

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7021127号
(P7021127)

(45)発行日 令和4年2月16日(2022.2.16)

(24)登録日 令和4年2月7日(2022.2.7)

(51)国際特許分類

C 1 2 N	15/62 (2006.01)	F I	C 1 2 N	15/62	Z Z N A
C 0 7 K	16/46 (2006.01)		C 0 7 K	16/46	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)		C 0 7 K	16/28	
C 1 2 N	15/13 (2006.01)		C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/63 (2006.01)		C 1 2 N	15/63	Z

請求項の数 8 (全101頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2018-567928(P2018-567928)
(86)(22)出願日	平成29年6月28日(2017.6.28)
(65)公表番号	特表2019-527047(P2019-527047)
	A)
(43)公表日	令和1年9月26日(2019.9.26)
(86)国際出願番号	PCT/US2017/039840
(87)国際公開番号	WO2018/005706
(87)国際公開日	平成30年1月4日(2018.1.4)
審査請求日	令和2年6月26日(2020.6.26)
(31)優先権主張番号	62/397,322
(32)優先日	平成28年9月20日(2016.9.20)
(33)優先権主張国・地域又は機関	
	米国(US)
(31)優先権主張番号	62/481,065
(32)優先日	平成29年4月3日(2017.4.3)
	最終頁に続く

(73)特許権者	510089100
	ゼンコア インコーポレイテッド
	アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9
	1 0 1 6 , モンロビア , ウエスト レモン
	アベニュー 1 1 1
(74)代理人	100079108
	弁理士 稲葉 良幸
(74)代理人	100109346
	弁理士 大貫 敏史
(74)代理人	100117189
	弁理士 江口 昭彦
(74)代理人	100134120
	弁理士 内藤 和彦
(72)発明者	ムーア, グレゴリー
	アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9
	最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ソマトスタチン受容体 2 に結合するヘテロ二量体抗体

(57)【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

ヘテロ二量体抗体であって、

a) 第 1 の重鎖であって、

i) 第 1 の変異体 F c ドメインと、

i i) 一本鎖 F v 領域 (s c F v) であって、前記 s c F v 領域が、第 1 の可変重ドメイン、第 1 の可変軽ドメイン、および荷電 s c F v リンカーを含み、前記荷電 s c F v リンカーが、前記第 1 の可変重ドメインおよび前記第 1 の可変軽ドメインに共有結合する、一本鎖 F v 領域 (s c F v) と、を含む、第 1 の重鎖と、

b) V H - C H 1 - ヒンジ - C H 2 - C H 3 単量体を含む第 2 の重鎖であって、V H が、第 2 の可変重ドメインであり、C H 2 - C H 3 が、第 2 の変異体 F c ドメインである、第 2 の重鎖と、

c) 第 2 の可変軽ドメインおよび軽定常ドメインを含む軽鎖と、を含み、

前記第 2 の重鎖の C H 1 - ヒンジ - C H 2 - C H 3 が、アミノ酸置換 N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D を含み、

前記第 1 および第 2 の変異体 F c ドメインがそれぞれ、アミノ酸置換 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l / S 2 6 7 K を含み、

前記第 1 の変異体 F c ドメインが、アミノ酸置換 S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q を含み、前記第 2 の変異体 F c ドメインが、アミノ酸置換 L 3 6 8 D / K 3 7 0 S を含み、

前記第 1 の可変重ドメインが、配列番号 1 0 8 1 を含み、前記第 1 の可変軽ドメインが、

配列番号 1085 を含み、

前記第 2 の可変重ドメインが、配列番号 1071 を含み、前記第 2 の可変軽ドメインが、配列番号 1076 を含み、番号付けが、K a b a t にあるように E U インデックスに従うものである、ヘテロ二量体抗体。

【請求項 2】

前記第 2 の重鎖の前記 C H 1 - ヒンジ - C H 2 - C H 3 構成要素が、配列番号 1108 を含み、前記第 1 の変異体 F c ドメインが、配列番号 1109 を含み、前記定常軽ドメインが、配列番号 1110 を含む、請求項 1 に記載のヘテロ二量体抗体。

【請求項 3】

前記第 1 の重鎖が、配列番号 1080 を含み、前記第 2 の重鎖が、配列番号 1070 を含み、前記軽鎖が、配列番号 1075 を含む、請求項 1 に記載のヘテロ二量体抗体。 10

【請求項 4】

- a) 請求項 1 に記載の第 1 の重鎖をコードする第 1 の核酸と、
- b) 請求項 1 に記載の第 2 の重鎖をコードする第 2 の核酸と、
- c) 請求項 1 に記載の軽鎖をコードする第 3 の核酸と、を含む、核酸組成物。

【請求項 5】

a) 請求項 4 に記載の第 1 の核酸を含む第 1 の発現ベクターと、
 b) 請求項 4 に記載の第 2 の核酸を含む第 2 の発現ベクターと、
 c) 請求項 4 に記載の第 3 の核酸を含む第 3 の発現ベクターと、を含む、発現ベクター組成物。 20

【請求項 6】

請求項 5 に記載の発現ベクター組成物を含む宿主細胞。

【請求項 7】

請求項 1 に記載のヘテロ二量体抗体を作製する方法であって、前記抗体が発現される条件下で請求項 6 に記載の宿主細胞を培養することと、前記抗体を回収することと、を含む、方法。

【請求項 8】

治療を必要とする対象において神経内分泌癌を治療するための組成物であって、請求項 1 に記載のヘテロ二量体抗体を含む、組成物。

【発明の詳細な説明】

30

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2017年4月3日に出願された米国仮出願第 62 / 481,065 号、2016年9月20日に出願された第 62 / 397,322 号、2016年6月28日に出願された第 62 / 355,821 号、および 2016 年 6 月 28 日に出願された第 62 / 355,820 号の利益を主張し、それら内容がそれら全体において参照により明確に完全に組み込まれる。

【0002】

配列表

40

本出願は、A S C I I 形式で電子的に提出されている配列表を含み、それらの全体において参照により本明細書によって組み込まれる。2017年6月28日に作成された該 A S C I I の複写は、067461 - 5194 - WO _ S L . t x t という名前であり、2,771,347 バイトのサイズである。

【背景技術】

【0003】

抗体に基づく治療法は、癌および自己免疫傷害 / 炎症性障害を含む様々な疾患を治療するために、成功裏に使用してきた。しかしながら、このクラスの薬物には、依然として改善が必要であり、特に、その臨床的有効性の増進に関して改良が必要である。探索されている 1 つの手段は、单一イムノグロブリン分子が、2 つの異なる抗原を共結合するよう

50

、追加かつ新規の抗原結合部位を抗体に基づく薬物に操作することである。2つの異なる抗原を結合するそのような非天然または代替の抗体形式は、二重特異性体と称されることが多い。抗体可変領域（Fv）の相当な多様性によって、実質的にいかなる分子でもそれを認識するFvを产生することが可能であるため、二重特異性の生成に対する典型的な手法は、新しい可変領域の抗体への導入である。

【0004】

多くの代替抗体形式が、二重特異性ターゲティングに向けて探索されてきた（Chames & Baty, 2009, mAbs 1 [6] : 1 - 9 ; Holliger & Hudson, 2005, Nature Biotechnology 23 [9] : 1126 - 1136 ; Kontermann, mAbs 4 (2) : 182 (2012)、これらのすべてが、参考によって本明細書に明確に組み込まれる）。初期には、二重特異性抗体は、それぞれが単一のモノクローナル抗体を产生する2つの細胞株を融合することによって作られた（Milstein et al., 1983, Nature 305 : 537 - 540）。得られたハイブリッドのハイブリドーマまたはクアドローマは、二重特異性抗体を確かに產生はしたが、少数集団にすぎず、望ましい抗体を単離するために広範な精製が必要であった。これに対する操作的な解決策は、二重特異性体を作るための抗体断片の使用であった。そのような断片は、全長抗体の複雑な四次構造を欠いているため、可変軽鎖および可変重鎖は、単一の遺伝子構築物において連結され得る。ダイアボディ、一本鎖ダイアボディ、直列型scFv、およびFab2の二重特異性体を含む、多くの異なる形態の抗体断片が生成してきた（Chames & Baty, 2009, mAbs 1 [6] : 1 - 9 ; Holliger & Hudson, 2005, Nature Biotechnology 23 [9] : 1126 - 1136 が、参考によって本明細書に明確に組み込まれる）。これらの形式は、細菌において高水準で発現でき、サイズが小さいため、有利に浸透する利点を有し得るが、一方で、生体内において速やかに減失すると共に、生産および安定性に関して、製造性上の障壁が存在し得る。これらの弱点の主要な原因是、抗体断片が、それに関連する機能特性を有する抗体の定常領域を通常は欠いていることにあり、当該関連機能特性には、サイズの大型化、高安定性、ならびに血清における長期半減期の維持（すなわち、新生児型Fc受容体であるFcRn）または精製のための結合部位として働く（すなわち、プロテインAおよびプロテインG）様々なFc受容体およびリガンドへの結合が含まれる。

【0005】

より最新の研究では、二重結合を全長抗体様形式へと操作することによって、断片に基づく二重特異性体の欠点に対処することが試みられている（Wu et al., 2007, Nature Biotechnology 25 [11] : 1290 - 1297 ; USSN12 / 477, 711 ; Michaelson et al., 2009, mAbs 1 [2] : 128 - 141 ; PCT / US2008 / 074693 ; Zuo et al., 2000, Protein Engineering 13 [5] : 361 - 367 ; USN09 / 865, 198 ; Shen et al., 2006, J Biol Chem 281 [16] : 10706 - 10714 ; Lu et al., 2005, J Biol Chem 280 [20] : 19665 - 19672 ; PCT / US2005 / 025472、これらはすべて、参考によって、本明細書に明確に組み込まれる）。これらの形式は、抗体断片二重特異性体の障壁のうちのいくつかを克服し、これは主に、それらがFc領域を含むためである。これらの形式の1つの重大な弱点は、それらが、ホモ二量体定常鎖の上部に新しい抗原結合部位を構築するため、新しい抗原に対する結合が、常に二価であるということである。

【0006】

治療用二重特異性形式において、共標的（co-target）として注目される多くの抗原では、望ましい結合は、二価というよりもむしろ一価である。多くの免疫受容体では、細胞活性化は、一価の結合相互作用の架橋結合によって達成される。架橋結合の機構は、典型的には、抗体／抗原免疫複合体によって媒介されるか、またはエフェクター細胞か

10

20

30

40

50

ら標的細胞への結合を介する。例えば、Fc_RIIa、Fc_RIIb、およびFc_RIIIaなどの低親和性Fc_cガンマ受容体(Fc_cR)は、抗体Fc領域に一価で結合する。一価の結合は、これらのFc_cRを発現している細胞を活性化しないが、免疫複合体形成または細胞対細胞接触の際は、受容体は、架橋結合され、細胞表面上にクラスターを形成し、活性化を引き起こす。例えば、ナチュラルキラー(NK)細胞上のFc_RIIaのような、細胞殺傷を媒介すること担う受容体では、エフェクター細胞が、非常に親和性が高い形式において標的細胞を結合するとき、受容体の架橋結合および細胞の活性化が起こる(Bowles & Weiner, 2005, J Immunol Methods 304: 88-99が、参照によって明確に組み込まれる)。

