる、操作された（すなわち、非天然に生じる）システイン残基を含有することができる。特定の実施形態では、操作されたシステイン残基は、0.6～1.0の範囲のチオール反応性値を有する。多くの場合、操作された抗体は、親抗体よりも反応性が高い。

【0449】

一般に、操作された残基は、ジスルフィド架橋の一部ではない「遊離」システイン残基である。用語「チオール反応性値」は、遊離システインアミノ酸の反応性の定量的特徴付けである。本明細書で使用する時、用語「チオール反応性値」は、チオール反応性試薬と反応し、最大値1に変換される、操作された抗体における遊離システインアミノ酸の割合を指す。例えば、マレイミドなどのチオール反応性試薬と100%の収率で反応して修飾抗体を形成する操作された抗体中のシステイン残基は、1.0のチオール反応性値を有する。チオール反応性試薬と80%の収率で反応する同じ又は異なる親抗体に操作された別のシステイン残基は、0.8のチオール反応性値を有する。特定のシステイン残基のチオール反応性値の決定は、ELISAアッセイ、質量分析法、液体クロマトグラフィ、オートラジオグラフィ、又は他の定量分析試験によって実施することができる。

【0450】

操作されたシステイン残基は、抗体重鎖又は抗体軽鎖に位置し得る。特定の実施形態では、操作されたシステイン残基は、重鎖のFc領域に位置する。例えば、抗体の軽鎖にある位置L-15、L-43、L-110、L-144、及びL-168にあるアミノ酸残基、又は抗体の重鎖にあるH-40、H-88、H-119、H-121、H-122、H-175、及びH-179にあるアミノ酸残基を、システイン残基で置換することができる。これらの位置のそれぞれの側の約5アミノ酸残基以内の位置、すなわち、L-10～L-20、L-38～L-48、L-105～L-115、L-139～L-149、L-163～L-173、H-35～H-45、H-83～H-93、H-114～H-127、及びH-170～H-184と、並びにH-268～H-291、H-319～H-344、H-370～H-380、及びH-395～H-405から選択されるFc領域内の位置も、システイン残基で置換することができ、免疫複合体を形成するための有用なシステイン操作された抗体を提供する。他の改変された抗体は、例えば、米国特許第7,855,275号、同第8,309,300号、及び同第9,000,130号に記

載されているものが挙げられ、これらの文献は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0451】

抗体に加えて、代替的な蛋白質足場を免疫複合体の一部として使用してもよい。用語「代替的な蛋白質足場」は、非免疫グロブリン由来蛋白質又はペプチドを指す。このような蛋白質及びペプチドは、一般に、工学的に修正可能であり、所与の抗原に対する単一の特異性、二重特異性、又は多重特異性を付与するように設計することができる。代替的な蛋白質足場の工学は、いくつかのアプローチを使用して実施することができる。既知の特異性の配列が足場の可変ループ上にグラフトされる場合、ループグラフトアプローチを使用することができる。配列ランダム化及び突然変異誘発を使用して、変異体のライブラリを開発することができ、これを、様々なディスプレイプラットフォーム（例えば、ファージディスプレイ）を使用してスクリーニングして、新規結合剤を同定することができる。部位特異的突然変異誘発を、類似のアプローチの一部として使用することもできる。代替的な蛋白質足場は、最小限の二次構造を有する小ペプチドから、フルサイズの抗体と同様のサイズの大きな蛋白質までの範囲の様々なサイズで存在する。足場の例としては、チンノットミニ蛋白質（ノッチンとしても知られる）、環状シスチンノットミニ蛋白質（シクロタイドとしても知られる）、アビマー（avimer）、アフィボディ、ヒトフィブロネクチンの第10のIII型ドメイン、DARPin s（設計されたアンキリン反復）、及びアンティカリン（anticalins）（リポカリンとしても知られる）が挙げられるが、これらに限定されない。既知の特異性を有する天然に生じるリガンドは、所与の標的に対する新規特異性を付与するように操作することもできる。操作され得る天然に生じるリガンドの例としては、EGFリガンド及びVEGFリガンドが挙げられる。操作された蛋白質は、所望の結合戦略及び特異性に応じて、単量体蛋白質として、又は多量体として産生され得る。蛋白質工学戦略を使用して、Fcドメインに対する代替蛋白質足場を融合させることができる。

10

20

【0452】

抗体アジュバント複合体の調製

本発明の免疫複合体を形成するための反応は、アジュバント部分を抗体に共有結合させるのに十分な条件下で実施される。一般に、反応は、抗体中のアミノ酸側鎖がアジュバントリンカー化合物と反応するように、抗体をアジュバントーリンカー化合物と接触させることによって実施される。いくつかの実施形態では、アジュバントーリンカー化合物及び抗体は、免疫複合体を形成する際に、おおよそ等モル量で使用される。いくつかの実施形態では、免疫複合体を形成する際に過剰なアジュバントーリンカー化合物が使用される。例えば、免疫複合体を形成するための反応混合物は、抗体に対して約1.1～約50モル当量のアジュバントーリンカー化合物を含有することができる。

30

【0453】

反応は、任意の好適な温度で実施することができる。一般に、反応は、約4℃～約40℃の温度で実施される。反応は、例えば、約25℃又は約37℃で実施することができる。反応は、任意の好適なpHで実施することができる。一般に、反応は、約4.5～約10のpHで実施される。反応は、例えば、約5～約9のpHで実施することができる。いくつかの実施形態では、反応は、中性pH付近（すなわち、pH7付近）で実施される。いくつかの実施形態では、反応は、7.2～7.5の範囲のpHで実施される。反応は、任意の好適な時間にわたって実施することができる。一般に、反応混合物は、好適な条件下、任意の場所で、約1分～数時間、インキュベートされる。反応は、例えば、約1分間、又は約5分間、又は約10分間、又は約30分間、又は約1時間、又は約2時間、又は約4時間、又は約8時間、又は約12時間、又は約24時間、又は約48時間、又は約72時間実施することができる。免疫複合体中の抗体とアジュバント部分を導入するために使用される試薬との同一性に応じて、他の反応条件が、本発明の方法において使用されてもよい。

40

【0454】

抗体アジュバント複合体を形成するための反応混合物は、生体複合体化反応に典型的に

50

使用される種の更なる試薬を含有することができる。例えば、特定の実施形態では、反応混合物は、緩衝剤（例えば、2-（N-モルホリノ）エタンスルホン酸（MES）、2-〔4-（2-ヒドロキシエチル）ピペラジン-1-イル〕エタンスルホン酸（HEPES）、3-モルホリノプロパン-1-スルホン酸（MOPS）、2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-プロパン-1, 3-ジオール（TRIS）、リン酸カリウム、リン酸ナトリウム、リン酸緩衝生理食塩水、クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、及びホウ酸ナトリウム）、共溶媒（例えば、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、エタノール、メタノール、テトラヒドロフラン、アセトン、及び酢酸）、塩（例えば、NaCl、KCl、CaCl₂、及びMn²⁺とMg²⁺との塩）、洗剤／界面活性剤（例えば、非イオン性界面活性剤、例えば、N, N-ビス〔3-（D-グルコンアミド）プロピル〕コラミド、ポリオキシエチレン（20）セチルエーテル、ジメチルデシルホスフィンオキシド、分枝状オクチルフェノキシポリ（エチレンオキシ）エタノール、ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンブロックコポリマー、 α -オクチルフェノキシポリエトキシエタノール、ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノオレエートなど；アニオン性界面活性剤、例えば、コール酸ナトリウム、N-ラウロイルサルコシン、ドデシル硫酸ナトリウムなど；カチオン性界面活性剤、例えば、ヘキサデシルトリメチルアンモニウムブロミド、トリメチル（テトラデシル）アンモニウムブロミドなど；又は双性イオン性界面活性剤、例えば、アミドスルホベタイン、3-〔（3-コラミドプロピル）ジメチル-アンモニオ〕-1-プロパンスルホネートなど；キレート剤（例えば、エチレンジアミン-ビス（2-アミノエチルエーテル）-N, N, N', N'-四酢酸（EGTA）、2-（〔2-〔ビス（カルボキシメチル）アミノ〕エチル〕（カルボキシメチル）アミノ）酢酸（EDTA）、及び1, 2-ビス（ α -アミノフェノキシ）エタン-N, N, N', N'-四酢酸（BAPTA））、及び還元剤（例えば、ジチオスレイトール（DTT）、 β -メルカプトエタノール（BME）、及びトリス（2-カルボキシエチル）ホスフィン（TCEP））を含むことができる。緩衝剤、共溶媒、塩、洗剤／界面活性剤、キレート剤、及び還元剤は、任意の好適な濃度で使用することができ、これは当業者によって容易に決定されることができる。一般に、緩衝剤、共溶媒、塩、洗剤／界面活性剤、キレート剤、及び還元剤は、約1 μ M～約1 Mの範囲の濃度で反応混合物中に含まれる。例えば、緩衝剤、共溶媒、塩、洗剤／界面活性剤、キレート剤、キレート剤、又は還元剤は、約1 μ M、又は約10 μ M、又は約100 μ M、又は約1 mM、又は約10 mM、又は約25 mM、又は約50 mM、又は約100 mM、又は約250 mM、又は約500 mM、又は約1 M. の濃度で反応混合物に含まれてもよい。

【0455】

免疫複合体の製剤及び投与

関連する一態様では、本発明は、上記のような複数の免疫複合体を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、免疫複合体当たりのアジュバント部分の平均の数は、約1～約10の範囲である。免疫複合体当たりのアジュバント部分の平均の数は、例えば、約1～約10、又は約1～約6、又は約1～約4の範囲であり得る。免疫複合体当たりのアジュバント部分の平均の数は、約0.8、1、1.2、1.4、1.6、1.8、2、2.2、2.4、2.6、2.8、3、3.2、3.4、3.6、3.8、4.0、又は4.2であり得る。いくつかの実施形態では、免疫複合体当たりのアジュバント部分の平均の数は、約4である。いくつかの実施形態では、免疫複合体当たりのアジュバント部分の平均数は、約2である。場合によっては、抗体は、単一のアジュバント部分に共有結合する。いくつかの場合において、抗体は、2つ以上のアジュバント部分（例えば、3つ以上、4つ以上、又は5つ以上のアジュバント部分）に共有結合する。場合によっては、抗体は、1～10個のアジュバント部分（例えば、1～8個、1～5個、1～3個、2～10個、2～8個、2～5個、2～3個、又は3～8個のアジュバント部分）に共有結合する。場合によっては、抗体は、2～10個のアジュバント部分（例えば、2～8個、2～5個、2～3個、又は3～10個、又は3～8個のアジュバント部分）に共有結合する。抗体が2つ以上のアジュバント部分に共有結合している場合には、結合したアジュバント部

分は同じであっても異なっているもよい。例えば、場合によっては、アジュバント部分のうち2つ以上は同じであってもよい（例えば、同じアジュバント部分の2つの異なる分子は、抗体上の異なる部位で抗体にそれぞれ結合され得る）。いくつかの場合において、抗体は、2つ以上の異なるアジュバント部分（例えば、3つ以上、4つ以上、又は5つ以上の異なるアジュバント部分）に共有結合する。例えば、本発明の免疫複合体を生成するとき、1つ以上の抗体中のアミノ酸側鎖がアジュバントーリンカー化合物と反応するように、1つ以上の抗体は、2つ以上（例えば、3つ以上、4つ以上、又は5つ以上）の異なるアジュバントーリンカー化合物を含む混合物と接触させることができ、その結果、2つ以上の異なるアジュバント部分にそれぞれ共有結合している1つ以上の免疫複合体をもたらす。

10

【0456】

部位特異的抗体複合体化により、抗体中のリジン残基への結合から生じる不均質な複合体化生成物と比較して、アジュバントの抗体上での正確な配置、及び均質なDARが可能になる。部位特異的免疫複合体は、抗体の様々な修飾によって生成され得る。部位特異的複合体化のための方法としては、以下の方法が挙げられるが、本明細書に記載される方法に限定されるものではない。部位特異的複合体化のための1つの方法は、配列の組み込みを伴い、これは次に、酵素により認識されて、化学的修飾をもたらす。例えば、酵素FGEは、配列Cys-X-Pro-X-Argを認識する。哺乳類培養物中のFGEと修飾された抗体との共発現は、操作された部位（複数可）においてアルデヒドタグを含有する抗体を生成する。部位特異的複合体化を可能にする化学反応性基への変換のための天然に生じる配列又は残基を認識する他の酵素を使用してもよい。細菌トランスグルタミナーゼ（Bacterial transglutaminase、BTG）は、グルタミン残基と一級アミンとの間の結合の形成を触媒することができ、細菌酵素ソルターゼAは、認識モチーフを介して、ペプチド転移反応を触媒することができる。非天然アミノ酸は、抗体配列に組み込まれてもよく、これは次に反応して、部位特異的複合体を生成し得る。アミノ酸セレノシステインなどの天然に生じる残基を抗体に組み込み、続いて、部位特異的複合体化のためにマレイミド及びヨードアセトアミドを含むがこれらに限定されない適切な反応基と反応させることができる。別の方法は、抗体構築物の重鎖又は軽鎖に付加される操作されたシステイン残基の組み込みである。重鎖及び／又は軽鎖をコードするベクターは、システイン残基についてのコドン配列を組み込むように修飾される。複合体化は、最初に抗体を還元し、次いで再酸化して、抗体の天然のジスルフィド結合を再生成し、反応性チオール（複数可）の除去をもたらすことによって実施される。アジュバントーリンカーと反応すると、得られた生成物は、抗体中に操作されたシステイン残基の数によって定義されるDARを有する免疫複合体の均質な集団を含有する。例えば、位置205における軽鎖のバリンからシステインへの組み込み（V205C変異）は、定義された部位（V205C）で複合体化したアジュバントを有する生成物をもたらす。