同様に、B細胞上で、抑制性受容体であるFc_RIIbは、B細胞活性化の下方制御を行い、これは、Fc_RIIbが、細胞表面B細胞受容体(BCR)との免疫複合体へと取り込まれるときに起こるものであり、BCRによって認識されるものと同一の抗原と、可溶性IgGのものとの免疫複合体形成によって媒介される機構である(Heyman 2003, Immunol Lett 88[2]: 157-161; Smith and Clatworthy, 2010, Nature Reviews Immunology 10: 328-343が、参照によって、本明細書に明確に組み込まれる)。別の例として、T細胞のCD3活性化は、その関連するT細胞受容体(TCR)が、非常に親和性が高い細胞対細胞シナプスにおいて、抗原提示細胞上の抗原負荷されたMHCを結合するときに起こる(Kuhns et al., 2006, Immunity 24: 133-139)。実際、抗CD3抗体を使用したCD3の非特異的二価架橋結合は、サイトカインの急増および毒性を誘発する(Perruchet et al., 2009, J Immunol 183[2]: 953-61; Chatenoud & Bluestone, 2007, Nature Reviews Immunology 7: 622-632が、参照によって明確に組み込まれる)。したがって、実践的な臨床使用では、標的細胞の再指示された殺傷(redirected killing)のためのCD3共結合の好ましい様式は、共結合される標的との結合時にのみ活性化をもたらす一価の結合である。

【0007】

ソマトスタチンは、内因性抑制調整剤として作用する神経ペプチドである。ソマトスタチンは、多くの分泌物の抑制、細胞増殖、および細胞生存などの広範囲の細胞機能を有する(Patel, 1999, Front Neuroendocrinol. 20: 157-198)。ソマトスタチンは、中枢神経系、末梢神経系、臍臓、消化管内に広く分布されている(例えば、Watt et al., 2008, Mol Cell Endocrinol. 286: 251-261、Epelbaum, 1986, Prog. Neurobiol. 27: 63-100、およびRaynor, 1992, Crit. Rev. Neurobiol. 6: 273-289を参照されたい)。ソマトスタチンはまた、髄様癌、甲状腺癌、神経芽細胞腫、神経節細胞腫、グルカゴン産生腫瘍、副腎皮質腫瘍、ならびに肺、傍神経節、十二指腸、およびいくつかの他の非NETに現れる腫瘍などの神経内分泌腫瘍(NET)中に発現される(Volante et al., 2008, Mol. Cell. Endocrinol. 286: 219-229)。ソマトスタチンは、ソマトスタチン受容体(SSTR)を直接的に活性化することによって標的細胞への効果を誘発する(Watt et al., 2008, Mol Cell Endocrinol. 286: 251-261、Pyronnet et al., 2008, Mol. Cell. Endocrinol. 286: 230-237)。

【0008】

ソマトスタチン受容体(SSTR)は、細胞外/細胞内ドメインおよび7つの膜貫通ドメインからなる単一ポリペプチド鎖をそれぞれ含むGプロテイン結合受容体(GPCR)のスーパーファミリーに属する。SSTRは、NET(肺癌、胃腸癌、臍臓癌、下垂体癌、髄様癌、前立腺、臍臓肺カルチノイド、骨肉腫など)ならびに非NET(乳癌、肺癌、大腸癌、卵巣癌、子宮頸癌など)を含む様々な培養腫瘍細胞および主な腫瘍組織中に高度に

10

20

30

40

50

発現される (Reubi . , 2003 , Endocr. Rev. 24 : 389 - 427 , Volante et al . , 2008 , Mol. Cell. Endocrinol. 286 : 219 - 229 、および Schulz et al . , 2003 , Gynecol. Oncol. 89 : 385 - 390) 。現在までに、5つのSSTR受容体サブタイプが特定されている (Patel et al . , 1997 , Trends Endocrinol. Metab. 8 : 398 - 405) 。特にSSTR2は、多くの腫瘍細胞上に高濃度で発現され (Volante et al . , 2008 , Mol. Cell. Endocrinol. 286 : 219 - 229 、および Reubi et al . , 2003 , Eur. J. Nucl. Mol. Imaging 30 : 781 - 793) 、このようにして、それを二重特異性抗体癌標的治療法への候補の標的抗原にする。様々な腫瘍上に発現される高濃度のSSTR2の観点において、抗SSTR2抗体が、例えば、抗腫瘍治療薬 (例えば、化学療法剤およびT細胞) をそのようなSSTR2発現腫瘍に局在化するために有用であると思われている。例えば、SSTR2発現腫瘍にCD3+エフェクタ-T細胞を局在化することができるSSTR2およびCD3に対する二重特異性抗体は、有用な癌治療法であると思われている。抗体断片から生成された二重特異性体が、生物物理学的および薬物動態学的なハードルに直面する一方で、全長抗体様形式で構築されたそれらの弱点は、一次標的抗原の不在下において、共標的抗原を多価で結合し、非特異的な活性化および潜在的毒性を引き起こすことである。本発明は、この問題を、SSTR2およびCD3を対象とする新規の二重特異性抗体を導入することによって解決する。

【発明の概要】

【0009】

したがって、ソマトスタチン受容体2 (SSTR2) 抗原結合ドメインおよび抗SSTR2抗体 (例えば、二重特異性抗体) が、本明細書に提供される。

【0010】

一態様において、a) 第1の重鎖であって、i) 第1の変異体Fcドメインと、ii) 一本鎖Fv領域 (scFv) であって、scFv領域が、第1の可変重ドメイン、第1の可変軽ドメイン、および荷電scFvリンカーを含み、荷電scFvリンカーが、第1の可変重ドメインおよび第1の可変軽ドメインを共有結合する、単一鎖Fv領域 (scFv) と、を含む、第1の重鎖と、b) VH - CH1 - ヒンジ - CH2 - CH3 単量体を含む第2の重鎖であって、VHが、第2の可変重ドメインであり、CH2 - CH3が、第2の変異体Fcドメインである、第2の重鎖と、c) 第2の可変軽ドメインおよび軽定常ドメインを含む軽鎖と、を含む、SSTR2「栓抜き」形式抗体が本明細書に提供される。第2の変異体Fcドメインは、アミノ酸置換N208D / Q295E / N384D / Q418E / N421Dを含み、第1および第2の変異体Fcドメインはそれぞれ、アミノ酸置換E233P / L234V / L235A / G236del / S267Kを含み、第1の変異体Fcドメインは、アミノ酸置換S364K / E357Qを含み、第2の変異体Fcドメインは、アミノ酸置換L368D / K370Sを含む。さらに、第2の可変重ドメインは、配列番号1071を含み、第2の可変軽ドメインは、配列番号1076を含み、番号付けは、KabatにあるようにEUインデックスに従うものである。

【0011】

SSTR2「栓抜き」形式抗体の特定の実施形態において、scFvはCD3に結合する。いくつかの実施形態において、第1の可変重ドメインおよび第1の可変軽ドメインは、それぞれ、配列番号1および配列番号5、配列番号10および配列番号14、配列番号19および配列番号23、配列番号28および配列番号32、配列番号37および配列番号41、ならびに配列番号46および配列番号50を含むセットから選択される。いくつかの実施形態において、第1の可変重ドメインは、配列番号1を含み、第1の可変軽ドメインは、配列番号5を含む。

【0012】

SSTR2「栓抜き」形式抗体の特定の実施形態において、第2の重鎖のCH1 - ヒンジ - CH2 - CH3構成要素は、配列番号1108を含み、第1の変異体Fcドメインは、

10

20

30

40

50

配列番号 1109 を含み、定常軽ドメインは、配列番号 1110 を含む。

【0013】

いくつかの実施形態において、第 1 の重鎖は、配列番号 1080 を含み、第 2 の重鎖は、配列番号 1070 を含み、軽鎖は、配列番号 1075 を含む。

【0014】

別の態様において、配列番号 958 を有する可変重ドメインおよび配列番号 962 を有する可変軽ドメインを含む、ソマトスタチン受容体 2 (SSTR2) 抗原結合ドメインが本明細書に提供される。

【0015】

別の態様において、本明細書に説明されるヘテロ二量体抗体または抗原結合ドメインのうちのいずれかをコードする核酸を含む核酸組成物が本明細書に提供される。 10

【0016】

さらなる別の態様において、本明細書に説明される核酸のうちのいずれかを含む発現ベクターが本明細書に提供される。

【0017】

一態様において、本明細書に説明される発現ベクターまたは核酸のうちのいずれかで転換された宿主細胞が本明細書に提供される。

【0018】

別の態様において、本明細書に説明される主題のヘテロ二量体抗体または抗原結合ドメインを作製する方法が本明細書に説明される。方法は、抗体または抗原結合ドメインが発現される条件下で、本明細書に説明される発現ベクターまたは核酸のうちのいずれかで転換された宿主細胞を培養するステップ、および抗体または抗原結合ドメインを回収するステップを含む。 20

【0019】

一態様において、治療を必要とする患者に本明細書に説明される主題の抗体のうちのいずれか 1 つを投与することを含む、癌を治療する方法が本明細書に提供される。いくつかの実施形態において、癌は、神経内分泌癌である。

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図 1 A - 1 I】本発明のいくつかの形式を示す。最初に、第 1 および第 2 の抗抗原結合ドメインを伴う、「栓抜き」形式である。さらに、mAb-Fv、mAb-scFv、中心 scFv、中心 Fv、ワンアーム化 (one-armed) 中心 scFv、1 つの scFv - mAb、scFv - mAb、および二重 scFv 形式がすべて示される。示されるすべての scFv ドメインについて、それらは N 末端 ~ C 末端可変重 - (任意のリンカー) - 可変軽、またはその逆のいずれかであり得る。さらに、ワンアーム化 scFv - mAb について、scFv は、重鎖単量体の N 末端または軽鎖の N 末端のいずれかに結合され得る。特定の実施形態において、図 1 の「抗抗原 1」は、抗 SSTR2 結合ドメインを指す。特定の実施形態において、図 1 の「抗抗原 1」は、抗 CD3 結合ドメインを指す。特定の実施形態において、図 1 の「抗抗原 2」は、抗 SSTR2 結合ドメインを指す。特定の実施形態において、図 1 の「抗抗原 2」は、抗 CD3 結合ドメインを指す。いくつかの実施形態において、図 1 の「抗抗原 1」は、抗 SSTR2 結合ドメインを指し、図 1 の「抗抗原 2」は、抗 CD3 結合ドメインを指す。いくつかの実施形態において、図 1 の「抗抗原 1」は、抗 SSTR2 結合ドメインを指し、図 1 の「抗抗原 2」は、抗 CD3 結合ドメインを指す。 30

【図 2】ヒトおよびカニクイザル (Macaca fascicularis) SSTR2 タンパク質のアミノ酸配列を示す。

【図 3 A - 3 F】ヘテロ二量体化変異体のセットの有用な対 (歪曲および pI 変異体を含む) を示す。図 3 F において、対応する「単量体 2」変異体がない変異体があり、これらは、いずれかの単量体上で単独で使用され得るか、または栓抜きの Fab 側に含まれ得る pI 変異体であり、例えば、適切な荷電 scFv リンカーは、第 2 の抗原結合ドメインと 40

10

20

30

40

50

して $s c F v$ を利用する第 2 の单量体上で使用され得る。好適な荷電リンカーは、図 7 A および B に示される。

【図 4】等比体積変異体抗体定常領域およびそれらのそれぞれの置換を示す。 $p I_- (-)$ は、より低い $p I$ 変異体を示すが、 $p I_+ (+)$ は、より高い $p I$ 変異体を示す。これらは、本発明の他の二量体化変異体（および本明細書に概要が記載されるとおり、他の変異体の型）と、任意にかつ独立して組み合わされ得る。

【図 5】 $F c - R$ 結合を消去する有用な消去変異体（時に、「ノックアウト」または「KO」変異体と称されることがある）を示す。

【図 6】本発明の 2 つの特に有用な実施形態を示す。

【図 7 A - 7 B】本明細書に説明されるように、構成要素として 1 つ以上の $s c F v$ を利用する主題のヘテロ二量体抗体の $p I$ を増加または減少させることにおいて用途を見出すいくつかの荷電 $s c F v$ リンカーを示す。（+H）正のリンカーは、本明細書において特定の使用、本明細書に示される特に抗 C D 3 $v 1$ および $v h$ 配列を有する用途を見出す。単一電荷を有する、単一の先行技術 $s c F v$ リンカーは、Whitlow et al., Protein Engineering 6(8) : 989 - 995 (1993) にちなんで、「Whitlow」と称される。このリンカーは、 $s c F v$ において、凝集を低減するためおよびタンパク質分解安定性を増進するために使用されることに留意されたい。

【図 8】本明細書に説明されるヘテロ二量体抗体と共に使用され得る様々なヘテロ二量体歪曲変異体アミノ酸置換を示す。

【図 9 A - 9 E】 $F v$ 配列（例えば、 $s c F v$ ならびに $F a b$ 側の $v h$ および $v l$ ）を有さない、ヒト Ig G 1 に基づくいくつかの有用な栓抜き骨格の配列を示す。栓抜き骨格 1 は、ヒト Ig G 1 (356E / 358M アロタイプ) に基づき、S 364K / E 357Q : L 368D / K 370S 歪曲変異体、 $F a b$ 側の N 208D / Q 295E / N 384D / Q 418E / N 421D $p I$ 変異体、および両方の鎖上の E 233P / L 234V / L 235A / G 236d e 1 / S 267K 消去変異体を含む。栓抜き骨格 2 は、ヒト Ig G 1 (356E / 358M アロタイプ) に基づき、異なる歪曲変異体、 $F a b$ 側の N 208D / Q 295E / N 384D / Q 418E / N 421D $p I$ 変異体、および両方の鎖上の E 233P / L 234V / L 235A / G 236d e 1 / S 267K 消去変異体を含む。栓抜き骨格 3 は、ヒト Ig G 1 (356E / 358M アロタイプ) に基づき、異なる歪曲変異体、 $F a b$ 側の N 208D / Q 295E / N 384D / Q 418E / N 421D $p I$ 変異体、および両方の鎖上の E 233P / L 234V / L 235A / G 236d e 1 / S 267K 消去変異体を含む。栓抜き骨格 4 は、ヒト Ig G 1 (356E / 358M アロタイプ) に基づき、異なる歪曲変異体、 $F a b$ 側の N 208D / Q 295E / N 384D / Q 418E / N 421D $p I$ 変異体、および両方の鎖上の E 233P / L 234V / L 235A / G 236d e 1 / S 267K 消去変異体を含む。栓抜き骨格 5 は、ヒト Ig G 1 (356D / 358L アロタイプ) に基づき、S 364K / E 357Q : L 368D / K 370S 歪曲変異体、 $F a b$ 側の N 208D / Q 295E / N 384D / Q 418E / N 421D $p I$ 変異体、および両方の鎖上の E 233P / L 234V / L 235A / G 236d e 1 / S 267K 消去変異体を含む。栓抜き骨格 6 は、ヒト Ig G 1 (356E / 358M アロタイプ) に基づき、S 364K / E 357Q : L 368D / K 370S 歪曲変異体、 $F a b$ 側の N 208D / Q 295E / N 384D / Q 418E / N 421D $p I$ 変異体、および両方の鎖上の E 233P / L 234V / L 235A / G 236d e 1 / S 267K 消去変異体、ならびに両方の鎖上の N 297A 変異体を含む。栓抜き骨格 7 は、変異が N 297S であることを除いて栓抜き骨格 6 と同一である。栓抜き骨格 6 および 7 の代替的な形式は、両方の鎖上の消去変異体 E 233P / L 234V / L 235A / G 236d e 1 / S 267K を除外し得る。栓抜き骨格 8 は、ヒト Ig G 4 に基づき、S 364K / E 357Q : L 368D / K 370S 歪曲変異体、 $F a b$ 側の N 208D / Q 295E / N 384D / Q 418E / N 421D $p I$ 変異体、および両方の鎖上の E 233P / L 234V / L 235A / G 236d e 1 / S 267K 消去変異体、ならびに当該技術分野で既知のような $F a b$ アーム交換を消去する両方の鎖上の S 228P (EU番

10

20

30

40

50

号付け、これは K a b a t において S 2 4 1 P である) 变異体を含む。栓抜き骨格 8 の代替的な形式は、両方の鎖上の消去变異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K を除外し得る栓抜き骨格 9 は、ヒト I g G 2 に基づき、S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S 歪曲变異体、F a b 側の N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D p I 变異体を含む。栓抜き骨格 10 は、ヒト I g G 2 に基づき、S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S 歪曲变異体、F a b 側の N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D p I 变異体、および両方の鎖上の S 2 6 7 K 变異体を含む。

【 0 0 2 1 】

当業者によって理解されることによっておよび以下に概説されるように、これらの配列は、s c F v (任意に荷電 s c F v リンカーを含む) を含む一方の单量体および F a b 配列 (例えば、「F a b 側重鎖」に結合された v h および「定常軽鎖」に結合された v l) を含む他方の单量体を有する、本明細書に概要が記載される任意の v h および v l 対と共に使用され得る。すなわち、抗 S S T R 2 および抗 C D 3 の以下に概説される任意の F v 配列が、s c F v (さらに、任意に、荷電 s c F v リンカーを有する) としてまたは F a b としてかは、任意の組み合わせでこれらの図 9 の骨格に組み込まれ得る。図 9 A に示される定常軽鎖は、図中のすべての構築物に使用され得るが、カッパ定常軽鎖もまた置換され得る。

【 0 0 2 2 】

これらの栓抜き骨格が、追加の、第 1 の F a b と同じ抗原結合を有する第 2 の F a b (v h - C H 1 および v l 定常軽) が、「栓抜き側」の s c F v の N 末端に添加される図 1 F の中心 s c F v 形式において用途を見出すことに留意されるべきである。

【 0 0 2 3 】

列挙される配列と、9 0、9 5、9 8、および 9 9 % 同一 (本明細書に定義されるように) であり、および / または 1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは 10 個の追加のアミノ酸置換を含む (図の「親」と比較した場合) 配列が、これらの骨格の各々の内に含まれ、追加のアミノ酸置換は、当業者に理解されるように、親ヒト I g G 1 (または、骨格に応じて、I g G 2 または I g G 4) と比較した場合にいくつかのアミノ酸修飾を既に含む。すなわち、列挙された骨格は、この図の骨格内に含まれる歪曲、p I、および消去变異体に加えて、追加のアミノ酸修飾 (概してアミノ酸置換) を含み得る。

【 0 0 2 4 】

【図 10 A - 10 D】本発明における有用である m A b - s c F v 骨格の配列を示し、それに対して、本発明の F v 配列が添加される。m A b - s c F v 骨格 1 は、ヒト I g G 1 (3 5 6 E / 3 5 8 M アロタイプ) に基づき、S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S 歪曲变異体、F a b 側の N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D p I 变異体、および両方の鎖上の E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K 消去变異体を含む。骨格 2 は、ヒト I g G 1 (3 5 6 D / 3 5 8 L アロタイプ) に基づき、S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S 歪曲变異体、F a b 側の N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D p I 变異体、および両方の鎖上の E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K 消去变異体を含む。骨格 3 は、ヒト I g G 1 (3 5 6 E / 3 5 8 M アロタイプ) に基づき、S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S 歪曲变異体、F a b 側の N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D p I 变異体、および両方の鎖上の E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K 去变異体、ならびに両方の鎖上の N 2 9 7 A 变異体を含む。骨格 4 は、変異が N 2 9 7 S であることを除いて栓抜き骨格 3 と同一である。m A b - s c F v 骨格 3 および 4 の代替的な形式は、両方の鎖上の消去变異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K を除外し得る。骨格 5 は、ヒト I g G 4 に基づき、S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S 歪曲变異体、F a b 側の N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D p I 变異体、および両方の鎖上の E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A

10

20

30

40

50

/ G 2 3 6 d e l / S 2 6 7 K 消去変異体、ならびに当該技術分野で既知のよう F a b アーム交換を消去する両方の鎖上の S 2 2 8 P (E U 番号付け、これは K a b a t において S 2 4 1 P である) 变異体を含む骨格 6 は、ヒト I g G 2 に基づき、 S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S 歪曲变異体、 F a b 側の N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D p I 变異体を含む。骨格 7 は、ヒト I g G 2 に基づき、 S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S 歪曲变異体、 F a b 側の N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D p I 变異体、ならびに両方の鎖上の S 2 6 7 K 变異体を含む。

【 0 0 2 5 】

当業者によって理解されることによっておよび以下に概説されるように、これらの配列は、 F a b および s c F v (任意に荷電 s c F v リンカーを含む) の両方を含む一方の单量体、ならびに F a b 配列 (例えば、「 F a b 側重鎖」に結合された v h および「定常軽鎖」に結合された v l) を含む他方の单量体を有する、本明細書に概要が記載される任意の v h および v l 対と共に使用され得る。すなわち、抗 S S T R 2 および抗 C D 3 の以下に概説される任意の F v 配列が、 s c F v (さらに、任意に、荷電 s c F v リンカーを有する) としてまたは F a b としてかにかかわらず、任意の組み合わせでこの図 1 0 の骨格に組み込まれ得る。单量体 1 側は、 F a b - s c F v p I 負側であり、ヘテロ二量体化变異体 L 3 6 8 D / K 3 7 0 S 、等比体積 p I 变異体 N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D 、消去变異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l / S 2 6 7 K を含む (すべて I g G 1 に対する) 。单量体 2 側は、 s c F v p I 正側であり、ヘテロ二量体化变異体 3 6 4 K / E 3 5 7 Q を含む。しかしながら、他の歪曲变異体の対は、置換され得、特に [S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S] 、 [L 3 6 8 D / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K] 、 [L 3 6 8 E / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K] 、 [T 4 1 1 T / E 3 6 0 E / Q 3 6 2 E : D 4 0 1 K] 、 [L 3 6 8 D / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K / E 3 5 7 L] 、 [K 3 7 0 S : S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q] 、 [T 3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V : T 3 6 6 W] 、および [T 3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V / Y 3 9 4 C : T 3 6 6 W / S 3 5 4 C] である。

【 0 0 2 6 】

図 1 0 A に示される定常軽鎖は、図中のすべての構築物に使用され得るが、カッパ定常軽鎖もまた置換され得る。

【 0 0 2 7 】

これらの m A b - s c F v 骨格が、図 1 H の m A b - F v 形式 (一方の单量体が C 末端で v l を含み、他方の单量体が C 末端で v h を含む) ならびに図 1 E の s c F v - m A b 形式 (单量体のうちの 1 つの C 末端に添加された s c F v ドメインを有する) の両方において用途を見出すことに留意されるべきである。