20

30

【0457】

いくつかの実施形態では、組成物は、1つ以上の薬学的に許容される賦形剤を更に含む。例えば、本発明の免疫複合体は、静脈内（intravenous、IV）投与又は臓器の体腔若しくは内腔への投与などの非経口投与用に製剤化することができる。あるいは、免疫複合体は、腫瘍内に注入することができる。注射用製剤は、一般に、薬学的に許容される担体中に溶解した免疫複合体の溶液を含む。使用することができる許容可能なビヒクル及び溶媒の中としては、水及びRingier溶液、等張塩化ナトリウムが挙げられる。加えて、滅菌凝固油は、従来、溶媒又は懸濁媒体として使用され得る。この目的のために、合成モノグリセリド又はジグリセリドを含む任意の無刺激凝固油を用いることができる。加えて、オレイン酸などの脂肪酸も同様に、注射剤の調製に使用することができる。これらの溶液は無菌であり、一般に望ましくない物質を含まない。これらの製剤は、従来の周知の滅菌技術によって滅菌することができる。製剤は、必要に応じて、おおよその生理学的条件に近づけるために、薬学的に許容される補助物質、例えば、pH調整及び緩衝剤、毒性調整剤、例えば、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、乳酸

40

50

ナトリウムなどを含有することができる。これらの製剤中の免疫複合体の濃度は、広く異なり得るものであり、選択される特定の投与モード及び患者の必要性に応じて、主として流体体積、粘度、体重などに基づいて選択される。特定の実施形態では、注射用の溶液製剤中の免疫複合体の濃度は、約 0.1 重量%～約 10 重量%の範囲である。

【0458】

別の態様では、本発明は癌を治療するための方法を提供する。本方法は、治療有効量の免疫複合体（例えば、上記の組成物として）を、それを必要とする対象に投与することを含む。例えば、方法は、約 100 ng/kg～約 50 mg/kg の用量を対象に提供するように、免疫複合体を投与することを含み得る。免疫複合体の用量は、約 5 mg/kg～約 50 mg/kg、約 10 µg/kg～約 5 mg/kg、又は約 100 µg/kg～約 1 mg/kg の範囲であり得る。免疫複合体の用量は、約 100、200、300、400、又は 500 µg/kg であり得る。免疫複合体の用量は、約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 10 mg/kg であり得る。免疫複合体の用量はまた、特定の免疫複合体、並びに治療される癌の種類及び重症度に応じて、これらの範囲外であることもできる。投与頻度は、1 週間当たり単一投与量から複数回投与量までの範囲であるか、又はより頻繁であり得る。いくつかの実施形態では、免疫複合体は、1 ヶ月当たり約 1 回～1 週間当たり約 5 回投与される。いくつかの実施形態では、免疫複合体は、週 1 回投与される。

【0459】

本発明のいくつかの実施形態は、癌が頭部及び頸部癌である、上記の癌を治療するための方法を提供する。頭部及び頸部癌（並びに頭部及び頸部扁平上皮細胞癌）は、口腔、咽頭及び喉頭、唾液腺、副鼻腔、及び鼻腔、並びに頸部上部のリンパ節の扁平上皮細胞癌を特徴とする様々な癌を指す。頭部及び頸部癌は、米国における全ての癌の約 3～5 パーセントを占める。これらの癌は、男性及び 50 歳以上の人においてより一般的である。タバコ（無煙タバコを含む）及びアルコールの使用は、頭部及び頸部癌、特に、口腔、中咽頭、下咽頭、及び喉頭の癌について、最も重要な危険因子である。頭部及び頸部癌の 85% は、タバコの使用に関連している。本発明の方法では、免疫複合体を使用して多数の悪性細胞を標的化することができる。例えば、免疫複合体を使用して、唇、口腔、咽頭、喉頭、鼻腔、又は副鼻腔の扁平上皮細胞を標的とすることができる。免疫複合体を使用して、粘膜上皮性癌腫細胞、アデノイド嚢胞癌腫細胞、腺癌細胞、小細胞未分化癌細胞、感覚神経芽腫細胞、ホジキンリンパ腫細胞、及び非ホジキンリンパ腫細胞を標的とすることができる。いくつかの実施形態では、頭部及び頸部癌を治療するための方法は、EGFR（例えば、セツキシマブ、パニツムマブ、マツズマブ、及びズツムマブ）、PD-1（例えば、ペムブロリズマブ）、及び／又は MUC1 を結合させることができる抗体を含有する免疫複合体を投与することを含む。

【0460】

本発明のいくつかの実施形態は、癌が乳癌である、上記の癌を治療するための方法を提供する。乳癌は乳房の異なる領域に由来してもよく、多くの異なる種類の乳癌が特徴付けられている。例えば、本発明の免疫複合体は、その場での腺管癌腫、侵襲性腺癌腫（例えば、管状癌腫、髄様癌腫、粘液性癌腫、乳頭癌、又は乳房の篩状癌腫）、その場での小葉癌、侵襲性小葉癌、炎症性乳癌、及び他の形態の乳癌を治療するために使用することができる。いくつかの実施形態では、乳癌を治療するための方法は、HER2（例えば、トラスツズマブ、マルゲツキシマブ）、糖蛋白質 NMB（例えば、ガレムバツムマブ）、及び／又は MUC1 を結合させることができる抗体を含有する免疫複合体を投与することを含む。

【0461】

本開示の非限定的態様の例

本明細書に記載される本主題の実施形態を含む態様は、1 つ以上の他の態様又は実施形態と共に、単独で又は組み合わせて、有益であり得る。前述の説明を限定することなく、1～21 の番号付けされた本開示の特定の非限定的な態様が以下に提供される。本開示を読むことにより、当業者には明らかとなるように、個々に番号付けされた各態様は、個々

に番号付けされた態様に先行する又は後続する任意のものと組み合わせることができる。これは、そのような全ての態様の組み合わせのための支持を提供することを意図するものであり、以下に明示的に提供される態様の組み合わせに限定されない。

【0462】

1. (a) (i) 抗原結合ドメイン及び (i i) Fcドメインを含む抗体構築物と、(b) アジュバント部分と、(c) エチレングリコール基又はグリシン残基を含むリンカーと、を含む免疫複合体であって、各アジュバント部分が、リンカーを介して抗体構築物に共有結合している、免疫複合体。

【0463】

2. 抗体構築物が、標的結合ドメインを更に含む、態様1に記載の免疫複合体。

10

【0464】

3. 抗体構築物が抗体である、態様1に記載の免疫複合体。

【0465】

4. 抗原結合ドメインが癌細胞の抗原に結合する、態様1～3のいずれか1つに記載の免疫複合体。

【0466】

5. 抗原結合ドメインが、CCR8、CDH1、CD19、CD20、CD29、CD30、CD38、CD40、CD47、EPCAM、MUC1、MUC16、EGFR、VEGF、HER2、SLAMF7、PDGFRA、及びgp75からなる群から選択される抗原に結合する、態様1～4のいずれか1つに記載の免疫複合体。

20

【0467】

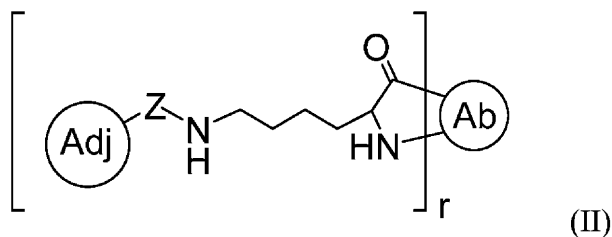
6. 抗体がIgG1抗体である、態様3～5のいずれか1つに記載の免疫複合体。

【0468】

7. 免疫複合体が、式II

【0469】

【化129】



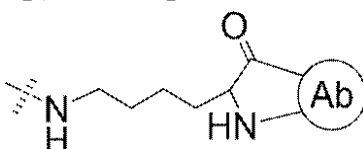
30

【0470】

(式中、

【0471】

【化130】



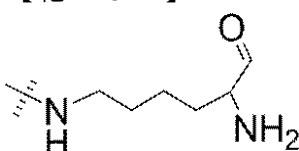
40

【0472】

は、抗体のリジン残基を表す

【0473】

【化131】



【0474】

50

残基を有する抗体であり、

【0475】

【化132】

「 $\cdots$ 」

【0476】

はZに対する結合点を表し、Adjは、アジュバントであり、下付き文字rは、1～10の整数であり、Zは、エチレングリコール基又はグリシン残基を有する二価の連結部分である）による構造を有する、態様3～6のいずれか1つの記載の免疫複合体。

【0477】

8. Zが、ポリ（エチレングリコール）基を含む、態様7に記載の免疫複合体。

【0478】

9. Zがグリシン残基を含む、態様7又は8に記載の免疫複合体。

【0479】

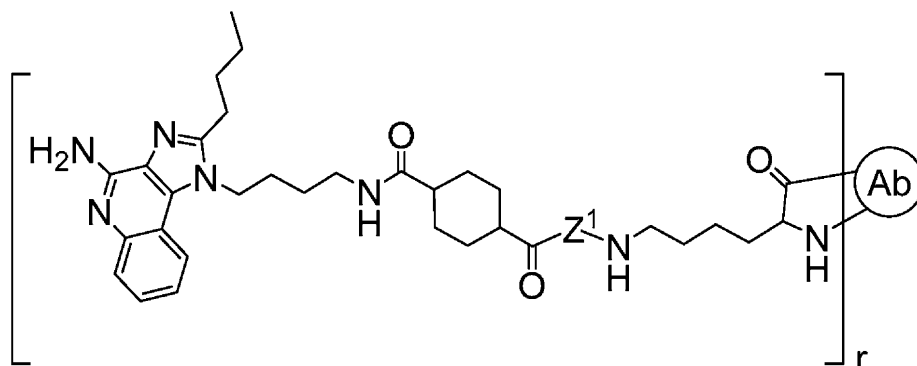
10. Zが二価シクロヘキシレン基を更に含む、態様7～9のいずれか1つに記載の免疫複合体。

【0480】

11. 免疫複合体が、式IIIa：

【0481】

【化133】



(IIIa),

【0482】

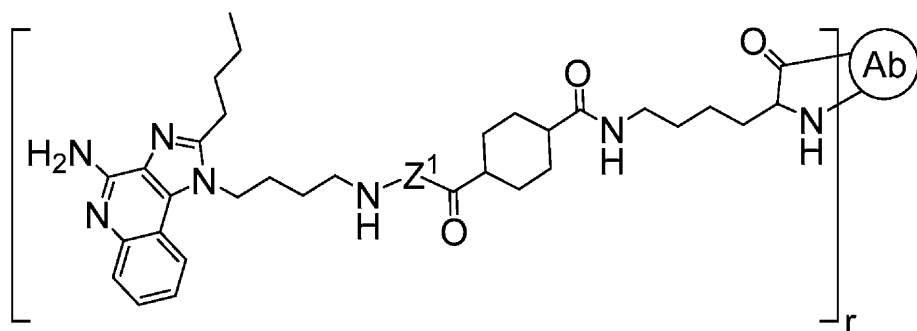
（式中、Z¹は、少なくとも1つのエチレングリコール基又は少なくとも1つのグリシン残基を含む）による構造を有する、態様10に記載の免疫複合体。

【0483】

12. 免疫複合体が、式IIIb：

【0484】

【化134】



(IIIb),

【0485】

（式中、Z¹は、少なくとも1つのエチレングリコール基又は少なくとも1つのグリシ

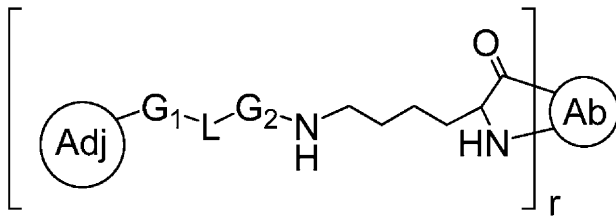
ン残基を含む) による構造を有する、態様 10 に記載の免疫複合体。

【0486】

13. 免疫複合体が、式 IV :

【0487】

【化135】



(IV)

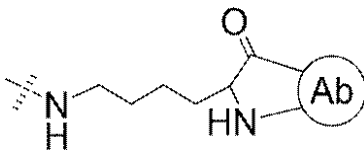
10

【0488】

(式中、

【0489】

【化136】



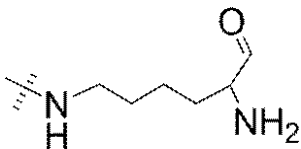
20

【0490】

は、抗体のリジン残基を表す

【0491】

【化137】



【0492】

残基を有する抗体であり、

【0493】

【化138】

「」

【0494】

は、 G_2 に対する結合点を表し、Adj はアジュバントであり、 G_1 は、 CH_2 、 $C=O$ 、又は結合であり、 G_2 は、 CH_2 、 $C=O$ 、又は結合であり、L はリンカーであり、下付き文字 r は 1 ~ 10 の整数である) による構造を有する、態様 7 ~ 9 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体、又はその薬学的に許容される塩。

30

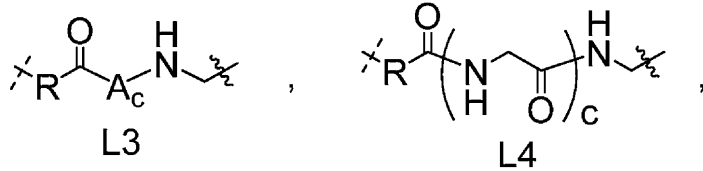
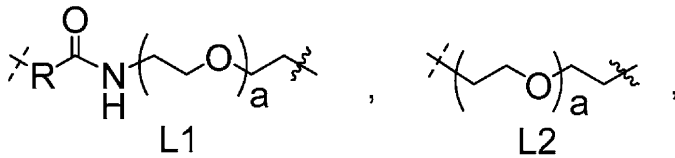
40

【0495】

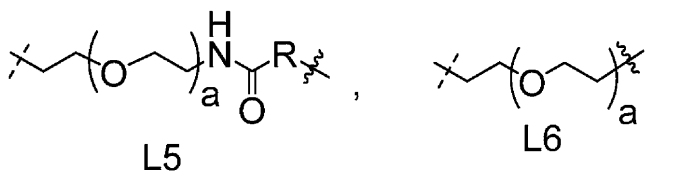
14. L が、以下 :

【0496】

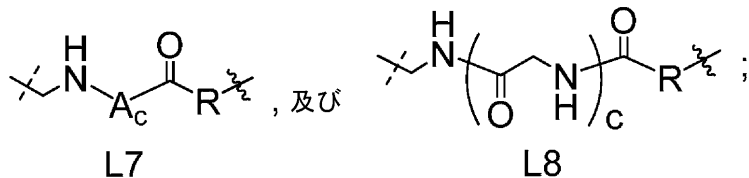
【化 1 3 9】



10



20



【0 4 9 7】

(式中、Rは、任意に存在し、1～8個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、aは、1～40の整数であり、各Aは、独立して、任意のアミノ酸から選択され、下付き文字cは、1～25の整数であり、破線