【 0 0 2 8 】

列挙される配列と、 9 0 、 9 5 、 9 8 、および 9 9 % 同一 (本明細書に定義されるように) であり、および / または 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、もしくは 1 0 個の追加のアミノ酸置換を含む (図の「親」と比較した場合) 配列が、これらの骨格の各々の内に含まれ、追加のアミノ酸置換は、当業者に理解されるように、親ヒト I g G 1 (または、骨格に応じて、 I g G 2 または I g G 4) と比較した場合にいくつかのアミノ酸修飾を既に含む。すなわち、列挙された骨格は、この図の骨格内に含まれる歪曲、 p I 、および消去变異体に加えて、追加のアミノ酸修飾 (概してアミノ酸置換) を含み得る。

【 0 0 2 9 】

【 図 1 1 A - 1 1 G 】 抗 S S T R 2 H 1 . 1 4 3 _ L 1 . 3 0 、 抗 S S T R 2 H 1 _ L 1 . 1 、 抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 3 0 、 抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 6 7 、 抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 0 8 、 抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 1 、 抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 4 、 抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 0 2 、 抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 0 、 抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 3 0 、 抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 6 7 、 抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1

10

20

30

40

50

. 1 0 8 、 抗 S S T R 2 _ H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 1 1 、 抗 S S T R 2 _ H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 1 4 、 抗 S S T R 2 _ H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 0 2 、 および 抗 S S T R 2 _ H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 0 を含む、本明細書に説明される例示的な主題の抗 S S T R 2 抗原結合ドメインのアミノ酸配列を示す。示される配列は、各抗原結合ドメインについて可変重 (v h) ドメインおよび可変軽 (v l) ドメイン配列を含む。各 v h 配列について、v h C D R 1 、 v h C D R 2 、 および v h C D R 3 配列には、下線が引かれておりかつ青色である。各 v l 配列について、v l C D R 1 、 v l C D R 2 、 および v l C D R 3 配列には、下線が引かれておりかつ青色である。本明細書において留意されるように、および C D R を含む本明細書の各配列と同様であるように、C D R 位置の正確な識別は、表 1 に示されるように、使用される番号付けに依存してわずかに異なる場合があり、したがって、下線がつけられた C D R だけではなく、他の番号付けシステムを使用した v h および v l ドメイン内に含まれる C D R もまた本明細書に含まれる。さらに、図中のすべての配列に関して、これらの v h および v l 配列は、s c F v 形式または F a b 形式のいずれかで使用され得る。

【 0 0 3 0 】

【 図 1 2 A - 1 2 F 】本明細書に提供される主題の抗体において使用され得る様々な抗 C D 3 抗原結合ドメイン（例えば、抗 C D 3 _ s c F v ）を示す。C D R は、下線がつけられており、s c F v リンカーは、二重下線が引かれており（配列において、s c F v リンカーは、正荷電 s c F v (G K P G S) 4 リンカーであるが、当業者に理解されるように、このリンカーは、非荷電または負荷電リンカーを含む他のリンカーによって置き換えられ得、それらのうちのいくつかは、図 7 に示される。上記のように、命名規則は、N 末端から C 末端への s c F v の方向付けを表し、この図中に列挙される配列において、それらは、v h - s c F v リンカー - v l としてすべて方向付けされている（N 末端から C 末端へ）が、これらの配列はまた、逆の方向付け、（N 末端から C 末端へ）v l - リンカー - v h で使用され得る。本明細書において留意されるように、および C D R を含む本明細書の各配列と同様であるように、C D R 位置の正確な識別は、表 1 に示されるように、使用される番号付けに依存してわずかに異なる場合があり、したがって、下線が引かれた C D R だけではなく、他の番号付けシステムを使用した v h および v l ドメイン内に含まれる C D R もまた本明細書に含まれる。さらに、図中のすべての配列に関して、これらの v h および v l 配列は、s c F v 形式または F a b 形式のいずれかで使用され得る。

【 0 0 3 1 】

【 図 1 2 A 】可変重および軽ドメイン（C D R には下線が引かれている）、ならびに個々の v l および v h C D R 、ならびに荷電リンカー（二重下線が引かれている）を有する s c F v 構築物を含む「高 C D 3 」抗 C D 3 _ H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7 構築物の配列を示す。図に示される配列のすべてにあてはまるように、この荷電リンカーは、必要に応じて、非荷電リンカーまたは異なる荷電リンカーによって置き換えられ得る。

【 0 0 3 2 】

【 図 1 2 B 】可変重および軽ドメイン（C D R には下線が引かれている）、ならびに個々の v l および v h C D R 、ならびに荷電リンカー（二重下線が引かれている）を有する s c F v 構築物を含む「高中間（H i g h - I n t ）# 1 」抗 C D 3 _ H 1 . 3 2 _ L 1 . 4 7 構築物の配列を示す。図に示す配列のすべてにあてはまるように、この荷電リンカーは、必要に応じて、非荷電リンカーまたは異なる荷電リンカーによって置き換えられ得る。

【 0 0 3 3 】

【 図 1 2 C 】可変重および軽ドメイン（C D R には下線が引かれている）、ならびに個々の v l および v h C D R 、ならびに荷電リンカー（二重下線が引かれている）を有する s c F v 構築物を含む「高中間 # 2 」抗 C D 3 _ H 1 . 8 9 _ L 1 . 4 7 構築物の配列を示す。図に示す配列のすべてにあてはまるように、この荷電リンカーは、必要に応じて、非荷電リンカーまたは異なる荷電リンカーによって置き換えられ得る。

【 0 0 3 4 】

【 図 1 2 D 】可変重および軽ドメイン（C D R には下線が引かれている）、ならびに個々

10

20

30

40

50

の v 1 および v h C D R、ならびに荷電リンカー（二重下線が引かれている）を有する s c F v 構築物を含む「高中間 # 3」抗 C D 3 _ H 1 . 9 0 _ L 1 . 4 7 構築物の配列を示す。図に示す配列のすべてにあてはまるように、この荷電リンカーは、必要に応じて、非荷電リンカーまたは異なる荷電リンカーによって置き換えられ得る。

【 0 0 3 5 】

【図 1 2 E】可変重および軽ドメイン（C D R には下線が引かれている）、ならびに個々の v 1 および v h C D R、ならびに荷電リンカー（二重下線が引かれている）を有する s c F v 構築物を含む「中間」抗 C D 3 _ H 1 . 3 3 _ L 1 . 4 7 構築物の配列を示す。図に示す配列のすべてにあてはまるように、この荷電リンカーは、必要に応じて、非荷電リンカーまたは異なる荷電リンカーによって置き換えられ得る。

10

【 0 0 3 6 】

【図 1 2 F】可変重および軽ドメイン（C D R には下線が引かれている）、ならびに個々の v 1 および v h C D R、ならびに荷電リンカー（二重下線が引かれている）を有する s c F v 構築物を含む「低」抗 C D 3 _ H 1 . 3 1 _ L 1 . 4 7 構築物の配列を示す。図に示す配列のすべてにあてはまるように、この荷電リンカーは、必要に応じて、非荷電リンカーまたは異なる荷電リンカーによって置き換えられ得る。

【 0 0 3 7 】

【図 1 3 A - 1 3 Z】本明細書に説明される主題の二重特異性抗体（例えば、抗 S S T R 2 X 抗 C D 3 「栓抜き」抗体）と共に使用され得る安定性最適化、ヒト化抗 C D 3 変異体 s c F v 変異体のアミノ酸配列を示す。C D R には下線が引かれている。各重鎖 / 軽鎖の組み合わせでは、4つの配列が列挙される：(i) C 末端 6 x H i s タグを有する s c F v、(i i) 単独の s c F v、(i i i) 単独の V H、(i v) 単独の V L。本明細書において留意されるように、および C D R を含む本明細書の各配列と同様であるように、C D R 位置の正確な識別は、表 1 に示されるように、使用される番号付けに依存してわずかに異なる場合があり、したがって、下線が引かれた C D R だけではなく、他の番号付けシステムを使用した v h および v 1 ドメイン内に含まれる C D R もまた本明細書に含まれる。さらに、図中のすべての配列に関して、これらの v h および v 1 配列は、s c F v 形式または F a b 形式のいずれかで使用され得る。

20

【 0 0 3 8 】

【図 1 4 A - 1 4 B】本明細書に説明される例示的な抗 S S T R 2 X 抗 C D 3 「栓抜き」二重特異性抗体、X E N P 0 1 8 0 8 7 (S S T R 2 _ H 1 . 1 4 3 _ L 1 . 3 0 および C D 3 _ H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7) のアミノ酸配列を示す。S S T R 2 _ F a b - F c 重鎖配列について、v h C D R 1 ~ 3 には、下線が引かれておりかつ青色であり、可変重ドメインおよび C H 1 - ヒンジ - C H 2 - C H 3 の間の境界は、「 / 」によって示されている。C D 3 _ s c F v - F c 重鎖配列について、様々なドメイン間の境界は、「 / 」を使用して示されており、以下のとおりである：s c F v 可変重鎖ドメイン / s c F v リンカー / s c F v 軽鎖ドメイン / F c ドメイン。v h C D R 1 ~ 3 および v 1 C D R 1 ~ 3 には、青色で下線が引かれている。各 s c F v - F c ドメインについて、v h C D R 1 ~ 3 および v 1 C D R 1 ~ 3 配列には、下線が引かれておりかつ青色である。C D 3 軽鎖配列について、v 1 C D R 1 ~ 3 には、下線が引かれておりかつ青色であり、可変軽鎖ドメインおよび軽鎖定常ドメインの間の境界は、「 / 」によって示されている。示される荷電リンカーは、(G K P G S) 4 であるが、図 7 A および B に示されるものなどの他の荷電または非荷電リンカーが使用され得る。さらに、以下に概説される各配列は、1つまたは好ましくは両方の f c ドメインにおいて M 4 2 8 L / N 4 3 4 S 変異体を含み得るか、または除外し得、それは血清においてより長い半減期をもたらす。

30

【 0 0 3 9 】

【図 1 5 A - 1 5 R】X E N P 0 1 8 9 0 7 (図 1 5 A および B、S S T R 2 _ H 1 . 1 4 3 _ L 1 . 3 0 および C D 3 _ H 1 . 3 2 _ L 1 . 4 7) を含む、本明細書に説明される例示的な抗 S S T R 2 X 抗 C D 3 「栓抜き」二重特異性抗体のアミノ酸配列を示す。S S T R 2 _ F a b - F c 重鎖配列について、v h C D R 1 ~ 3 には、下線が引かれており

40

50

かつ青色であり、可変重ドメインおよび C H 1 - ヒンジ - C H 2 - C H 3 の間の境界は、「 / 」によって示されている。C D 3 s c F v - F c 重鎖配列について、様々なドメイン間の境界は、「 / 」を使用して示されており、以下のとおりである：s c F v 可変重鎖ドメイン / s c F v リンカー / s c F v 軽鎖ドメイン / F c ドメイン。v h C D R 1 ~ 3 および v 1 C D R 1 ~ 3 には、青色で下線が引かれている。各 s c F v - F c ドメインについて、v h C D R 1 ~ 3 および v 1 C D R 1 ~ 3 配列には、下線が引かれておりかつ青色である。C D 3 軽鎖配列について、v 1 C D R 1 ~ 3 には、下線が引かれておりかつ青色であり、可変軽鎖ドメインおよび軽鎖定常ドメインの間の境界は、「 / 」によって示されている。示される荷電リンカーは、(G K P G S) 4 であるが、図 7 A および B に示されるものなどの他の荷電または非荷電リンカーが使用され得る。さらに、本明細書に概説される各配列は、1つまたは好ましくは両方の f c ドメインにおいて M 4 2 8 L / N 4 3 4 S 変異体を含み得るか、または除外し得、それは血清においてより長い半減期をもたらす。