30

【0 4 9 8】

【化 1 4 0】

(「 $\diagup$ 」)

【0 4 9 9】

は、G₁に対する結合点を表し、波線

【0 5 0 0】

【化 1 4 1】

(「 $\sim$ 」)

40

【0 5 0 1】

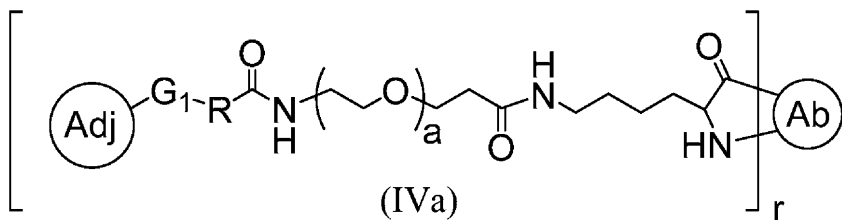
は、G₂に対する結合点を表す)から選択される、態様13に記載の免疫複合体。

【0 5 0 2】

15. 免疫複合体が、式IVa:

【0 5 0 3】

【化 1 4 2】



【0 5 0 4】

(式中、A b は、本明細書に定義されたとおりであり、A d j は、アジュバントであり、G₁ は、C H₂、C = O、又は結合であり、R は、任意に存在し、1 ~ 8 個の炭素単位を含む直鎖又は分枝鎖、環状又は直線状、飽和又は不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、下付き文字 a は、1 ~ 4 0 の整数であり、下付き文字 r は、1 ~ 1 0 の整数である) による構造を有する、態様 1 3 又は 1 4 に記載の免疫複合体又はその薬学的に許容される塩。

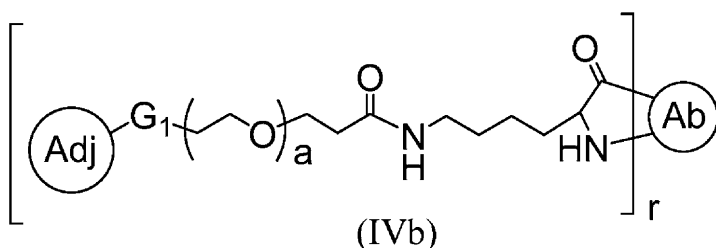
10

【0 5 0 5】

1 6 . 免疫複合体が、式 I V b :

【0 5 0 6】

【化 1 4 3】



20

【0 5 0 7】

(式中、A b は、本明細書に定義されたとおりであり、A d j は、アジュバントであり、G₁ は、C H₂、C = O、又は結合であり、下付き文字 a は、1 ~ 4 0 の整数であり、下付き文字 r は、1 ~ 1 0 の整数である) による構造を有する、態様 1 3 又は 1 4 に記載の免疫複合体又はその薬学的に許容される塩。

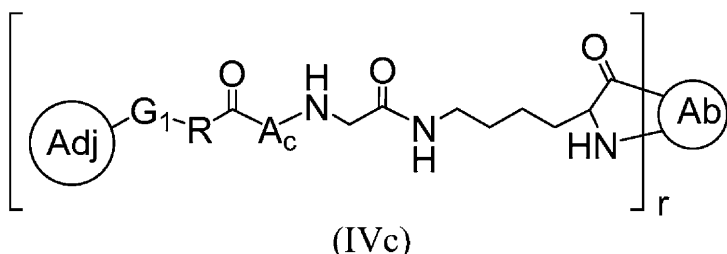
30

【0 5 0 8】

1 7 . 免疫複合体が、式 I V c :

【0 5 0 9】

【化 1 4 4】



40

【0 5 1 0】

(式中、A b は、本明細書に定義されたとおりであり、A d j は、アジュバントであり、G₁ は、C H₂、C = O、又は結合であり、R は、任意に存在し、1 ~ 8 個の炭素単位を含む直鎖又は分枝鎖、環状又は直線状、飽和又は不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、各 A は、独立して、任意のアミノ酸から選択され、下付き文字 c は、1 ~ 2 5 の整数であり、下付き文字 r は、1 ~ 1 0 の整数である) による構造を有する、態様 1 3 又は 1 4 に記載の免疫複合体又はその薬学的に許容される塩

50

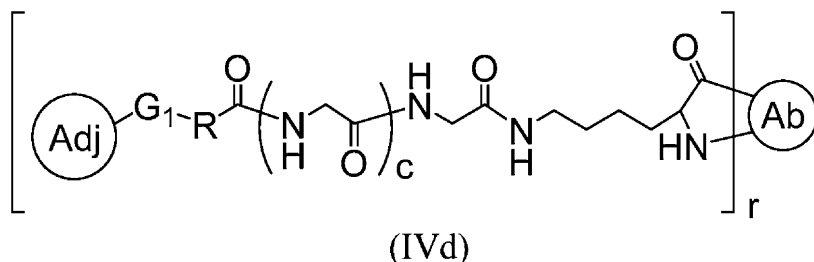
。

【0511】

18. 免疫複合体が、式IVd：

【0512】

【化145】



10

【0513】

(式中、Abは、本明細書に定義されたとおりであり、Adjは、アジュバントであり、G₁は、CH₂、C=O、又は結合であり、Rは、任意に存在し、1～8個の炭素単位を含む直鎖又は分枝鎖、環状又は直線状、飽和又は不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、下付き文字cは、1～25の整数であり、下付き文字rは、1～10の整数である)による構造を有する、態様17に記載の免疫複合体又はその薬学的に許容される塩。

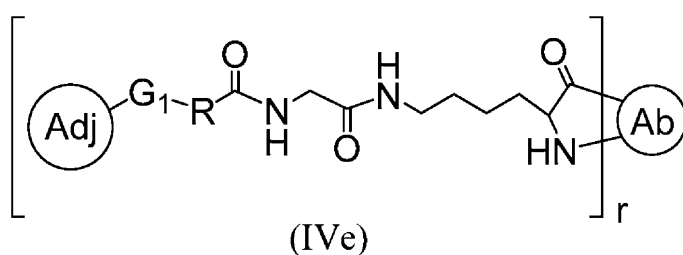
20

【0514】

19. 免疫複合体が、式IVe：

【0515】

【化146】



30

【0516】

(式中、Abは、本明細書に定義されたとおりであり、Adjは、アジュバントであり、G₁は、CH₂、C=O、又は結合であり、Rは、任意に存在し、1～8個の炭素単位を含む直鎖若しくは分枝鎖、環状若しくは直線状、飽和若しくは不飽和アルキル、ヘテロアルキル、アリール、又はヘテロアリール鎖であり、下付き文字rは、1～10の整数である)による構造を有する、態様13又は14に記載の免疫複合体又はその薬学的に許容される塩。

【0517】

20. 態様1～19のいずれか1つに記載の複数の免疫複合体を含む組成物。

40

【0518】

21. 治療有効量の態様1～19のいずれか1つに記載の免疫複合体又は態様20に記載の組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む、癌を治療するための方法。

実施例

実施例1：免疫複合体I～IIIの調製

【0519】

以下のスキーム1に示されるように、イミダゾキノリン1(1-(4-アミノブチル)-2-プロピル-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン)を2,5-ジオキソピロリジン-1-イル4-((2-((2-((2,5-ジオキソピロリジン-1-イル)オキシ)-2-オキソエチル)アミノ)-2-オキソエチル)カルバモイル)シク

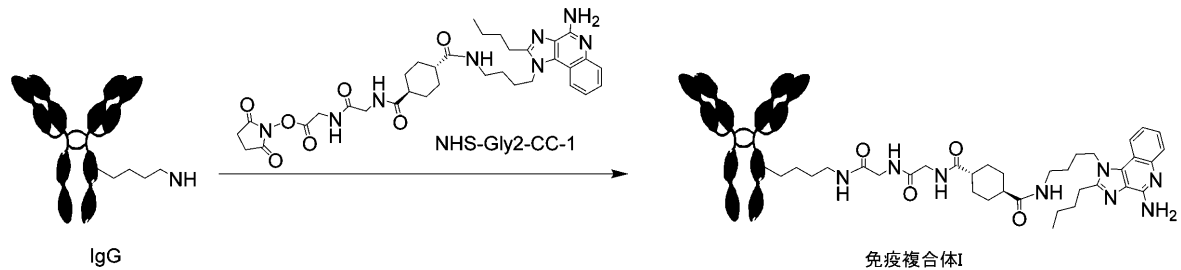
50

ロヘキサン-1-カルボキシレートと反応させて、 NHS-Gly2-CC-1 を形成する。スキーム2に示されるように、イミダゾキノリン1は、 NHS-EG-CC-1 に類似の様式で変換される。スキーム3に示されるように、イミダゾキノリン1及びアルデヒド2を水素化ホウ素ナトリウムの存在下で反応させ、得られた中間体をN-ヒドロキシスクシンイミドでエステル化して、 NHS-EG-1 を形成する。

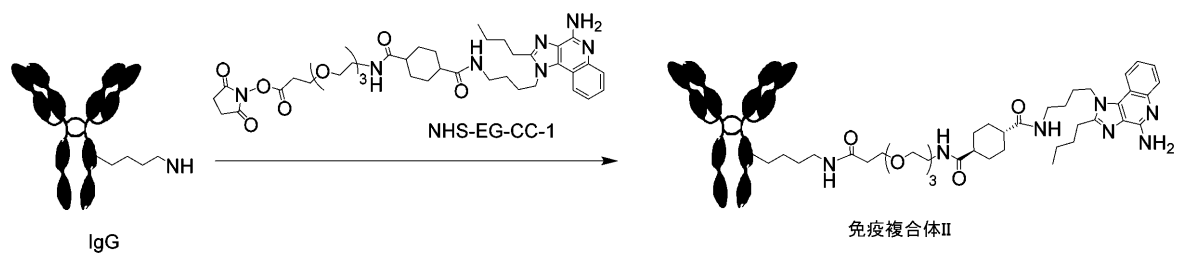
【0520】

【化147】

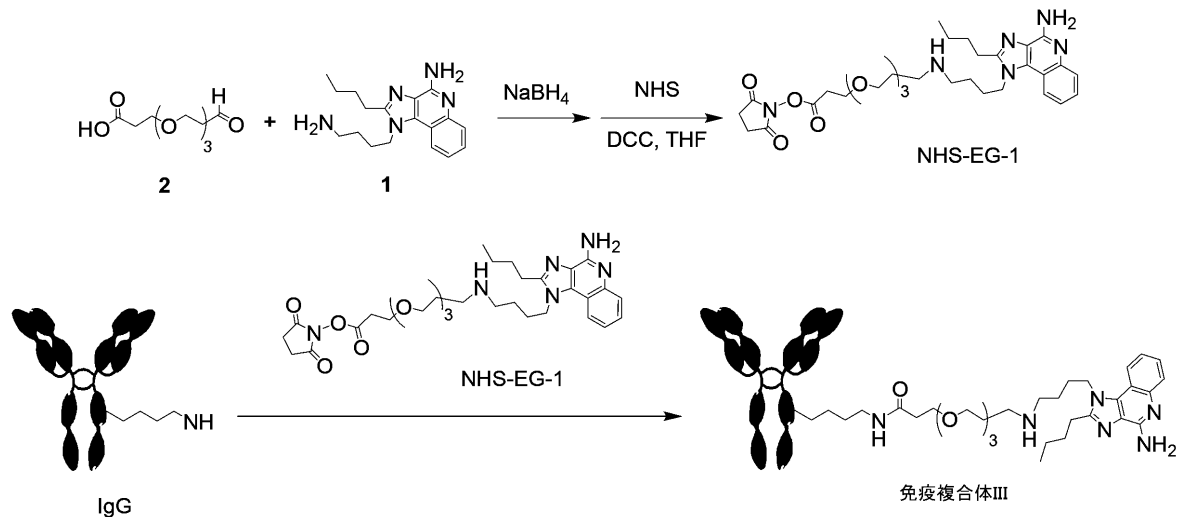
スキーム1



スキーム2



スキーム3



【0521】

抗体を、 $1 \sim 5 \text{ mg/mL}$ で、リン酸緩衝生理食塩水（phosphate buffered saline、PBS）中に再懸濁させ、10倍モル過剰の NHS-Gly2-CC-1 、 NHS-EG-CC-1 、又は NHS-EG-1 と室温で30分間反応させる。得られた免疫複合体を、製造業者の指示書（EMD Millipore）に従って、Ultracel-100メンブレン付きの平衡化されたAmiconウルトラ遠心式フィルターユニットを用いて、PBS中で3回洗浄して、過剰な試薬及び副産物から精製する。

【0522】

平均アジュバント対抗体比は、MALDI-TOFにより決定される。試料を脱塩し、Zebaスピン脱塩カラム（ThermoFisher Scientific）を用いて、緩衝液を脱イオン水に交換する。マトリックス（シナピン酸）を最初にMALDI試

10

20

30

40

50

料標的プレート上にスポットし、乾燥させる。次に、試料を、ウシ血清アルブミン (bovine serum albumin、BSA) 標準 (0.25~1 pMのBSA) を用いて、又は用いることなく、1:1比で混合し、マトリックス試料をプレート上にスポットする。マトリックス及び試料層の両方が乾燥すると、AB Sciex TOF/TOF 5800で試料を分析する。負イオン化を伴う高質量検出器 (Covall X) は、完全にインタクトなIgG抗体 (約150,000 kDa) の範囲の蛋白質サイズでの感受性及び分解能の向上を可能にする。

【0523】

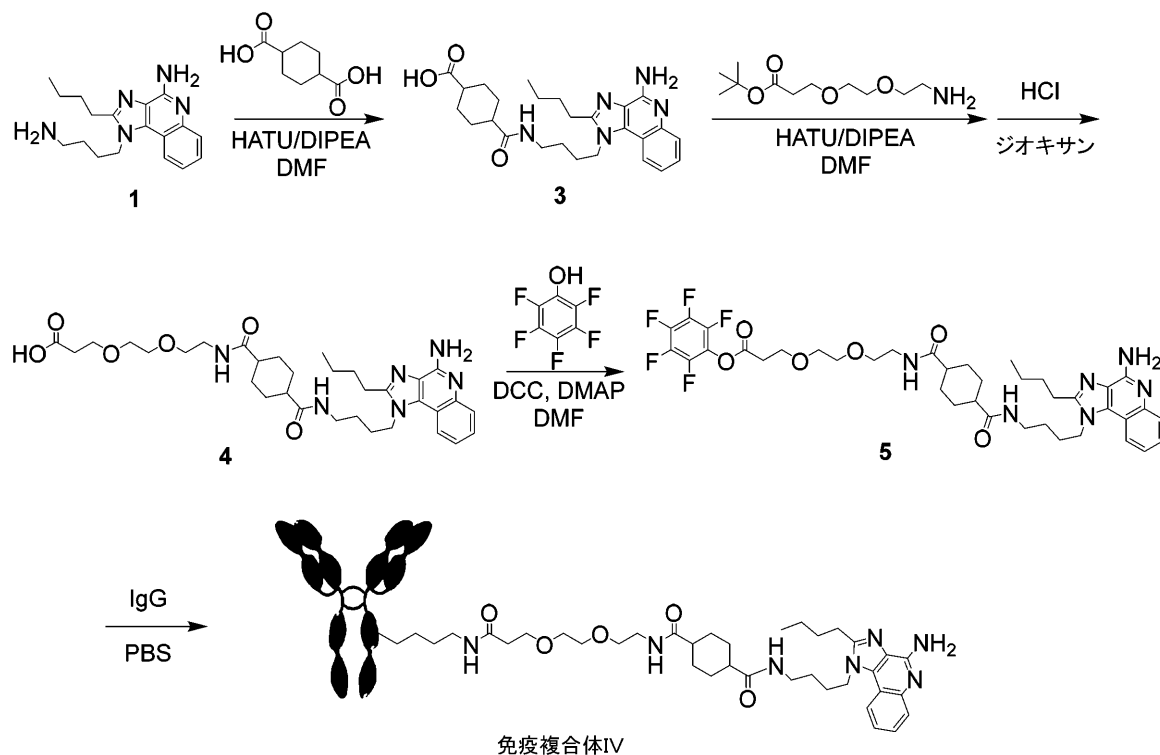
ヒト単球は、免疫複合体を用いて一晚刺激した後、DC分化を受けることが観察されるが、既知の刺激剤 (例えば、GM-CSF及びIL-4) を用いたDC分化プロトコルは、より長い期間を必要とする。

実施例2：ペンタフルオロフェニル (「PFPE」) エステルを用いた免疫複合体IVの調製

【0524】

【化148】

スキーム4



【0525】

この実施例は、PFPEエステル法を用いた免疫複合体の合成についての手引きを提供する。アジュバントのエステル修飾、及び修飾されたアジュバントの抗体への複合体化を、スキーム4の上部に示す。シクロヘキサントランス-1,4-ジカルボキシレート (1g) を、10 mLのジメチルホルムアミド (dimethylformamide、「DMF」) 中に溶解し、次いで、1-[ビス(ジメチルアミノ)メチレン]-1H-1,2,3-トリアゾロ[4,5-b]ピリジニウム3-オキシドヘキサフルオロホスフェート (「HATU」) (1 mmol) を添加し、続いて、1 mLのN-エチル-N-(プロパン-2-イル)プロパン-2-アミン (「DIPEA」) を添加した。化合物1 (311 mg) を添加し、混合物を20℃で一晩攪拌した。反応混合物を50 mLのジクロロメタン (dichloromethane、「DCM」) で希釈し、20 mLの1N HClで洗浄した。DCM層を蒸発乾固させ、生成物をシリカゲル上で、1%の酢酸を含有するDCM中0~10%のMeOHで溶出して、精製した。純粋な画分を濃縮して、220 mgの精製された酸3を得た。化合物3 (100 mg) をTHF中に溶解し、100 mgのHATUを添加し、続いて200

μL のD I P E Aを添加した。2当量のアミノ-PEG 2-tertブチル-カルボキシレートに添加し、20℃で1時間攪拌した。混合物を濃縮乾固させ、ジオキサン中10ミリリットルの4N HClを添加した。混合物を濃縮乾固させ、粗生成物4を分取HPLCにより精製して、40mgの化合物4を得た。

【0526】

化合物4を、以下に記載されるように、PFPEステル5に変換した。化合物4 (35mg)を5mLのTHF中の50mgのPFPEに添加し、5mLのDMFを添加し、続いて20mgのDCCを添加した。DMA P (2~3mg)を添加し、溶液を20℃で一晩攪拌した。反応物を濃縮し、フラッシュクロマトグラフィ (0~10%のMeOHで溶出)により精製して、1:2のアセトニトリル水からの凍結乾燥後に、17mgのPFPEステル5を得た。

10

【0527】

PFPEステル5 (IgGに対して6モル当量)を20mgのIgG抗体 (具体的には、抗CD20抗体リツキシマブ) (PBS中10mg/mL)に添加し、37℃で一晩インキュベートした。得られた免疫複合体IVをPBS (pH7.2)に緩衝液交換して、過剰な小分子量試薬を除去し、ナノドロップ上で濃度を測定した。収率は、15mgの免疫複合体IV (収率75%)であった。生成物を4℃で貯蔵した。LC/MS分析によって、2.2のDARを測定した。望ましいDAR及び高収率の他に、生成物はまた、SEC分析によって測定される不純物もほとんど有さなかった。

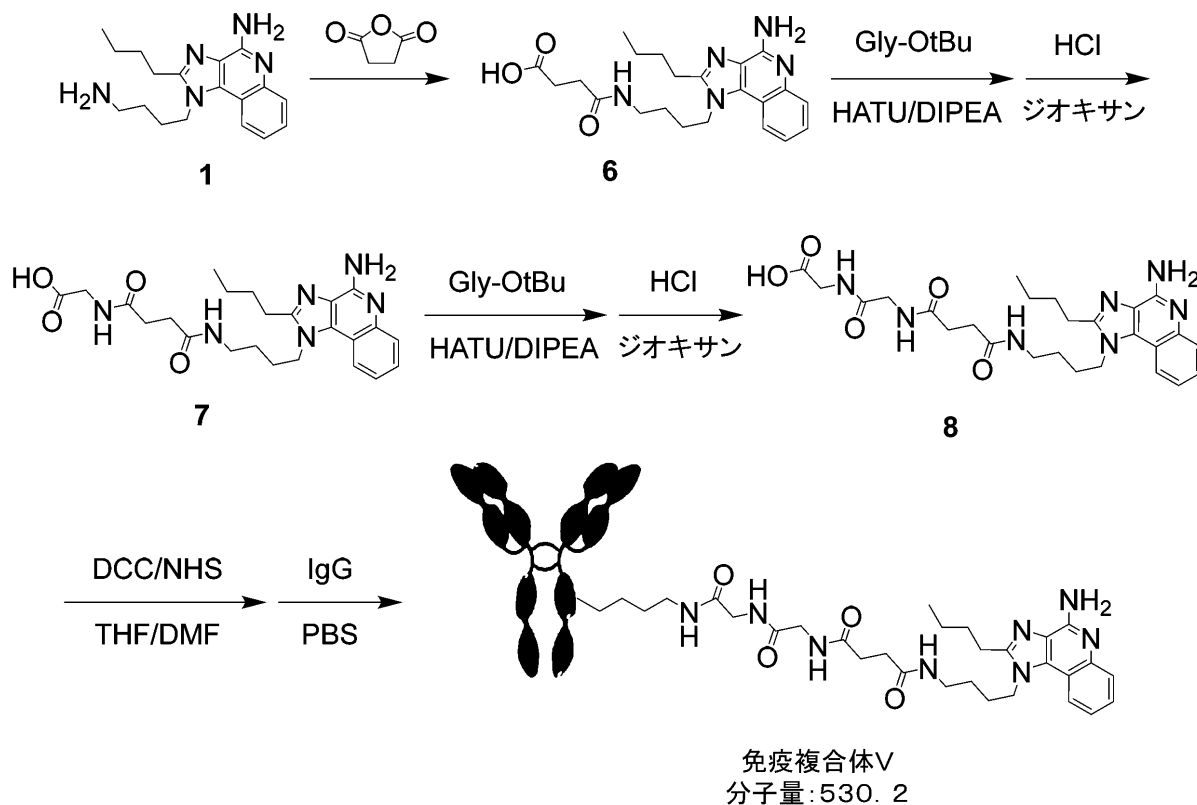
20

実施例3: NHSEステルを用いた免疫複合体Vの調製

【0528】

【化149】

スキーム5



30

40

【0529】

アジュバントのエステル修飾、及び修飾されたアジュバントの抗体への複合体化を、スキーム5の上部に示す。化合物1 (150mg)を20mLのテトラヒドロフルラン (tetrahydrofuran、「THF」)中に溶解し、10mLの水性飽和重炭酸ナトリウムを添加した。次いで、50mgの無水コハク酸を一度に添加し、混合物を室温で1時間攪拌した。20ミリリットルの1NのHClをゆっくり添加し、混合物を2×50mLのジクロロ

50

メタンで抽出した。合わせた有機抽出物を蒸発乾固させた。粗生成物（6）を、4グラムのシリカゲルカラム上で、0～15%のMeOH（1%酢酸）で15分間溶出して、精製した。純粋な画分を合わせ、蒸発させて、190mgの純粋な化合物6を得た。

【0530】

化合物6（150mg）を10mLのDMFに溶解し、1当量のHATUを加え、続いて2当量のDIPEAを加えた。1.5当量のグリシン-OtBuを添加し、一晩撹拌した。DMFを蒸発させ、残留物をジオキサン中5mLの1NのHClで30分間処理した。溶媒を蒸発させ、粗化合物7を、0～10%のMeOHで10分間溶出した4グラムのシリカゲルカラム上でフラッシュ精製した。純粋な画分の蒸発により、110mgの化合物7が得られ、純粋な材料をDMF中に溶解し、上記プロセスを繰り返して、60mgの純粋な化合物8を得た。

10

【0531】

純粋な化合物8（30mg）を5mLのDMF中に溶解し、1.5当量のNHSを添加し、続いて5mLのTHFを添加した。DCC（1.5当量）を添加し、混合物を室温で一晩撹拌した。溶媒を蒸発させ、粗NHSエステルを、DCM中0～10%のMeOHで10分間溶出したシリカゲル上でフラッシュ精製した。純粋画分（TLCにより決定）を合わせ、蒸発させて、アセトニトリル水から凍結乾燥した後、1mgの純粋なNHS化合物8を得た。

【0532】

純粋なNHSエステルをDMSO中に溶解させて、20mMの溶液を作成し、6当量を2mLのIgG抗体（具体的には、抗CD20抗体リツキシマブ）（PBS中10mg/mL）に添加した。複合体化反応物を室温で一晩インキュベートし、緩衝液を新しいPBSに交換して、過剰なアジュバントを除去した。精製した免疫複合体Vを滅菌濾過し、4℃で保存した。収率は約16mgであった。高収率を有することに加え、LC/MS分析は、高レベルの純度、低レベルの凝集、及び望ましいDAR比を示した。

20

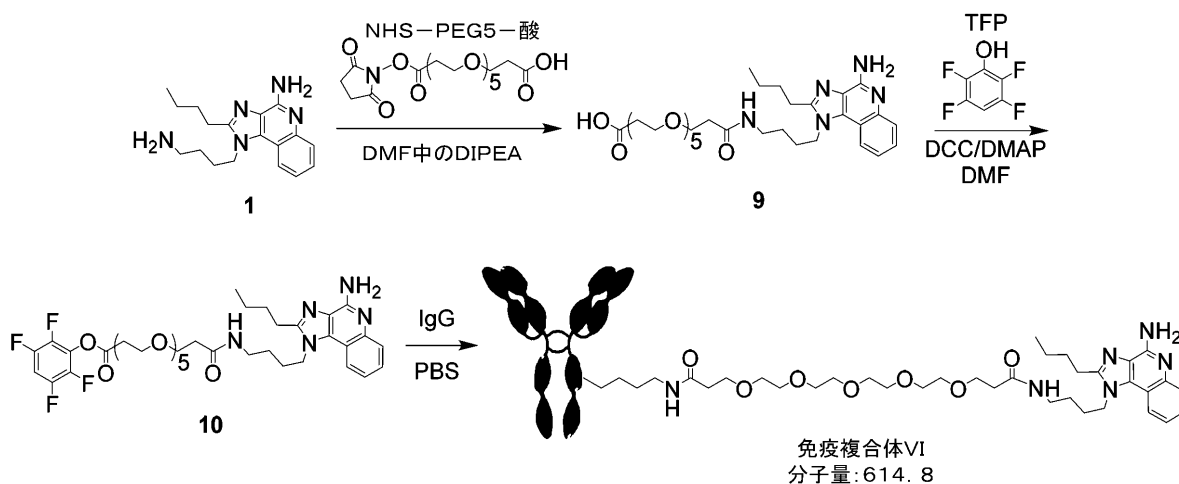
実施例4：TFPエステルを用いた免疫複合体VIの調製

【0533】

【化150】

スキーム6

30



40

【0534】

この実施例は、TFPエステル法を使用する、異なるリンカーとの免疫複合体の合成についての手引きを提供する。アジュバントのエステル修飾、及び修飾されたアジュバントの抗体への複合体化を、スキーム6の上部に示す。化合物1（311mg、1mmol）を10mLのDMF中に溶解し、0.3mLのDIPEAを添加した。NHS-PEG5-酸（1.2当量）を5mLのジクロロメタン中に溶解し、化合物1に一度で添加した。混合物を室温で一晩撹拌し、次いで、濃縮乾固させた。粗残渣を、1%酢酸を含むDCM

50

中の 0～10% の MeOH で 10 分間溶出する 4 g のカラム上のシリカゲルクロマトグラフィにより精製し、純粋画分の濃縮後に、260 mg の化合物 9（収率 57%）を得た。

【0535】

化合物 9（50 mg）を 10 mL の DMF 中に溶解し、1.5 当量の TFP を添加し、続いて 1.2 当量の DCC 及び 5 mg の DMAP を添加した。反応物を一晩攪拌し、濃縮乾固させ、DCM 中の 0～10% の MeOH で溶出したシリカゲル 4 グラムのカラム上で精製し、1：2 のアセトニトリル水から凍結乾燥した後に、35 mg の純粋な化合物 10 を得た。