【 0 0 4 0 】

【図 16 A - 16 C】本明細書に説明される例示的な二重特異性抗 S S T R 2 × 抗 C D 3 抗体の可能な組み合わせのマトリックスを示す。「A」は、マトリックスの上部の参照される C D 3 結合ドメイン配列の C D R が、マトリックスの左側に列挙される S S T R 2 結合ドメイン配列の C D R と組み合わされ得ることを意味する。例えば、「抗 S S T R 2 H 1 . 1 4 3 _ L 1 . 3 0 」および「抗 C D 3 H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7 」に関して、「A」は、a) 可変重鎖 C D 3 H 1 . 3 0 配列からの v h C D R および可変軽鎖 C D 3 L 1 . 4 7 配列からの v 1 C D R を有する C D 3 結合ドメインと、b) S S T R 2 H 1 . 1 4 3 配列からの v h C D R および S S T R 2 L 1 . 3 0 配列からの v 1 C D R を有する S S T R 2 結合ドメインとを含む二重特異性抗体を示す。「B」は、C D 3 結合ドメイン構築物からの C D R が、S S T R 2 結合ドメイン構築物からの可変重および軽ドメインと組み合わされ得ることを意味する。例えば、「抗 S S T R 2 H 1 . 1 4 3 _ L 1 . 3 0 」および「抗 C D 3 H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7 」に関して、「B」は、a) 可変重鎖 C D 3 H 1 . 3 0 配列からの v h C D R および C D 3 L 1 . 4 7 配列の可変軽鎖からの v 1 C D R を有する C D 3 結合ドメインと、b) 可変重ドメイン S S T R 2 H 1 . 1 4 3 配列および可変軽ドメイン S S T R 2 L 1 . 3 0 配列を有する S S T R 2 結合ドメインとを含む二重特異性抗体を示す。「C」は、a) 抗 C D 3 配列からの可変重ドメインおよび可変軽ドメインを有する C D 3 結合ドメインと、b) 抗 S S T R 2 配列の C D R を有する S S T R 2 結合ドメインとを含む二重特異性抗体を示す。「D」は、示される抗 S S T R 2 配列の可変重および可変軽鎖を有する S S T R 2 結合ドメインと、示される抗 C D 3 配列の可変重および可変軽鎖を有する C D 3 結合ドメインとを含む二重特異性抗体を示す。「E」は、s c F v を含む二重特異性抗体を示し、C D 3 の s c F v は、S S T R 2 の C D R と共に使用される。「F」は、s c F v を含む二重特異性抗体を示し、C D 3 の s c F v は、S S T R 2 抗原結合ドメインの可変重および可変軽ドメインと共に使用される。これらの組み合わせのすべては、栓抜き形式、例えば、図 9 に示される骨格形式のうちのいずれかで、または図 26 に示される形式骨格を含む、図 1 の m A b - F v 、m A b - s c F v 、中心 s c F v 、中心 F v 、または二重 s c F v 形式などの代替的な形式で行われる。例えば、「A」(C D 3 C D R および S S T R 2 C D R) は、図 9 のものを含むか、もしくは異なるヘテロ二量体化変異体を含む栓抜き配列、または図 10 の m A b - s c F v 骨格、中心 s c F v 、m A b - F v 形式、もしくは中心 F v 形式に添加され得る。しかしながら、概して、C D 3 の二価結合を含むであろう形式は、好まれない。

【 0 0 4 1 】

【図 16 D - 16 F】本明細書に説明される例示的な二重特異性抗 S S T R 2 × 抗 C D 3 栓抜き形式の可能な組み合わせのマトリックスを示す。これらのマトリックスにおいて、抗 C D 3 s c F v は、X 軸に列挙されており、抗 S S T R 2 F a b は、Y 軸に列挙されている。「A」は、マトリックスの上部の参照される C D 3 結合ドメイン配列の C D R が、マトリックスの左側に列挙される S S T R 2 結合ドメイン配列の C D R と組み合わされ得

10

20

30

40

50

ることを意味する。例えば、「抗 S S T R 2 H 1 . 1 4 3 _ L 1 . 3 0 」および「抗 C D 3 H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7 」に関して、「A」は、a) 可変重鎖 C D 3 H 1 . 3 0 配列からの v h C D R および可変軽鎖 C D 3 L 1 . 4 7 配列からの v l C D R を有する抗 C D 3 s c F V と、b) S S T R 2 H 1 . 1 4 3 配列からの v h C D R および S S T R 2 L 1 . 3 0 配列からの v l C D R を有する抗 S S T R 2 F a b とを含む二重特異性栓抜き形式抗体を示す。「B」は、C D 3 結合ドメイン構築物からの C D R が、S S T R 2 結合ドメイン構築物からの可変重および軽ドメインと組み合わされ得ることを意味する。例えば、「抗 S S T R 2 H 1 . 1 4 3 _ L 1 . 3 0 」および「抗 C D 3 H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7 」に関して、「B」は、a) 可変重鎖 C D 3 H 1 . 3 0 配列からの v h C D R および C D 3 L 1 . 4 7 配列の可変軽鎖からの v l C D R を有する抗 C D 3 s c F v と、b) 可変重ドメイン S S T R 2 H 1 . 1 4 3 配列および可変軽ドメイン S S T R 2 L 1 . 3 0 配列を有する抗 S S T R 2 F a b とを含む二重特異性栓抜き抗体を示す。「C」は、a) 抗 C D 3 配列からの可変重ドメインおよび可変軽ドメインを有する抗 C D 3 s c F v と、b) 抗 S S T R 2 配列の C D R を有する S S T R 2 F a b とを含む二重特異性栓抜き抗体を示す。「D」は、示される S S T R 2 配列の可変重および可変軽鎖を有する抗 S S T R 2 F a b と、示される抗 C D 3 配列の可変重および可変軽鎖を有する抗 C D 3 s c F v とを含む二重特異性栓抜き抗体を示す。

【0042】

【図 17 A - 17 P】ヒト S S T R 2 トランスフェクト C H O 細胞を使用した例示的な抗 S S T R 2 抗体および抗 S S T R 2 × 抗 C D 3 二重特異性抗体の細胞表面結合アッセイを示す。結合を、フィコエリトリン (P E) 標識二次抗体を使用してフローサイトメトリーによって測定した。

【0043】

【図 18 A - 18 D】抗 S S T R 2 × 抗 C D 3 二重特異性およびヒト S S T R 2 トランスフェクト C H O 細胞を使用した、再指示された T 細胞細胞傷害性 (R T C C) アッセイの結果を示す。

【0044】

【図 19 A - 19 C】T T 細胞を有する抗 S S T R 2 × 抗 C D 3 二重特異性を使用した、再指示された T 細胞の細胞傷害性 (R T C C) アッセイの結果を示す(ヒト甲状腺臓様癌細胞株、図 19 A ~ 19 C)。

【0045】

【図 20 A - 20 B】カニクイザルにおける C D 4 + および C D 8 + T 細胞活性化 (図 20 A) ならびに C D 4 + および C D 8 + T 細胞分布 (図 20 B) への抗 S S T R 2 × 抗 C D 3 二重特異性抗体の効果の研究を示す。

【0046】

【図 21 A - 21 D】カニクイザルにおける C D 4 + および C D 8 + T 細胞活性化 (図 21 A) ならびに C D 4 + および C D 8 + T 細胞分布 (図 21 B) への抗 S S T R 2 × 抗 C D 3 二重特異性抗体の効果の追加の研究を示す。さらに、ブドウ糖負荷試験 (G T T) を行い (図 21 C および 21 D)、試験された対象の能力を評価し、ブドウ糖を分解した。

【0047】

【図 22 A - 22 F】C D 4 + および C D 8 + T 細胞活性化 (図 22 A および B)、C D 4 + および C D 8 + T 細胞分布 (図 22 C および D)、ならびに血清 I L - 6 および T N F の血清レベル (図 22 E および F) の例示的な抗 S S T R 2 × 抗 C D 3 二重特異性抗体の追加の研究を示す。

【0048】

【図 23 A - 23 C】ヒト S S T R 2 トランスフェクト C H O 細胞 (図 23 A)、カニクイザル S S T R 2 トランスフェクト C H O 細胞 (図 23 B)、ならびに非トランスフェクト親 C H O 細胞 (図 23 C) 上の X m A b 1 8 0 8 7 および X E N P 1 3 2 4 5 の細胞表面結合アッセイを示す。

【0049】

10

20

30

40

50

【図24A - 24C】ヒトSSTR2トランスフェクトCHO細胞(図24A)、TT細胞(ヒト甲状腺臓様癌細胞株、図28B)、またはA548細胞(肺腺癌細胞株、図24C)を有する、XmAb18087(四角)およびXENP13245(丸)を使用した再指示されたT細胞細胞傷害性(RTCC)アッセイの結果を示す。

【0050】

【図25】TT細胞(ヒト甲状腺臓様癌細胞株)またはA548細胞(肺癌)を有する抗SSTR2 × 抗CD3二重特異性および制御抗SSTR2mAb、ならびに抗RSV × 抗CD3を使用した、再指示されたT細胞細胞傷害性(RTCC)アッセイの結果を示す。

【0051】

【図26A - B】図2に説明される実験の24時間後のヒトSSTR2トランスフェクトCHO細胞(図29A)およびTT細胞(図29B)と共にインキュベートされたCD4⁺およびCD8⁺T細胞上のCD69の上方調節を示す。記入されたデータ点は、CD8⁺T細胞上のCD69 MFIを示し、無記入のデータ点は、CD4⁺T細胞上のCD69 MFIを示す。

【0052】

【図27】XmAb18087の抗腫瘍活性を試験するためのマウスの研究の設計を示す。

【0053】

【図28A - 28B】時間および治療の関数としてIVIS(登録商標)によって測定された腫瘍サイズを示す。

【0054】

【図29】IVIS(登録商標)生物発光画像を示す(投与量#1後28日目)。

【0055】

【図30A - 30B】カニクイザルにおけるCD4⁺(図30A)およびCD8⁺(図30B)T細胞分布へのXmAb18087の効果の研究を示す。

【0056】

【図31A - 31B】カニクイザルにおけるCD4⁺(図31A)およびCD8⁺(図31B)T細胞活性化へのXmAb18087の効果の研究を示す。

【0057】

【図32A - 32B】カニクイザルにおける血清IL-6およびTNFのレベルのXmAb18087の効果を示す。

【0058】

【図33】XmAb18087の様々な濃度を使用した時間および治療の関数としてIVIS(登録商標)によって測定された場合のA549-RedFlucrel腫瘍細胞およびヒトPBMNCを生着されたNSGマウスの腫瘍サイズを示す。