【0536】

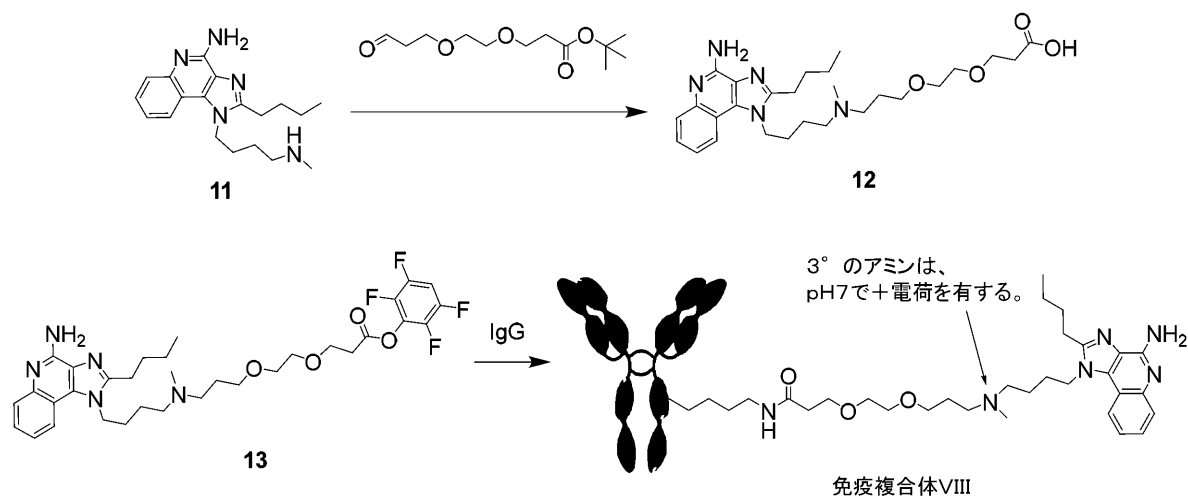
TFP エステル（10）を DMSO 中に溶解させて、20 mM の原液を作製し、PBS 中 10 mg/mL の、20 mg の IgG 抗体（具体的には、抗 CD20 抗体リツキシマブ）に添加した。複合体化反応を室温で一晩進行させた。得られた免疫複合体 VI を pH 7.4 で PBS に緩衝液交換した（GE、PD10 脱塩カラム）。精製した免疫複合体を、2 μm のシリンジフィルターを用いて滅菌濾過し、4℃ で保存した。LC/MS 分析により、プロセスは、抗体当たり 2.9 アジュバントの DAR を提供したことが確認された。SEC 分析は、最小限の量の凝集体（すなわち、2% 未満）を示した。

実施例 5：TFP エステルを用いた免疫複合体 VII の調製

【0537】

【化 151】

スキーム 7



【0538】

この実施例は、TFP法を使用する、PEG三級アミンリンカーを含有する免疫複合体の合成についての手引きを提供する。化合物 11（200 mg）をメタノール（20 mL）中に溶解し、3 当量の tert-ブチル 3-（2-（3-オキソプロポキシ）エトキシ）プロパノエートを添加し、続いて 1.1 当量の NaCNBH₄ を添加した。混合物を室温で 3 時間攪拌し、濃縮乾固させた。トリフルオロ酢酸（Trifluoroacetic acid、TFA、10 mL）を添加し、反応物を室温で 2 時間攪拌した。TFA を真空下で蒸発させ、粗生成物を、分取 HPLC によって C-18 カラム上で精製した。生成物を、水（0.1% の TFA）中 10～90% のアセトニトリルの勾配で 20 分間溶出させ、組み合わせた純粋画分（LC/MS により確認された）の凍結乾燥後に、85 mg の精製された酸 12 を得た。

【0539】

化合物 12（80 mg）をジクロロメタン/ジメチルホルムアミド（5 mL、1：1）中に溶解し、2 当量の TFP を添加し、続いて 1.2 当量の EDCI を添加した。反応物を室温で一晩攪拌した。粗 TFP エステル生成物 13 を、0～10% のイソプロパノールで 10 分間溶出する 4 グラムのシリカゲルカラム上のフラッシュクロマトグラフィにより

精製した。純粋な画分を濃縮し、残渣を30%のアセトニトリル水から凍結乾燥して、45 mgの化合物13の精製されたTFPエステルをベージュ色の固体として得た。分子量及び純度は、LC/MS ($m/z = 647.7$) によって確認した。

【0540】

抗体への複合体化：化合物13のTFPエステルを無水DMSO中に溶解させて、20 mMの原液を作成し、8モル当量（抗体に対して）をIgG1抗体（具体的には、抗CD20抗体リツキシマブ）（PBS中10 mg/mL）に添加した。複合体化反応を4℃で一晩インキュベートした。得られた免疫複合体VIIIIをPBS（pH7.2）に緩衝液交換して、過剰な小分子量試薬を除去した。Nanodrop1000分光光度計で280 nmにて抗体を測定することにより、最終濃度を決定した。収率は、15 mgの免疫複合体VIIII（75%）であり、これを使用時まで4℃で保存した。

10

【0541】

SEC分析によって検出されたように、最小限の凝集体（1%未満）が見られた。LC/MS分析によって測定されるように、生成物は、2.2のDAR比を有した。精製した免疫複合体VIIIIを0.2 μMの滅菌フィルタを通して濾過し、-20℃で保存した。

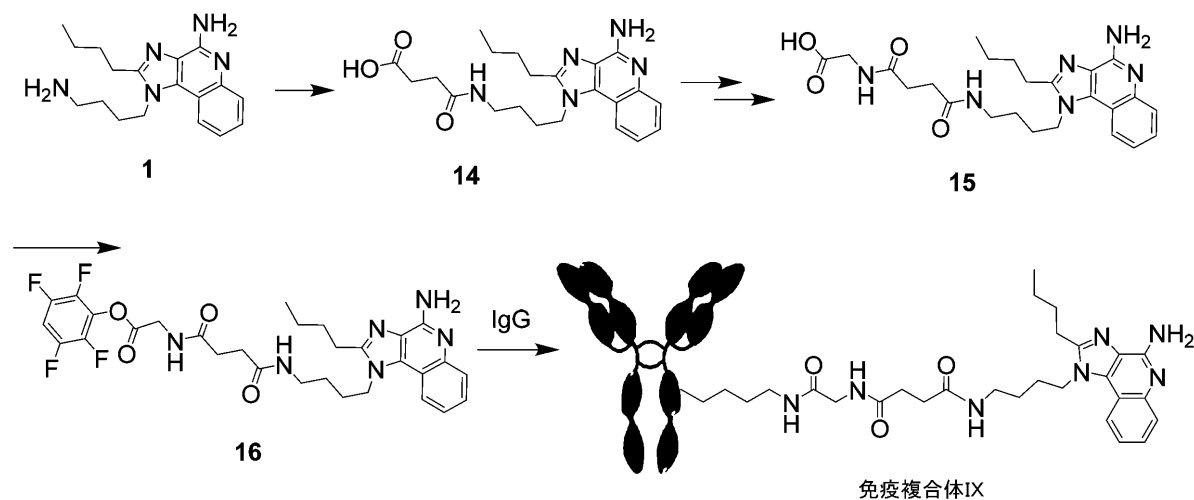
実施例6：TFPエステルを用いた免疫複合体IXの調製

【0542】

【化152】

スキーム8

20



30

【0543】

この実施例は、TFPエステル法を使用する、異なるリンカーとの免疫複合体の合成についての手引きを提供する。化合物1（150 mg）を20 mLのTHF中に溶解し、10 mLの水溶性飽和重炭酸ナトリウムを添加した。無水コハク酸（50 mg）を一度に添加し、混合物を室温で1時間撹拌した。20 mLの1 NのHClをゆっくり添加し、混合物を2 × 50 mLのジクロロメタンで抽出し、合わせた有機抽出物を蒸発乾固させた。粗生成物14を、0～15%のMeOH（1%酢酸）で15分間溶出した4グラムのシリカゲルカラム上で精製した。純粋な画分を合わせ、蒸発させて、180 mgの純粋な化合物14を得た。

40

【0544】

150 mgの化合物14をDMF（10 mL）中に溶解し、1当量のHATUを添加し、続いて2当量のDIPEAを添加した。1.5当量のグリシン-OtBuを添加し、一晩撹拌した。DMFを蒸発させ、残留物をジオキサン中5 mLの1 NのHClで30分間撹拌しながら処理した。溶媒を蒸発させ、粗化合物を、4グラムのシリカゲルカラム上で、0～10%のイソプロパノールで15分間溶出して、フラッシュ精製した。純粋な画分の蒸発により、110 mgの純粋物15が得られた。

【0545】

50

化合物 15 (50 mg) を 10 mL の DMF 中に溶解し、1.5 当量の TFP を添加し、続いて 1.2 当量の DCC 及び 2 mg の DMA P を添加した。反応物を一晩攪拌し、濃縮乾固させ、シリカゲル (4 グラムのカラム) 上で、DCM 中の 0 ~ 10 % の IPA で溶出して、精製し、1 : 3 のアセトニトリル水から凍結乾燥した後に、32 mg の純粋な TFP エステル、化合物 16 を得た。

【0546】

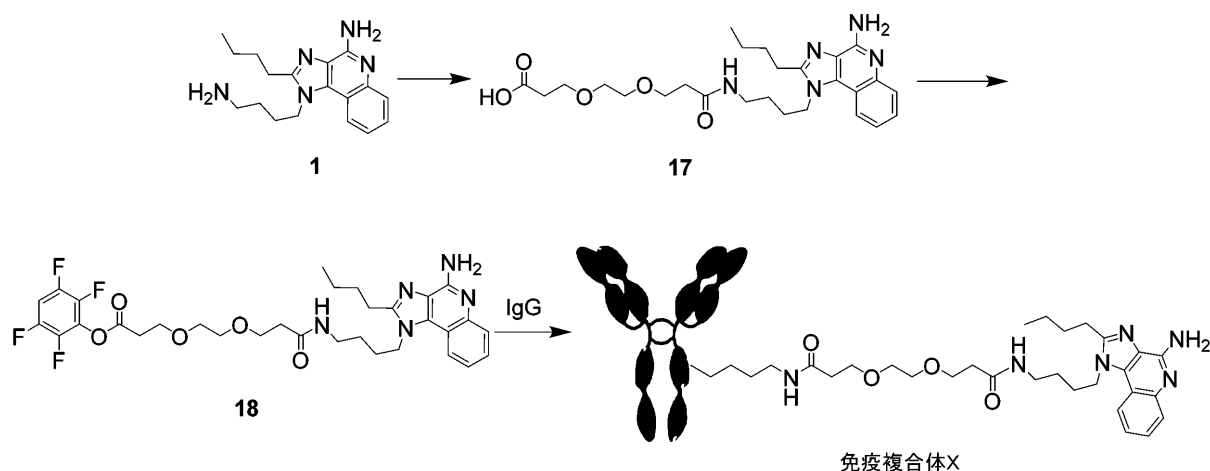
抗体への複合体化：TFP エステル、化合物 16 を無水 DMSO 中に溶解させて、20 mM の原液を作成し、5 モル当量 (抗体に対して) を PBS 中 10 mg / mL の 20 mg の抗体に添加した。複合体化反応を 4 °C で 6 時間インキュベートした。得られた免疫複合体 IX を PBS (pH 7.4) に緩衝液交換して、過剰な小分子量不純物を除去した。Nanodrop 1000 分光光度計で 280 nm にて吸光度を測定することにより、最終蛋白質濃度を決定した。収率は 15 mg (回収した蛋白質に基づいて 75 %) であった。SEC 分析は、1 % 未満の最小限の凝集体を検出し、DAR は、LC / MS 分析により、抗体当たり 2.8 アジュバントであると決定された。精製した免疫複合体を 0.2 μM の滅菌フィルタを通して濾過し、必要時まで -20 °C で保存した。

実施例 7 : TFP エステル免疫複合体 X の調製

【0547】

【化 153】

スキーム 9



【0548】

この実施例は、TFP 法を使用する、異なるリンカーとの免疫複合体の合成についての手引きを提供する。化合物 1 (155 mg、0.5 mmol) を 10 mL の DMF 中に溶解し、0.2 mL の DIPEA を添加した。別個の容器中に、1.2 当量の PEG2-ジカルボキシレートモノメチルエステルを 5 mL の DMF 中に溶解し、2 当量の DIPEA を添加し、続いて HATU (1.2 当量) を添加した。混合物を 1 に添加し、室温で 1 時間攪拌した。反応物を真空下で濃縮乾固させ、残留物を THF (5 mL) に溶解した。等量の水を加え、続いて 2 mL の 1 M LiOH 水溶液を添加した。混合物を一晩攪拌した後、10 mL の 1 N HCl を添加した。酸性化した混合物をジクロロメタンで 2 回抽出し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮乾固させ、シリカゲルクロマトグラフィにより精製した。生成物を 0 ~ 10 % のメタノールで 10 分間溶出させた。純粋な画分を合わせ、濃縮して、110 mg の純粋な化合物 17 を淡黄色固体として得た。

【0549】

化合物 17 (50 mg) をジクロロメタン / ジメチルホルムアミド (5 mL、1 : 1) 中に溶解し、2 当量の TFP を添加し、続いて 1.5 当量の EDCI を添加した。反応物を周囲温度で一晩攪拌し、反応物を濃縮乾固させた。粗 TFP エステル 18 を、4 グラムのシリカゲルカラム上で、0 ~ 10 % のイソプロパノールで 10 分間溶出して、フラッシュクロマトグラフィにより精製した。純粋な画分を濃縮し、残渣を 30 % のアセトニトリ

ル水から凍結乾燥して、41mgの精製されたTFPエステル18を白色の固体として得た。分子量及び純度をLC/MSにより確認した。

【0550】

抗体への複合体化：TFPエステル18を無水DMSO中に溶解させて、20mMの原液を作成し、8モル当量（抗体に対して）を20mLのIgG抗体（具体的には、抗CD20抗体リツキシマブ）（PBS中10mg/mL）に添加した。複合体化反応を4℃で一晩インキュベートした。得られた免疫複合体XをPBS（pH7.2）に緩衝液交換して、過剰な小分子量不純物を除去した。Thermo Nanodrop1000分光光度計で280nmにて吸光度を測定することにより、最終濃度を決定した。収率は、回収した蛋白質に基づいて、16mgの複合体化した免疫複合体、又は70%であった。最小限の凝集体（1%未満）をSEC分析により検出し、2.3のDARをLC/MS分析により測定した。精製した免疫複合体を0.2μMの滅菌フィルタを通して濾過し、-20℃で保存した。