【発明を実施するための形態】

【0059】

A. 材料の組み込み

図および説明

USSN62/481, 065, 62/397, 322、および62/355, 820のすべての図および添付の説明は、特にそこで示されるアミノ酸配列について、それらの全体において本明細書に参照によって明確におよび独立して組み込まれる。

【0060】

配列

添付の配列表について以下のとおりに述べる。ABDとしての使用に好適な抗SSTR2配列は、配列番号958～1069(図11)および可変重ドメイン、可変軽ドメイン、ならびに配列番号58～659の抗SSTR2重鎖および軽鎖配列のCDRを含む。ABDとしての使用に好適な抗CD3配列は、可変重ドメイン、可変軽ドメイン、ならびに配列番号1～54(図12)および配列番号835～938に含まれるCDRを含む。可変重ドメイン、可変軽ドメイン、およびCDRは、本明細書に説明される主題の抗体および抗原結合ドメインのscFvまたはFv形式に含まれ得る。

10

20

30

40

50

例示的な二重特異性 S S T R 2 × C D 3 抗体の配列は、配列番号 1 0 7 0 ~ 1 0 8 8 (図 14) 、ならびに配列番号 1 0 8 9 ~ 1 1 0 7 および配列番号 6 6 0 ~ 8 0 6 (図 15) に含まれる。

【 0 0 6 1 】

B . 概要

癌の治療に好適である抗 S S T R 2 抗体が本明細書に提供される。 S S T R 2 が、神経内分泌腫瘍 (N E T 、例えば、肺癌、胃腸癌、膵臓癌、下垂体癌、髓様癌、前立腺、膵臓肺カルチノイド、骨肉腫など) ならびに非 N E T (乳癌、肺癌、大腸癌、卵巣癌、子宮頸癌など) に高発現されるため、抗 S S T R 2 抗体は、そのような S S T R 2 発現腫瘍に抗腫瘍治療薬 (例えば、化学療法剤および T 細胞) を局在化するために有用であると思われる。具体的には、抗 C D 3 、抗 S S T R 2 二重特異性抗体が本明細書に提供される。そのような抗体は、 C D 3 + エフェクター T 細胞を S S T R 2 + 腫瘍に送るために使用され、それによって、 C D 3 + エフェクター T 細胞が S S T R 2 + 腫瘍を攻撃および溶解することを可能にする。

10

【 0 0 6 2 】

C D 3 および腫瘍抗原標的を共結合する抗二重特異性抗体は、 T 細胞を再指示して標的腫瘍細胞を攻撃および溶解するために設計され使用されてきた。例としては、 C D 3 および腫瘍抗原を一価で結合する B i T E および D A R T 形式が挙げられる。 C D 3 ターゲティング手法が相当な見込みを示した一方、そのような治療の共通の副作用は、サイトカインの関連する産生であり、毒性サイトカイン放出症候群につながることが多い。二重特異性抗体の抗 C D 3 結合ドメインが、すべての T 細胞を結合するため、高サイトカイン産生 C D 4 T 細胞サブセットが補充される。その上、 C D 4 T 細胞サブセットは、制御性 T 細胞を含み、その補充および拡大は、免疫抑制に潜在的につながり、長期の腫瘍抑制に悪影響を有し得る。さらに、これらの形式は、 F c ドメインを含まず、患者において非常に短い血清半減期を示す。

20

【 0 0 6 3 】

C D 3 ターゲティング手法が相当な見込みを示した一方、そのような治療の共通の副作用は、サイトカインの関連する産生であり、毒性サイトカイン放出症候群につながることが多い。二重特異性抗体の抗 C D 3 結合ドメインが、すべての T 細胞に捕捉するため、高サイトカイン産生 C D 4 T 細胞サブセットが補充される。その上、 C D 4 T 細胞サブセットは、制御性 T 細胞を含み、その補充および拡大は、免疫抑制に潜在的につながり、長期の腫瘍抑制に悪影響を有し得る。サイトカイン産生を低下させ、かつ C D 4 T 細胞の活性化をおそらく低下させる 1 つのそのような可能性のある方法は、 C D 3 への抗 C D 3 ドメインの親和性を低下させることによるものである。

30

【 0 0 6 4 】

したがって、いくつかの実施形態において、本発明は、 C D 3 に対する「強」または「高親和性」結合体 (例えば、 1 つの例は、 H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7 として示される重可変ドメイン、および軽可変ドメインである (任意に、適切な場合、荷電リンカーを含む)) であり、また S S T R 2 に結合する抗 C D 3 抗原結合ドメインを含む抗体構築物を提供する。他の実施形態では、本発明は、 C D 3 に対する「軽 (l i t e) 」または「低親和性」結合体である抗 C D 3 抗原結合ドメインを含む抗体構築物を提供する。追加の実施形態は、 C D 3 に対して中間または「中」親和性を有し、また C D 3 8 に結合する抗 C D 3 抗原結合ドメインを含む抗体構築物を提供する。親和性は、概して、 B i a c o r e アッセイを使用して測定される。

40

【 0 0 6 5 】

本発明の「高、中、低」抗 C D 3 配列が、様々なヘテロ二量体化形式において使用され得ることを理解されるべきである。本明細書において開示の大部分が、ヘテロ二量体の「栓抜き」形式を使用する一方で、これらの可変重および軽配列、ならびに s c F v 配列 (ならびにこれらの可変重および軽配列を含む F a b 配列) は、 W O 公開第 2 0 1 4 / 1 4 5 8 0 6 号の図 2 に示されるもの、参照によって本明細書に明確に組み込まれる図、形式、

50

および説明文などの他の形式で使用され得る。

【0066】

したがって、一様において、例えば、それらが2つの異なる標的抗原を結合するという点で抗体が「二重特異性」である、2つの異なる抗原に結合するヘテロ二量体抗体、概して以下に説明されるようなSSTR2が本明細書に提供される。これらのヘテロ二量体抗体は、一価（例えば、可変重および可変軽ドメインの対などの单一抗原結合ドメインがある）または二価（それぞれが独立に抗原を結合する2つの抗原結合ドメインがある）のいずれかでこれらの標的抗原を結合し得る。本明細書に提供されるヘテロ二量体抗体は、以下により完全に概説されるように、ヘテロ二量体の形成をホモ二量体より「歪曲」させるアミノ酸置換を含み、以下に同様に概説されるように、ホモ二量体から離れたヘテロ二量体の単純な精製を可能にする「pI変異体」と共に結合される、異なる单量体を使用することに基づく。提供されるヘテロ二量体二重特異性抗体は、概して、ヘテロ二量体タンパク質を生成するために生成細胞において自己組織化し得る操作されたまたは変異体Fcドメインの使用、およびそのようなヘテロ二量体タンパク質を生成し精製する方法に依存する。

10

【0067】

C. 命名法

本発明の二重特異性抗体は、いくつかの異なる形式で列挙される。各ポリペプチドは、唯一の「XENP」番号で示されるが、当該技術分野で理解されるように、より長い配列がより短い配列を含み得る。例えば、所定の配列の栓抜き形式のscFv側单量体の重鎖は、第1のXENP番号を有する一方で、scFvドメインは、異なるXENP番号を有することになる。いくつかの分子は、3つのポリペプチドを有し、そのため、XENP番号は、構成要素と共に、名前として使用される。したがって、栓抜き形式にある分子XENP18087は、3つの配列、「XENP18087 HC-Fab」（図14A、名称「SSTR2 Fab-Fc重鎖」）、「XENP18087 HC-scFv」（図14B、名称「CD3 scFv-Fc重鎖」）および「XENP18087 LC」（図14A、名称「SSTR2軽鎖」）または等価物を含むが、当該技術分野の技術のうちの1つは、配列アラインメントを通してこれらを容易に特定することができるであろう。これらのXENP番号は、配列表、ならびに識別子中にあり、図中で使用される。さらに、3つの構成要素を含む1つの分子は、複数の配列識別子を引き起こす。例えば、Fab单量体の一覧は、全長配列、可変重配列、および可変重配列の3つのCDRを有し、軽鎖は、全長配列、可変軽配列、および可変軽配列の3つのCDRを有し、scFv-Fcsドメインは、全長配列、scFv配列、可変軽配列、3つの軽CDR、scFvリンカー、可変重配列、および3つの重CDRを有し、scFvドメインを有する本明細書のすべての分子が单一荷電scFvリンカー(+H)を使用することを留意されたいが、他のものも使用され得る。さらに、特定の可変ドメインの命名法は、特定の可変鎖配列に対して唯一の識別子である番号を有する「Hx.xx_ly.yy」型の形式を使用する。したがって、XENP18087のFab側の可変ドメインは、「H1.143_L1.30」であり、それは、可変重ドメイン、H1.143が軽ドメインL1.30と組み合わされたことを示す。これらの配列が、scFvとして使用される場合において、名称「H1.143_L1.30」は、可変重ドメイン、H1.143が、軽ドメイン、L1.30と組み合わされ、N末端からC末端へのvh-リンカー-vl方向付けにあることを示す。重および軽可変ドメインの同一の配列であるが、逆の順序の配列を有するこの分子は、「L1.30_H1.143」と名付けられる。同様に、異なる構築物は、配列表および図から明らかであるように、重および軽鎖を「ミックスアンドマッチ」し得る。

20

【0068】

D. 定義

本出願をより完全に理解し得るために、いくつかの定義を以下に示す。そのような定義は、文法的に等価であるものを包含することを意味する。

30

【0069】

40

50

本明細書において「消去」は、活性の低減または除去を意味する。したがって、例えば、「F c R結合を消去すること」は、特定の変異体を含まないF c領域と比較して、F c領域アミノ酸変異体が、出発結合の50%未満を有することを意味し、活性を70~80~90~95~98%喪失していることが好ましく、一般に、活性は、Biacore、SPR、またはBLIアッセイにおいて、検出可能な結合のレベルを下回る。F c R結合の消去において特定の使用には、概して両方の単量体に添加される図5に示されるものがある。

【0070】

本明細書で使用される「ADCC」または「抗体依存性細胞媒介細胞傷害性」は、細胞媒介反応であって、F c Rを発現する非特異的細胞傷害性細胞が、標的細胞上に結合された抗体を認識し、その後に標的細胞の溶解を引き起こすことを意味する。ADCCは、F c R I I I aに対する結合と相關しており、F c R I I I aに対する結合の増加は、ADCC活性の増加につながる。

10

【0071】

本明細書で使用される「ADCP」または抗体依存性細胞貪食は、細胞媒介反応であって、F c Rを発現する非特異的細胞傷害性細胞が、標的細胞上に結合された抗体を認識し、その後に標的細胞の貪食を引き起こすことを意味する。