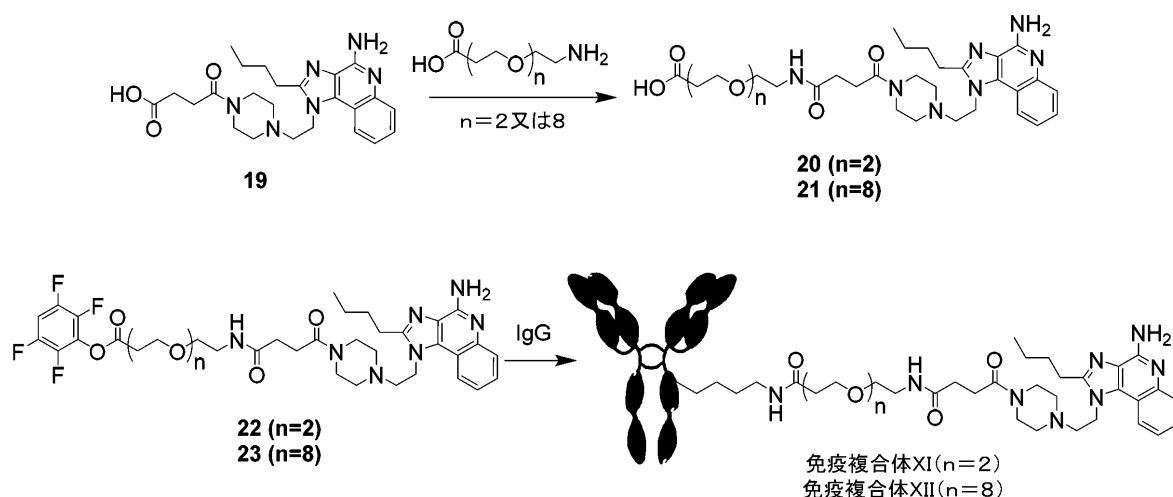
10

実施例8：TFPエステルを用いた免疫複合体XI及びXIIの調製

【0551】

【化154】

スキーム10



20

30

【0552】

この実施例は、TFPエステル法を使用する、異なるリンカーとの免疫複合体の合成についての手引きを提供する。アジュバントと抗体との間の距離を延長するために、化合物19（スキーム10）を、2個又は8個のPEG単位を含有するポリエチレングリコール（PEG）リンカーに連結した。PEGリンカー延長部の連結は、リンカー連結及びTFP活性化について以前記載されたプロトコルを使用して実施した。簡潔に述べると、100mgの化合物19を10mLのDMF中に溶解し、0.2mLのDIPEAを添加し、続いてHATU（1.2当量）を添加した。1時間後、適切なアミノPEGリンカー（n=2又は8）を添加し、室温で更に2時間撹拌した。反応混合物を減圧下で濃縮乾固させ、残渣を、水中10～90%のアセトニトリルで30分間溶出したC-18カラム上の分取HPLCにより精製した。純粋な画分を合わせ、凍結乾燥して、65mg及び45mgの中間体20又は21を透明なガラス状物質として得た。

40

【0553】

化合物20及び21を、以前記載されたプロトコルを用いて、対応するTFPエステル22及び23に変換した。簡潔に述べると、遊離酸20又は21（50mg）をジクロロメタン/ジメチルホルムアミド（5mL、1：1）中に溶解し、2当量のTFPを添加し、続いて1.5当量のEDC1を添加した。混合物を室温で一晩撹拌し、濃縮乾固させ、粗TFPエステル22及び23を得た。粗TFPエステルをシリカゲル上で、0～10%イソプロパノールで10分間溶出して、フラッシュクロマトグラフィにより精製した。純

50

粹な画分を濃縮し、残渣を水中30%のアセトニトリル水から凍結乾燥して、精製されたTFPエステル22及び23を透明な固体として得た。純化合物の分子量及び純度は、LC/MSにより確認した。

【0554】

抗体への複合体化：TFPエステル22及び23を、以前記載されたプロトコルを用いて、IgG1抗体（具体的には、抗CD20抗体リツキシマブ）に複合体化させた。TFPエステルを無水DMSO中に溶解させて、20mMの原液を作成し、8モル当量（抗体に対して）をPBS中10mg/mLの20mgのIgG抗体に添加した。複合体化反応を4℃で12時間インキュベートした。得られた免疫複合体XI及びXIIをPBS（pH7.4）に緩衝液交換して、過剰な小分子量不純物を除去した。Nanodrop1000分光光度計で280nmにて吸光度を測定することにより、最終蛋白質濃度を決定した。収率は、回収した蛋白質に基づいて、75%であった。SEC分析は、最小限の凝集体が存在したことを検出し、抗体当たり1.0及び1.7アジュバントのDARが、LC/MS分析により決定された。精製した免疫複合体を0.2μMの滅菌フィルタを通して濾過し、必要時まで-20℃で保存した。

【0555】

本明細書に引用される刊行物、特許出願、及び特許を含む全ての参考文献は、それぞれの参考文献が参照により組み込まれることが個々にかつ具体的に示され、その全体が本明細書に記載されているかのように、参照により本明細書に組み込まれる。

【0556】

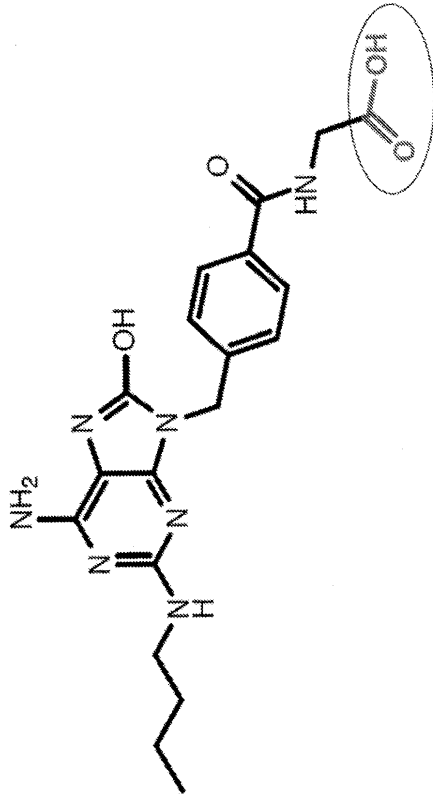
本発明を説明する文脈における（特に、以下の特許請求の範囲の文脈における）用語「a」及び「an」及び「the」、並びに「少なくとも1つの」及び類似の指示対象の使用は、本明細書に別途記載のない限り、又は文脈と明確に矛盾しない限り、単数及び複数の両方を網羅するものと解釈されるべきである。1つ以上の項目のリストが後に続く用語「少なくとも1つ」（例えば、「A及びBのうちの少なくとも1つ」）の使用は、本明細書に別途記載のない限り、又は文脈と明確に矛盾しない限り、列挙された項目（A若しくはB）から選択される1つの項目、又は列挙された項目（A及びB）のうちの2つ以上の任意の組み合わせを意味すると解釈されるべきである。用語「含む（comprising）」、「有する（having）」、「含む（including）」、及び「含有する（containing）」は、別途記載のない限り、オープンエンド用語（すなわち、「含むが、限定するものではない」ことを意味する）と解釈されるべきである。本明細書における値の範囲の列挙は、本明細書に別途記載のない限り、単に、範囲内に入る各別個の値に個別に言及する簡略化方法としての役割を果たすことを意図するものであり、それぞれの別個の値は、本明細書において個別に列挙されているかのように本明細書に組み込まれる。本明細書に記載される全ての方法は、本明細書に別途記載のない限り、又は文脈によって明確に矛盾しない限り、任意の好適な順序で実行することができる。本明細書で提供される任意の及び全ての実施例、又は例示的な文言（例えば、「など」）の使用は、単に本発明をより良好に明確化することを意図するものであり、別途特許請求されない限り、本発明の範囲を限定するものではない。本明細書中の文言は、本発明の実施に不可欠な未請求のいかなる要素を示すものとして解釈されるべきではない。

【0557】

本発明を実施するための発明者に既知の最良の様式を含む、本発明の好ましい実施形態が、本明細書に記載される。これらの好ましい実施形態の変形例は、前述の説明を読むと、当業者には明らかとなり得る。本発明者らは、当業者が適宜このような変形例を採用することを期待しており、本発明者らは、本明細書に具体的に記載されるものとは違う方法で本発明が実施されることを意図している。したがって、本発明は、適用可能な法則によって認可されるように、本明細書に添付の特許請求の範囲に記載された主題の全ての修飾物及び均等物を含む。更に、本明細書で別段の指示がない限り、又は文脈によって明確に矛盾しない限り、上記の要素のその全ての可能な変形例の任意の組み合わせが、本発明に包含される。

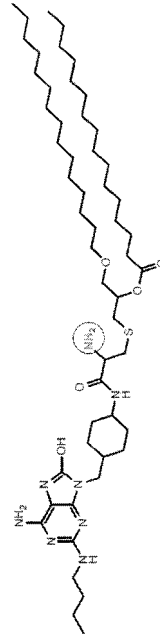
CL264-末端カルボン酸への複合体化

【図 1】



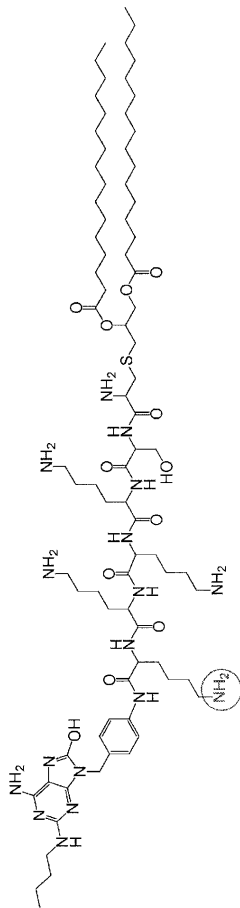
【図 2】

CL401-一級アミンを介する複合体化



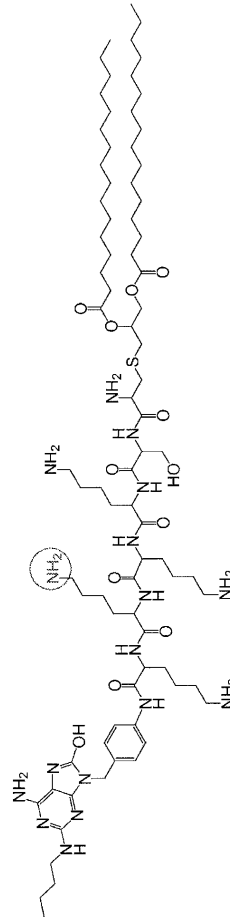
【図 3】

CL413-第1リジン残基を介する複合体化



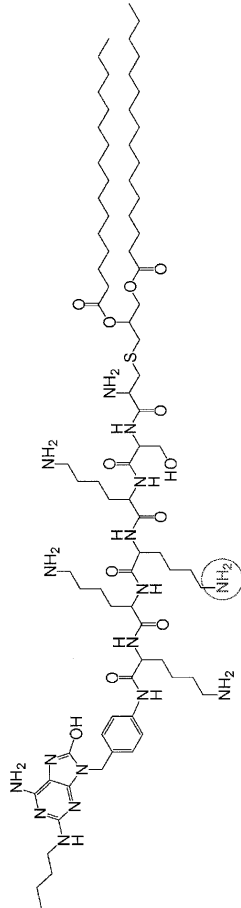
【図 4】

CL413-第2リジン残基を介する複合体化



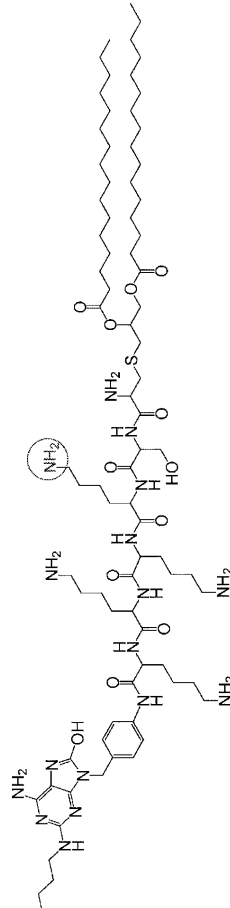
【図 5】

CL413—第3リジン残基を介する複合体化



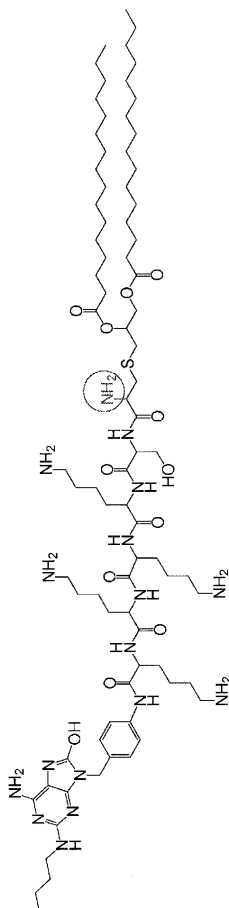
【図 6】

CL413—第4リジン残基を介する複合体化



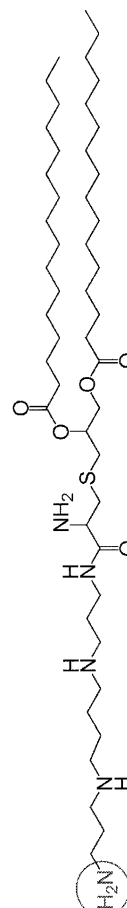
【図 7】

CL413—一級アミンを介する複合体化

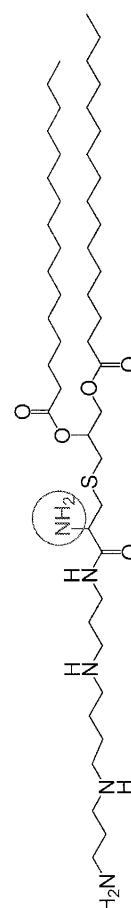


【図 8】

CL419—末端アミンを介する複合体化

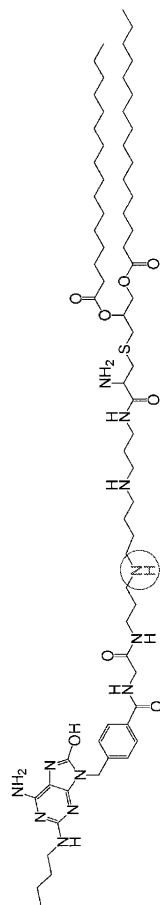


CL419—アミンを介する複合体化



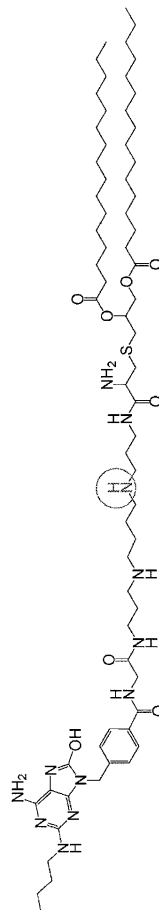
【図 9】

CL553-二級アミンを介する複合体化



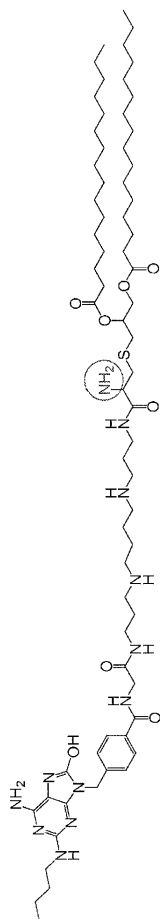
【図 10】

CL553-二級アミンを介する複合体化



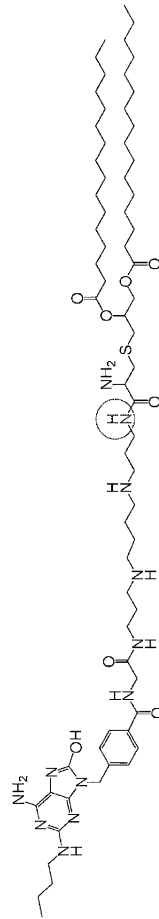
【図 11】

CL553-一級アミンを介する複合体化



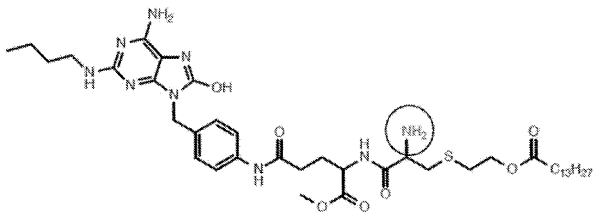
【図 12】

CL553-アミドを介する複合体化

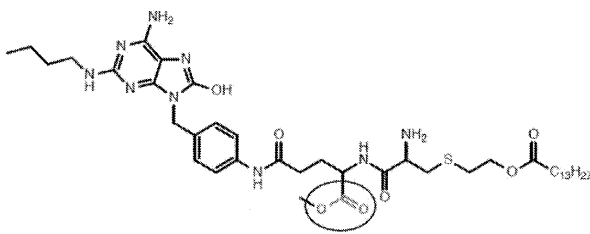


【図 13】

CL572—一級アミンを介する複合体化

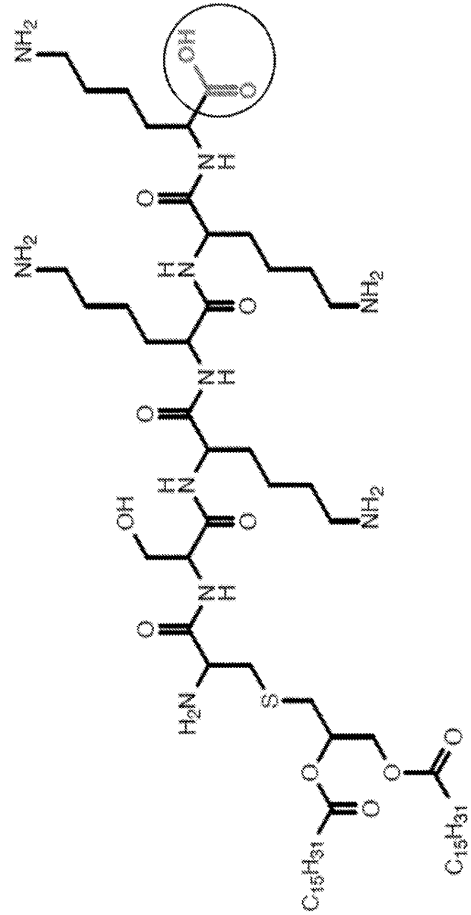


CL572—カルボキシレートを介する複合体化



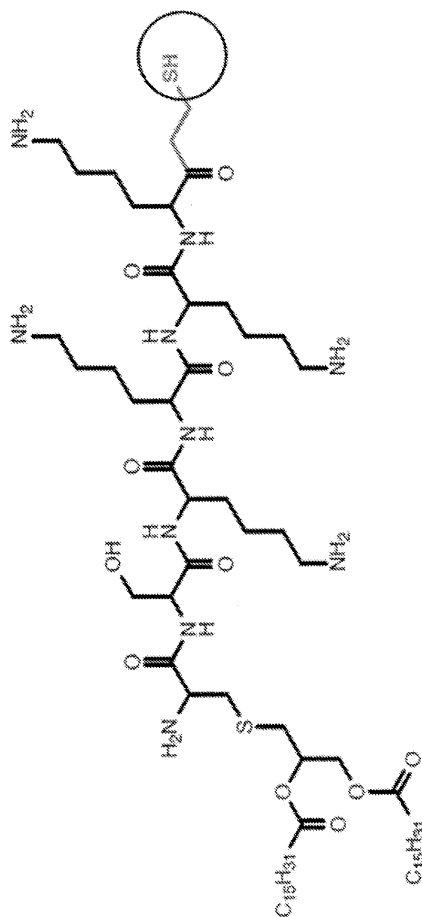
【図 14】

Pam2CSK4—末端カルボキシル酸を介する複合体化



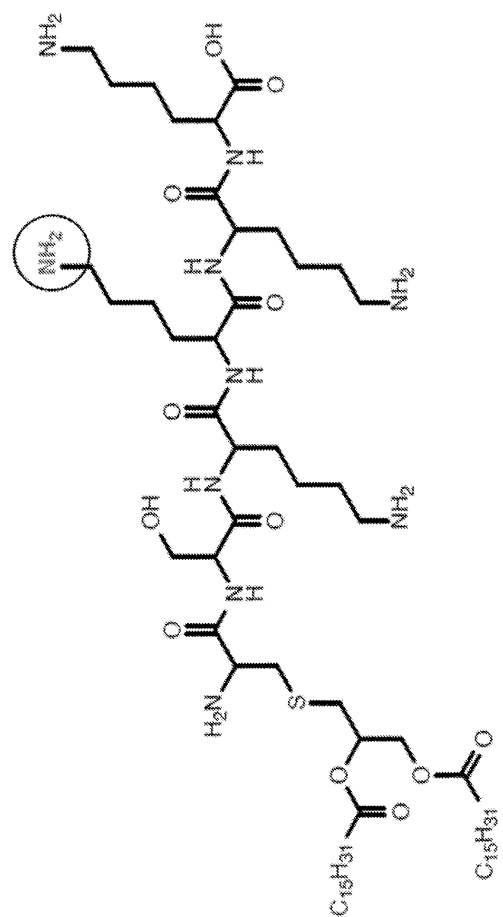
【図 15】

Pam2CSK4—末端チオールの付加を介する複合体化



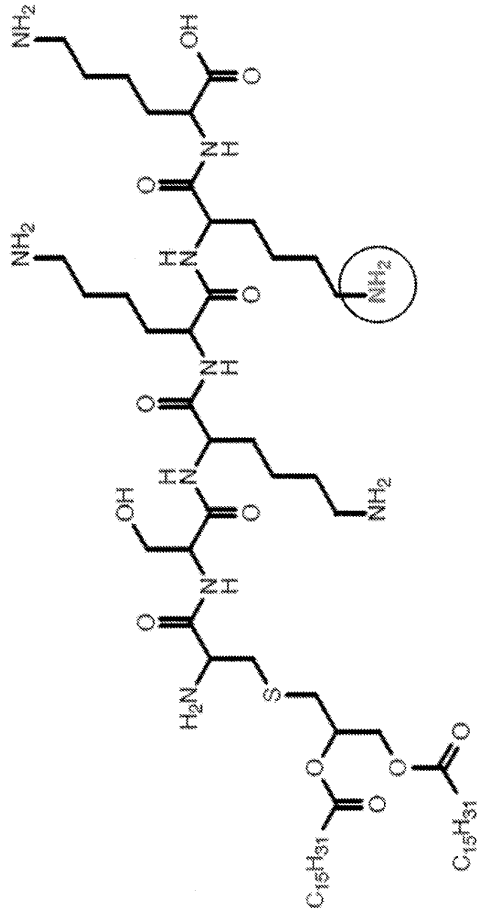
【図 16】

Pam2CSK4—第2リジン残基を介する複合体化



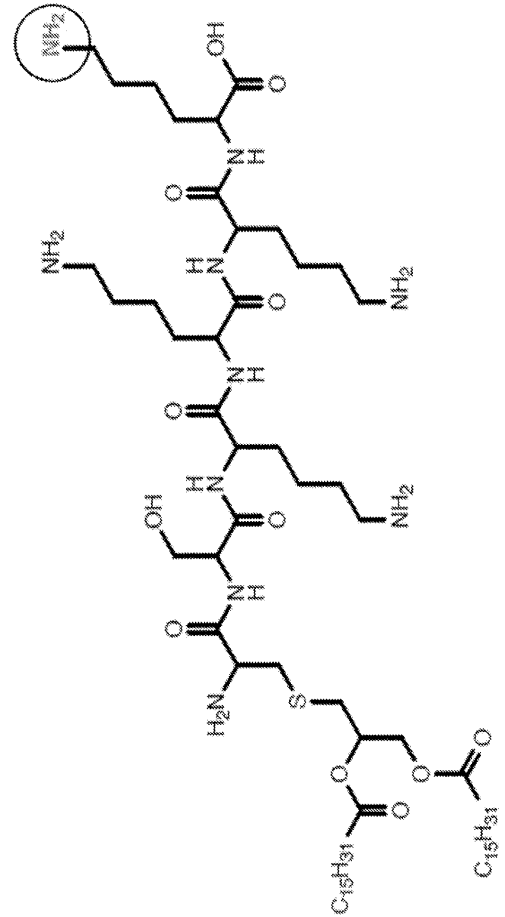
【図 17】

Pam2CSK4—第3リジン残基を介する複合体化



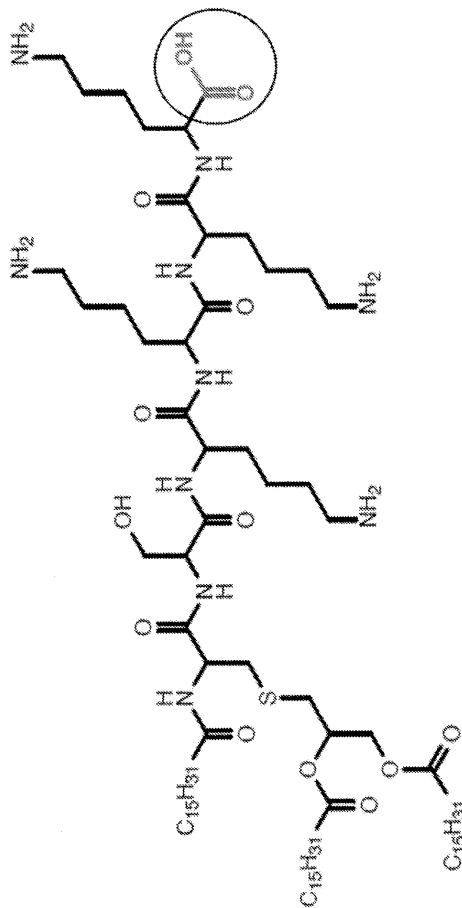
【図 18】

Pam2CSK4—末端リジン残基を介する複合体化



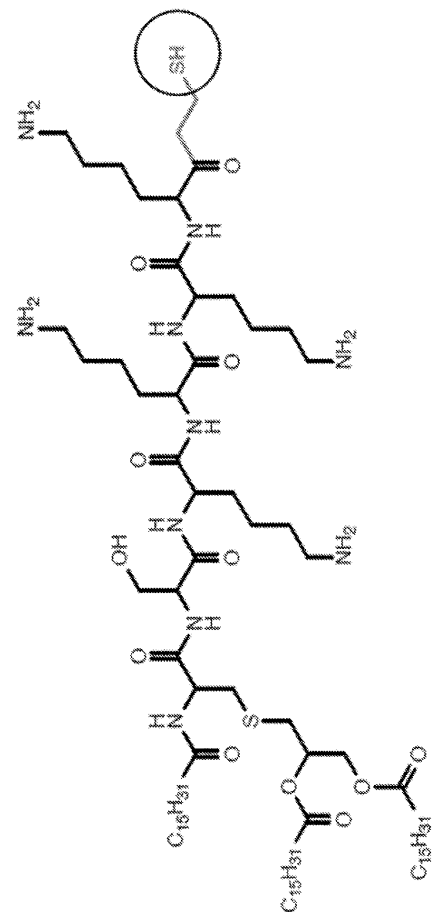
【図 19】

Pam3CSK4—末端カルボキシル酸を介する複合体化



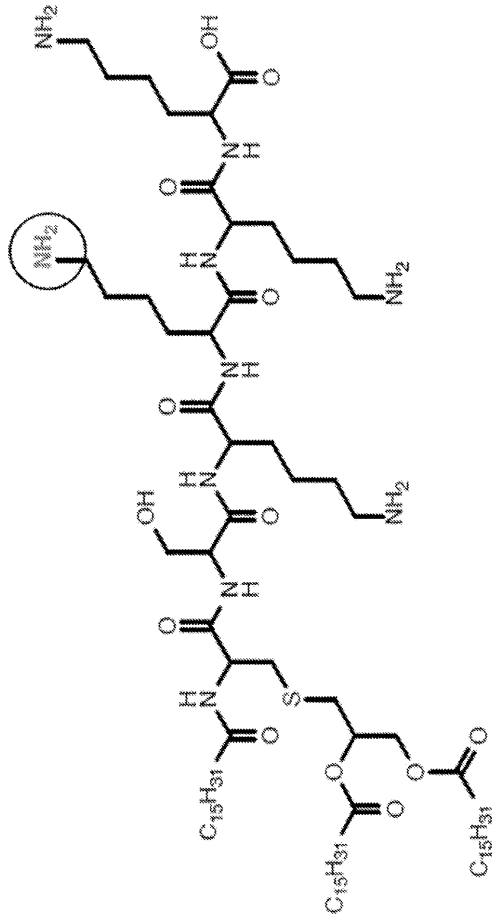
【図 20】

Pam3CSK4—末端チオールの付加を介する複合体化



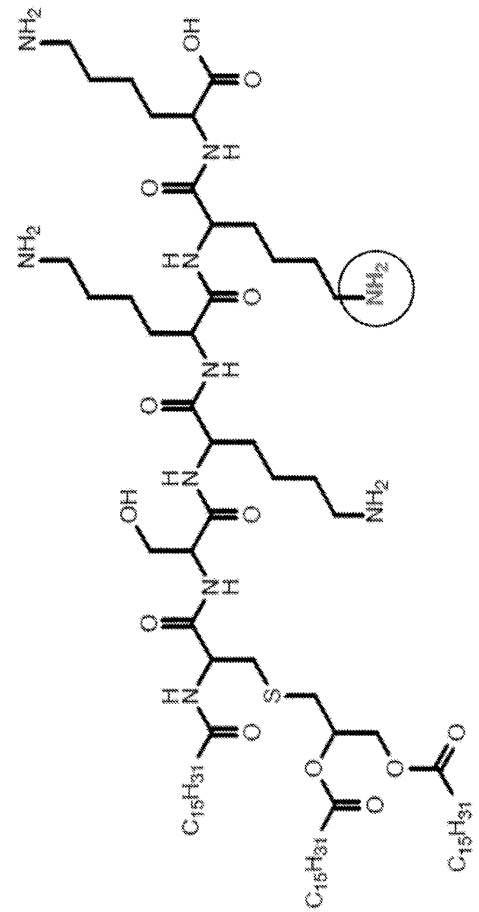
【図 2 1】

Pam3CSK4—第2リジン残基を介する複合体化



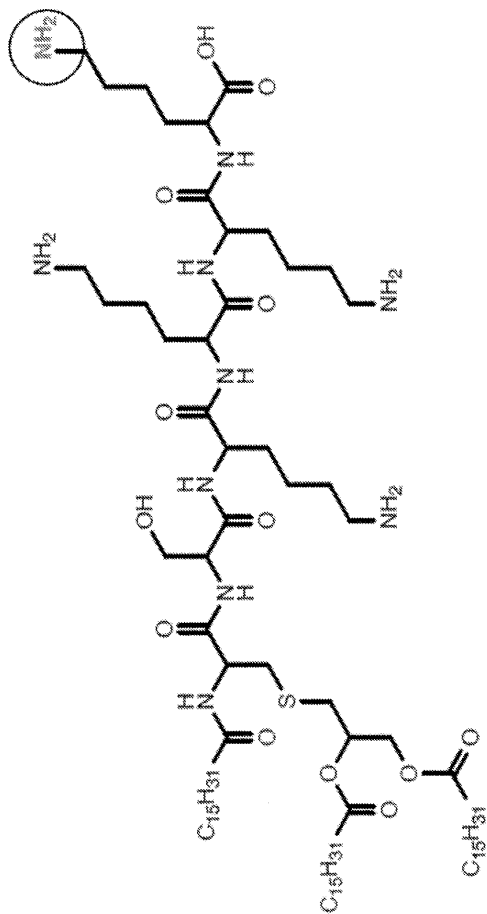
【図 2 2】

Pam3CSK4—第3リジン残基を介する複合体化



【図 2 3】

Pam3CSK4—末端リジン残基を介する複合体化



【配列表】

2020511501000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/066220

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K47/55 A61K47/68 A61P35/00
ADD.

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)

A61K A61P

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

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

EPO-Internal, CHEM ABS Data, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2015/103989 A1 (SHANGHAI BIRDIE BIOTECH INC [CN]) 16 July 2015 (2015-07-16)	1-9, 13, 14, 17, 20, 21
Y	page 4, paragraph 15 - page 9, paragraph 24 pages 11-13, paragraph 32 pages 77-79, paragraph 241 page 92, paragraph 311; examples 1, 10-15	10-12, 15, 16, 18, 19
X	WO 2015/103990 A1 (SHANGHAI BIRDIE BIOTECH INC [CN]) 16 July 2015 (2015-07-16)	1-9, 13, 14, 17, 20, 21
Y	page 4, paragraph 12 - page 11, paragraph 19 page 70, paragraph 199 - page 73, paragraph 202 page 86, paragraph 271; claims 1, 5, 10, 11, 18	10-12, 15, 16, 18, 19
	----- -/-	

☒ 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

"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

1 March 2018

Date of mailing of the international search report

09/03/2018

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hoff, Philippe

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/066220

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	W0 2015/103987 A1 (SHANGHAI BIRDIE BIOTECH INC [CN]) 16 July 2015 (2015-07-16)	1-9,13, 14,17, 20,21
Y	page 4, paragraph 12 - page 11, paragraph 19 page 70, paragraph 201 - page 73, paragraph 204 page 86, paragraph 273; claims 1,5,6,10,19 -----	10-12, 15,16, 18,19
X	W0 2015/187637 A1 (BAYLOR RES INST [US]) 10 December 2015 (2015-12-10) page 2, paragraph 8 page 3, paragraph 13 page 6, paragraph 20; claims; figure 1; examples 1,4 -----	1-8,13, 14,20,21
X	W0 2007/100634 A2 (3M INNOVATIVE PROPERTIES CO [US]; STOERMER DORIS [US]; GRIESGRABER GEO) 7 September 2007 (2007-09-07) page 2, line 1 - page 3, line 31 page 25, line 13 - page 26, line 7 page 63, line 16 - line 20; claims -----	1-6,20, 21
X	W0 2013/166110 A1 (UNIV YALE [US]) 7 November 2013 (2013-11-07) abstract page 1, paragraph 1; claims; figures 4,5 -----	1-4,20, 21
Y	ADAM J. R. GADD ET AL: "Targeted Activation of Toll-Like Receptors: Conjugation of a Toll-Like Receptor 7 Agonist to a Monoclonal Antibody Maintains Antigen Binding and Specificity", BIOCONJUGATE CHEMISTRY, vol. 26, no. 8, 16 July 2015 (2015-07-16), pages 1743-1752, XP55455345, ISSN: 1043-1802, DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.5b00302 the whole document -----	10-12, 15,16, 18,19
Y	LI ZHONGJUN ET AL: "Generation of tumor-targeted antibody-CpG conjug", JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V.,AMSTERDAM, NL, vol. 389, no. 1, 29 December 2012 (2012-12-29), pages 45-51, XP028976302, ISSN: 0022-1759, DOI: 10.1016/J.JIM.2012.12.009 the whole document ----- -/--	10-12, 15,16, 18,19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/066220