【0072】

本明細書において「抗原結合ドメイン」または「ABD」は、ポリペプチド配列の一部として存在する場合に、本明細書に説明されるように標的抗原を特異的に結合する6つの相補性決定領域(CDR)のセットであることを意味する。したがって、「チェックポイント抗原結合ドメイン」は、本明細書に概説されるように標的チェックポイント抗原を結合する。当該技術分野で既知であるように、これらのCDRは、概して、可変重CDR(vhCDRまたはvhCDR)の第1のセットおよび可変軽CDR(v1CDRまたはVLCDR)の第2のセットとして存在し、それぞれ、重鎖にはvhCDR1、vhCDR2、およびvhCDR3、軽鎖にはv1CDR1、v1CDR2、およびv1CDR3の3つのCDRを含む。CDRは、それぞれ、可変重および可変軽ドメインに存在し、共にFv領域を形成する。(表1およびCDR番号付けスキームについての上記の関連する議論を参照されたい)。したがって、いくつかの場合において、抗原結合ドメインの6つのCDRは、可変重および可変軽ドメインによって寄与される。「Fab」形式において、6つのCDRのセットは、重鎖のCH1ドメインのN末端に結合されているvhドメインのC末端および定常軽ドメインのN末端に結合されているv1ドメインのC末端を有する、2つの異なるポリペプチド配列、可変重ドメイン(vhCDR1、vhCDR2、およびvhCDR3を含む、vhまたはVH)、および可変軽ドメイン(v1CDR1、v1CDR2、およびv1CDR3を含む、v1またはVL)によって寄与される(このようにして、軽鎖を形成する)。scFv形式において、vhおよびv1ドメインは、本明細書に概説されるように、概してリンカー(「scFvリンカー」)の使用を通して、単一ポリペプチド配列に共有結合され、それは、(N末端から出発する)vh-リンカー-v1またはv1-リンカー-vhのいずれかであり得、前者が概して好まれている(使用される形式に応じて、各側で任意のドメインリンカーを含む(例えば、図1から))。概して、scFvドメインのC末端は、第2の単量体においてヒンジのN末端に結合される。

20

30

40

【0073】

本明細書において「修飾」は、ポリペプチド配列における、アミノ酸の置換、挿入、および/もしくは欠失、またはタンパク質に化学的に連結された部分に対する変化を意味する。例えば、修飾は、変化された炭水化物またはタンパク質に結合されたPEG構造であつてもよい。本明細書において「アミノ酸修飾」は、ポリペプチド配列における、アミノ酸置換、挿入、および/または欠失を意味する。明確にするために、別段の記載がない限り、アミノ酸修飾は、常に、DNAによってコードされるアミノ酸に対するものであり、例えば、DNAおよびRNAにおいてコドンを有する20個のアミノ酸である。

【0074】

50

本明細書において「アミノ酸置換」または「置換」は、異なるアミノ酸を有する親ポリペプチド配列において特定の位置でのアミノ酸の置き換えを意味する。具体的には、いくつかの実施形態では、置換は、特定の位置で天然に発生しないアミノ酸に対するものであり、生物内において、または任意の生物において、いずれでも天然に発生しない。例えば、置換 E 2 7 2 Y は、変異体ポリペプチドを指し、この場合、位置 2 7 2 でグルタミン酸がチロシンで置き換えられている F c 変異体である。明確にするために、配列をコードする核酸を変化させるが、出発アミノ酸（例えば、交換 C G G（アルギニンをコードする）を C G A（さらにアルギニンをコードする）に交換し、宿主生物の発現レベルを増加させる）は変化しないように操作されているタンパク質は、「アミノ酸置換」ではなく、すなわち、同じタンパク質をコードする新しい遺伝子の創造にもかかわらず、タンパク質が、それが出発する特定の位置で同じアミノ酸を有する場合、それはアミノ酸置換ではない。

【 0 0 7 5 】

本明細書で使用される「アミノ酸置換」または「挿入」は、親ポリペプチド配列において特定の位置でのアミノ酸配列の追加を意味する。例えば、- 2 3 3 E または 2 3 3 E は、位置 2 3 3 の後かつ位置 2 3 4 の前でのグルタミン酸の挿入を指定する。さらに、- 2 3 3 A D E または A 2 3 3 A D E は、位置 2 3 3 の後かつ位置 2 3 4 の前での A l a A s p G 1 u の挿入を指定する。

【 0 0 7 6 】

本明細書で使用される「アミノ酸置換」または「欠失」は、親ポリペプチド配列において特定の位置でのアミノ酸配列の除去を意味する。例えば、E 2 3 3 - もしくは E 2 3 3 # 、E 2 3 3 () 、または E 2 3 3 d e 1 は、位置 2 3 3 でのグルタミン酸の欠失を指定する。さらに、E D A 2 3 3 - または E D A 2 3 3 # は、位置 2 3 3 から始まる配列 G 1 u A s p A 1 a の欠失を指定する。

【 0 0 7 7 】

本明細書で使用される「変異体タンパク質」もしくは「タンパク質変異体、または「変異体」は、少なくとも 1 つのアミノ酸修飾による親タンパク質のものとは異なるタンパク質を意味する。タンパク質変異体は、親タンパク質と比較して、少なくとも 1 つのアミノ酸修飾を有するが、依然としてそれほど多くはないため、変異体タンパク質は、以下に説明されるようなものなどのアラインメントプログラムを使用して親タンパク質と整列しないであろう。概して、変異体タンパク質（本明細書に概説される、変異体 F c ドメインなどは、概して、B L A S T などの、以下の説明されるアラインメントプログラムを使用して、親プロテインと少なくとも 7 5 、 8 0 、 8 5 、 9 0 、 9 1 、 9 2 、 9 3 、 9 4 、 9 5 、 9 6 、 9 7 、 9 8 、または 9 9 % 同一である。

【 0 0 7 8 】

以下に説明されるように、いくつかの実施形態において、親ポリペプチドは、例えば、F c 親ポリペプチドは、重定常ドメインまたは I g G 1 、 I g G 2 、 I g G 3 、もしくは I g G 4 からの F c 領域などのヒト野生型配列であるが、変異体を有するヒト配列はまた、「親ポリペプチド」として役立ち、例えば U S 公開 2 0 0 6 / 0 1 3 4 1 0 5 の I g G 1 / 2 ハイブリッドが含まれ得る。本明細書においてタンパク質変異体配列は、好ましくは、親タンパク質配列との比較で、少なくとも約 8 0 % の同一性、最も好ましくは、少なくとも約 9 0 % の同一性、より好ましくは、少なくとも 9 5 ~ 9 8 ~ 9 9 % の同一性を有する。したがって、本明細書で使用される「抗体変異体」または「変異体抗体」は、少なくとも 1 つのアミノ酸修飾による親抗体とは異なる抗体を意味し、本明細書で使用される「I g G 変異体」または「変異体 I g G 」は、少なくとも 1 つのアミノ酸修飾による親 I g G （さらに、多くの場合において、ヒト I g G 配列から）とは異なる抗体を意味し、本明細書で使用される「免疫グロブリン変異体」または「変異体免疫グロブリン」は、少なくとも 1 つのアミノ酸修飾による親免疫グロブリン配列のものとは異なる免疫グロブリン配列を意味する。本明細書で使用される「F c 変異体」または「変異体 F c 」は、ヒト I g G 1 、 I g G 2 、または I g G 4 の F c ドメインと比較した場合に、 F c 領域においてアミノ酸修飾を含むタンパク質を意味する。

10

20

30

40

50

【0079】

本発明のFc変異体は、それを構成するアミノ酸修飾に従って定義される。したがって、例えば、N434Sまたは434Sは、親Fcポリペプチドに対して、位置434で置換セリンを有するFc変異体であり、番号付けは、EUインデックスに従うものである。同様に、M428L/N434Sは、親Fcポリペプチドに対して、置換M428Lおよび置換N434Sを有するFc変異体を定義する。WTアミノ酸の同一性が、特定されていなくてもよく、その場合、先に記載した変異体は、428L/434Sと称される。置換が提供される規則は任意であることに留意されたい。つまり、例えば、N434S/M428Lは、M428L/N434Sと同一のFc変異体である等である。抗体に関連する、本発明において論じられるすべての位置について、別段の記載がない限り、アミノ酸位置の番号付けは、EUインデックスに従うものである。EUインデックスもしくはKabatにおけるEUインデックス、またはEU番号付けスキームは、EU抗体の番号付けを指す。Kabatらは、重鎖および軽鎖の可変領域の多数の一次配列を収集した。配列の保存の程度に基づいて、それらは個々の一次配列をCDRおよびフレームワークに分類し、それらの一覧を作製した（参照により全体に組み込まれる、SEQUENCES OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th edition, NIH publication, No. 91-3242, E.A.Kabat et al. を参照されたい）。また、参照により本明細書によって全体に組み込まれる、Edelman et al., 1969, Proc Natl Acad Sci USA 63: 78-85も参照されたい。修飾は、追加、欠失、または置換であり得る。

10

20

【0080】

本明細書において「タンパク質」は、少なくとも2つの共有結合されたアミノ酸を意味し、それは、タンパク質、ポリペプチド、オリゴペプチド、およびペプチドを含む。さらに、本発明の抗体を作るポリペプチドは、1つ以上の側鎖または末端の合成誘導体化、グリコシル化、PEG化、円順列、環化、他の分子に対するリンカー、タンパク質またはタンパク質ドメインに対する融合、およびペプチドタグまたは標識の追加を含み得る。

【0081】

本明細書で使用される「残基」は、タンパク質における位置およびその関連するアミノ酸同一性を意味する。例えば、アスパラギン297(Asn297またはN297とも称される)は、ヒト抗体IgG1における位置297の残基である。

30

【0082】

本明細書で使用される「Fab」または「Fab領域」は、概して2つの異なるポリペプチド鎖(例えば、一方の鎖上のVH-CH1および他方の鎖上のVL-CL)上の、VH、CH1、VL、およびCL免疫グロブリンドメインを含むポリペプチドを意味する。Fabは、単離においてこの領域を指すか、または本発明の二重特異性抗体の文脈においてこの領域を指し得る。Fabの文脈において、Fabは、CH1およびCLドメインに加えてFv領域を含む。

【0083】

本明細書で使用される「Fv」または「Fv断片」または「Fv領域」は、ABDのVLおよびVHドメインを含むポリペプチドを意味する。Fv領域は、Fab(上記に論じられるように、概して、上記に概説されるように定常領域も含む2つの異なるポリペプチド)およびscFvの両方として形式化され得、v1およびvhドメインは、scFvを形成するように組み合わされる(概して、本明細書で論じられるようなリンカーを伴う)。

40

【0084】

本明細書において「一本鎖Fv」または「scFv」は、概してscFvリンカーを使用して、scFvまたはscFvドメインを形成する、可変軽ドメインに共有結合された可変重ドメインを意味する。scFvドメインは、N末端からC末端へ(vh-リンカー-v1またはv1-リンカー-vh)のいずれかの方向付けであり得る。配列表および図に示される配列において、vhおよびv1ドメインの順序は、その名称において示されており、例えば、H.X_L.Yは、N末端からC末端へはvh-リンカー-v1であり、L

50

. Y - H . X は v l - リンカー - v h であることを意味する。

【 0 0 8 5 】

本明細書で使用される「IgGサブクラス修飾」または「アイソタイプ修飾」は、1つのIgGアイソタイプの1つのアミノ酸を、異なる、整列されたIgGアイソタイプにおいて対応するアミノ酸に変換するアミノ酸修飾を意味する。例えば、EU位置296に、IgG1は、チロシンを含み、IgG2は、フェニルアラニンを含むため、IgG2におけるF296Y置換は、IgGサブクラス改変であると考えられる。

【 0 0 8 6 】

本明細書で使用される「非天然型修飾」は、アイソタイプでないアミノ酸修飾を意味する。例えば、ヒトIgGのいずれも位置434でセリンを含まないため、IgG1、IgG2、IgG3、もしくはIgG4（またはそのハイブリッド）における置換434Sは、10 非天然型修飾であると考えられる。