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	WO 2018/009916 A1 (UNIV LELAND STANFORD JUNIOR [US]; BOLT BIOTHERAPEUTICS INC [US]) 11 January 2018 (2018-01-11) abstract paragraph [0960] - paragraph [0965] paragraph [0969] - paragraph [0970] page 205 - page 212; claims; examples 9-11,15,18,21	1-21
X,P	----- WO 2017/072662 A1 (NOVARTIS AG [CH]; CORTEZ ALEX [US]; GEIERSTANGER BERNHARD HUBERT [US];) 4 May 2017 (2017-05-04) abstract; claims 1,2,11,20,21 -----	1-8,13, 14,20,21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/066220

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2015103989 A1	16-07-2015	AU 2015205753 A1	21-07-2016
		AU 2015205755 A1	21-07-2016
		AU 2015205756 A1	21-07-2016
		CA 2936375 A1	16-07-2015
		CA 2936376 A1	16-07-2015
		CA 2936377 A1	16-07-2015
		CN 105899537 A	24-08-2016
		CN 105899538 A	24-08-2016
		CN 105899539 A	24-08-2016
		EP 3092254 A1	16-11-2016
		EP 3092255 A1	16-11-2016
		EP 3092256 A1	16-11-2016
		JP 2017502068 A	19-01-2017
		JP 2017503803 A	02-02-2017
		JP 2017507912 A	23-03-2017
		SG 11201605296S A	28-07-2016
		SG 11201605449Y A	30-08-2016
		SG 11201605455Y A	30-08-2016
		TW 201611847 A	01-04-2016
		TW 201613647 A	16-04-2016
		TW 201613648 A	16-04-2016
		US 2016324983 A1	10-11-2016
		US 2016375148 A1	29-12-2016
		US 2017028079 A1	02-02-2017
		WO 2015103987 A1	16-07-2015
		WO 2015103989 A1	16-07-2015
		WO 2015103990 A1	16-07-2015
WO 2015103990 A1	16-07-2015	AU 2015205753 A1	21-07-2016
		AU 2015205755 A1	21-07-2016
		AU 2015205756 A1	21-07-2016
		CA 2936375 A1	16-07-2015
		CA 2936376 A1	16-07-2015
		CA 2936377 A1	16-07-2015
		CN 105899537 A	24-08-2016
		CN 105899538 A	24-08-2016
		CN 105899539 A	24-08-2016
		EP 3092254 A1	16-11-2016
		EP 3092255 A1	16-11-2016
		EP 3092256 A1	16-11-2016
		JP 2017502068 A	19-01-2017
		JP 2017503803 A	02-02-2017
		JP 2017507912 A	23-03-2017
		SG 11201605296S A	28-07-2016
		SG 11201605449Y A	30-08-2016
		SG 11201605455Y A	30-08-2016
		TW 201611847 A	01-04-2016
		TW 201613647 A	16-04-2016
		TW 201613648 A	16-04-2016
		US 2016324983 A1	10-11-2016
		US 2016375148 A1	29-12-2016
		US 2017028079 A1	02-02-2017
		WO 2015103987 A1	16-07-2015
		WO 2015103989 A1	16-07-2015
		WO 2015103990 A1	16-07-2015
WO 2015103987 A1	16-07-2015	AU 2015205753 A1	21-07-2016
		AU 2015205755 A1	21-07-2016

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/066220

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		AU 2015205756 A1	21-07-2016
		CA 2936375 A1	16-07-2015
		CA 2936376 A1	16-07-2015
		CA 2936377 A1	16-07-2015
		CN 105899537 A	24-08-2016
		CN 105899538 A	24-08-2016
		CN 105899539 A	24-08-2016
		EP 3092254 A1	16-11-2016
		EP 3092255 A1	16-11-2016
		EP 3092256 A1	16-11-2016
		JP 2017502068 A	19-01-2017
		JP 2017503803 A	02-02-2017
		JP 2017507912 A	23-03-2017
		SG 11201605296S A	28-07-2016
		SG 11201605449Y A	30-08-2016
		SG 11201605455Y A	30-08-2016
		TW 201611847 A	01-04-2016
		TW 201613647 A	16-04-2016
		TW 201613648 A	16-04-2016
		US 2016324983 A1	10-11-2016
		US 2016375148 A1	29-12-2016
		US 2017028079 A1	02-02-2017
		WO 2015103987 A1	16-07-2015
		WO 2015103989 A1	16-07-2015
		WO 2015103990 A1	16-07-2015
WO 2015187637	A1	10-12-2015	
		AU 2015270845 A1	08-12-2016
		CA 2950293 A1	10-12-2015
		CN 106456736 A	22-02-2017
		EP 3148575 A1	05-04-2017
		JP 2017525655 A	07-09-2017
		US 2017095573 A1	06-04-2017
		WO 2015187637 A1	10-12-2015
WO 2007100634	A2	07-09-2007	
		EP 1988896 A2	12-11-2008
		EP 3085373 A1	26-10-2016
		US 2009035323 A1	05-02-2009
		US 2015141625 A1	21-05-2015
		WO 2007100634 A2	07-09-2007
WO 2013166110	A1	07-11-2013	
		US 2015110742 A1	23-04-2015
		US 2017087148 A1	30-03-2017
		WO 2013166110 A1	07-11-2013
WO 2018009916	A1	11-01-2018	NONE
WO 2017072662	A1	04-05-2017	
		AR 106491 A1	17-01-2018
		TW 201722482 A	01-07-2017
		US 2017121421 A1	04-05-2017
		UY 36968 A	31-05-2017
		WO 2017072662 A1	04-05-2017

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2017/066220

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed:
- ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- ☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 47/54 (2017.01)	A 6 1 K 47/54	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	E
C 1 2 N 15/113 (2010.01)	A 6 1 K 39/395	T
C 1 2 N 15/115 (2010.01)	C 1 2 N 15/113	
	C 1 2 N 15/115	
	C 1 2 N 15/113	1 1 0

(81)指定国・地域 AP(BW, 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, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(74)代理人 100174296

弁理士 當麻 博文

(74)代理人 100137729

弁理士 赤井 厚子

(74)代理人 100151301

弁理士 戸崎 富哉

(72)発明者 ジャクソン、デイヴィッド ワイ.

アメリカ合衆国、9 4 0 0 2 カリフォルニア州、ベルモント、ウォルサム クロス ストリート
2 7 6 4

(72)発明者 アロンソ、マイケル ナサニエル

アメリカ合衆国、9 5 0 5 1 カリフォルニア州、サンタ クララ、ポメロイ アヴェニュー 1
1 0 9

(72)発明者 リー、アーサー

アメリカ合衆国、9 5 1 2 8 カリフォルニア州、サン ノゼ、エヌ. ウィンチェスター ブール
ヴァード 7 7 0 ナンバー 1 9

Fターム(参考) 4C076 AA95 CC07 EE59

4C085 AA13 AA38 FF17

4H045 AA11 AA30 BA11 BA12 BA13 BA14 BA15 BA16 BA17 BA18

BA57 BA62 CA40 DA76 EA20 FA10 FA74