【 0 0 8 7 】

本明細書で使用される「アミノ酸」および「アミノ酸同一性」は、DNAおよびRNAによってコードされる20個の天然型アミノ酸のうちの1つを意味する。

【 0 0 8 8 】

本明細書で使用される「エフェクター機能」は、抗体Fc領域のFc受容体またはリガンドとの相互作用に起因する生化学的事象を意味する。エフェクター機能は、これら限定されないが、ADCC、ADCP、およびCDCを含む。

【 0 0 8 9 】

本明細書で使用される「IgGFcリガンド」は、IgG抗体のFc領域に結合し、Fc / Fcリガンド複合体を形成する、任意の生物由来の分子、好ましくはポリペプチドを意味する。Fcリガンドには、限定はされないが、FcRI、FcRII、FcRIII、FcRIII、FcRn、C1q、C3、マンナン結合レクチン、マンノース受容体、ブドウ球菌プロテインA、ブドウ球菌プロテインG、およびウイルスFcRが含まれる。Fcリガンドはまた、Fc受容体ホモログ（FcRH）を含み、それは、FcRに対して相同性であるFc受容体のファミリーである（参照により全体に組み込まれる、Davis et al., 2002, Immunological Reviews 190: 123-136）。Fcリガンドには、Fcに結合する未発見分子を含まれてよい。特定のIgGFcリガンドは、FcRnおよびFcガンマ受容体である。本明細書で使用される「Fcリガンド」は、抗体のFc領域に結合し、Fc / Fcリガンド複合体を形成する、任意の生物由来の分子、好ましくはポリペプチドを意味する。20

【 0 0 9 0 】

本明細書で使用される「Fcガンマ受容体」、「FcR」、または「FcガンマR」は、IgG抗体Fc領域に結合するタンパク質のファミリーの任意のメンバーを意味し、FcR遺伝子によってコードされる。ヒトにおいては、このファミリーとしては、これらに限定されないが、アイソフォームFcRIa、アイソフォームFcRIb、およびアイソフォームFcRICを含むFcRI(CD64)、アイソフォームFcRIIa(アロタイプH131およびアロタイプR131を含む)、アイソフォームFcRIIb(FcRIIb-1およびFcRIIb-2を含む)、ならびにアイソフォームFcRICを含むFcRII(CD32)、ならびにアイソフォームFcRIIIa(アロタイプV158およびアロタイプF158を含む)、およびアイソフォームFcRIIIb(アロタイプFcRICIIb-NA1およびアロタイプFcRICIIb-NA2を含む)を含むFcRICII(CD16)(Jeffreis et al., 2002, Immunol Lett 82: 57-65の全体が、参照によって組み込まれる)、ならびに何らかの未発見のヒトFcRまたはFcRアイソフォームもしくはFcRアロタイプが挙げられる。FcRは、任意の生物由来であり得、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、およびサルを含むが、これらに限定されない。マウスFcRには、これらに限定されないが、FcRI(CD64)、FcRICII(CD32)、FcRICIII(CD16)、およびFcRICII-2(CD16-2)、ならびに任意の未4050

発見のマウス F c R または F c R アイソフォームもしくは F c R アロタイプが挙げられる。

【 0 0 9 1 】

本明細書で使用される「 F c R n 」または「新生児型 F c 受容体」は、 Ig G 抗体 F c 領域に結合するタンパク質を意味し、 F c R n 遺伝子によって少なくとも部分的にコードされる。 F c R n は、これらに限定されないが、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、およびサルを含む、任意の生物由来であってもよい。当該技術分野で既知であるように、機能性 F c R n タンパク質は、 2 つのポリペプチドを含み、重鎖および軽鎖と称されることが多い。軽鎖は、ベータ - 2 - ミクログロブリンであり、重鎖は、 F c R n 遺伝子によってコードされる。別段の記載がない限り、 F c R n または F c R n タンパク質は、 F c R n 重鎖のベータ - 2 - ミクログロブリンとの複合体を指す。様々な F c R n 変異体は、 F c R n 受容体への結合を増加させるため、いくつかの場合においては、血清半減期を増加させるために使用した。「 F c R n 変異体」は、 F c R n 受容体への結合を増加させるものであり、好適な F c R n 変異体は、以下に示される。

10

【 0 0 9 2 】

本明細書で使用される「親ポリペプチド」は、変異体を生成するように実質的に修飾されている出発ポリペプチドを意味する。親ポリペプチドは、天然型ポリペプチド、または変異体、または天然型ポリペプチドの操作された型であってもよい。したがって、本明細書で使用される「親免疫グロブリン」は、変異体を生成するように修飾されている非修飾免疫グロブリンポリペプチドを意味し、本明細書で使用される「親抗体」は、変異体抗体を生成するように修飾されている非修飾抗体を意味する。「親抗体」が、以下に概説されるように、既知の商用の、組換え的に産生された抗体を含むことに留意されるべきである。この文脈において、「親 F c ドメイン」は、列挙された変異体に関連し、したがって、「変異体ヒト Ig G 1 F c ドメイン」は、ヒト Ig G 1 の親 F c ドメインと比較され、「変異体ヒト Ig G 4 F c ドメイン」は、親ドメインヒト Ig G 4 などと比較される。

20

【 0 0 9 3 】

本明細書で使用される「 F c 」または「 F c 領域」または「 F c ドメイン」は、 Ig G 分子の C H 2 - C H 3 ドメインを含むポリペプチドを意味し、いくつかの場合において、ヒンジを含む。ヒト Ig G 1 の EU 番号付けにおいて、 C H 2 - C H 3 ドメインは、アミノ酸 231 ~ 447 を含み、ヒンジは 216 ~ 230 である。したがって、「 F c 領域」の定義は、アミノ酸 231 ~ 447 (C H 2 - C H 3) もしくは 216 ~ 447 (ヒンジ - C H 2 - C H 3) の両方、またはそれらの断片を含む。この文脈において、「 F c 断片」は、 N 末端および C 末端のいずれかまたは両方からより少ないアミノ酸を含み得るが、概してサイズに基づき、標準方法を使用して検出され得るように（例えば、非変性クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィーなど）、別の F c ドメインまたは F c 断片を有する二量体を形成する能力を依然として保持するヒト Ig G F c ドメインは、本発明において特に有用であり、ヒト Ig G 1 、 Ig G 2 、または Ig G 4 からの F c ドメインであり得る。

30

【 0 0 9 4 】

「変異体 F c ドメイン」は、親 F c ドメインと比較した場合、アミノ酸修飾を含む。したがって、「変異体ヒト Ig G 1 F c ドメイン」は、ヒト Ig G 1 F c ドメインと比較した場合、アミノ酸修飾（概してアミノ酸置換であるが、消去変異体の場合においては、アミノ酸欠失が含まれる）を含むものである。概して、変異体 F c ドメインは、対応する親ヒト Ig G F c ドメインと少なくとも約 80 、 85 、 90 、 95 、 97 、 98 、または 99 パーセントの同一性を有する（以下に議論される同一性アルゴリズムを使用し、一実施形態では、デフォルトのパラメータを使用して当該技術分野で既知の BLAST アルゴリズムを利用する）。代替的には、変異体 F c ドメインは、親 F c ドメインと比較した場合、 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 10 、 11 、 12 、 13 、 14 、 15 、 16 、 11 、 12 、 13 、 14 、 15 、 16 、 17 、 18 、 19 、または 20 個のアミノ酸修飾を有し得る。代替的には、変異体 F c ドメインは、親 F c ドメインと比較した場合、最

40

50

大1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個のアミノ酸修飾を有し得る。さらに、本明細書で議論されるように、本明細書において変異体Fcドメインは、非変性ゲル電気泳動法などの本明細書に説明されるような既知の技術を使用して測定した場合に、別のFcドメインを有する二量体を形成する能力を依然として保持する。

【0095】

本明細書において「重鎖定常領域」は、可変重ドメインを除く、抗体（またはその断片）のCH1-ヒンジ-CH2-CH3部分を意味し、ヒトIgG1のEU番号付けにおいて、これはアミノ酸118～447である本明細書において「重鎖定常断片」は、N末端およびC末端のいずれかまたは両方からのより少ないアミノ酸を含むが、別の重鎖定常領域を有する二量体を形成する能力を依然として保持する重鎖定常領域を意味する。
10

【0096】

本明細書で使用される「部分」は、タンパク質の配列において位置を意味する。位置は、連続して番号付けしてもよく、または確立された形式に従ってもよく、例えば、抗体の番号付けのためのEUインデックスに従ってもよい。

【0097】

本明細書で使用される「標的抗原」は、所定の抗体の可変領域を含む抗体結合ドメインによって特異的に結合される分子を意味する。以下に論じられるように、この場合において、標的抗原は、チェックポイント阻害剤タンパク質である。

【0098】

本明細書において本発明のヘテロ二量体抗体の単量体の文脈において「鎖性(strandness)」は、「適合」するDNAの2つの鎖(strand)と同様に、ヘテロ二量体化変異体が、「適合」してヘテロ二量体を形成する能力を保つように、それぞれの単量体へ組み込まれることを意味する。例えば、いくつかのpI変異体が、単量体Aへと操作されている（例えば、pIをより高くする）と、「電荷対」である立体変異体も利用することができ、pI変異体を妨害せず、例えば、pIをより高くする電荷変異体は、同じ「鎖」または同じ「単量体」に加えられ、両機能性を保持する。同様に、以下により完全に概説されるように組の対で起こる「歪曲」変異体については、当業者は、pI分離も歪曲のpIを使用して最大化されるように、1組の対を組み込む鎖または単量体のどれが機能するか決定するときにpIを考慮する。
20

【0099】

本明細書で使用される「標的細胞」は、標的抗原を発現する細胞を意味する。

【0100】

本明細書において本発明に従う二量体特異性抗体を產生する文脈において「宿主細胞」は、二量体特異性抗体の構成要素をコードする外因性核酸を含む細胞を意味し、好適な条件下で二量体特異性抗体を発現することが可能である。好適な宿主細胞は、以下に論じられる。

【0101】

本明細書で使用される「可変領域」または「可変ドメイン」は、カッパ、ラムダ、および重鎖免疫グロブリン遺伝子座を作るV_κ、V_λ、および/またはVH遺伝子のうちのいずれかによって実質的にコードされた1つ以上のIgドメインを含む免疫グロブリンの領域を意味し、抗原特異性を授与するCDRを含む。したがって、「可変重ドメイン」は、「可変軽ドメイン」と一対にし、抗原結合ドメイン（「ABD」）を形成する。さらに、各可変ドメインは、3つの超可変領域（「相補性決定領域」、「CDR」）（可変重ドメインへのvhCDR1、vhCDR2、およびvhCDR3、可変軽ドメインへのv1CDR1、v1CDR2、およびv1CDR3）と、以下の順序：FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4でアミノ末端からカルボキシ末端に整列される4つのフレームワーク（FR）領域とを含む。
40

【0102】

本明細書において「野生型またはWT」は、対立遺伝子変異を含む、天然に見出されるア

10

20

30

40

50

ミノ酸配列またはヌクレオチド配列を意味する。WTタンパク質は、意図的に修飾されていないアミノ酸配列またはヌクレオチド配列を有する。

【0103】

本発明は、ヒト抗体ドメインに対して配列同一性を有する多くの抗体ドメインを提供する。2つの類似の配列（例えば、抗体可変ドメイン）間の配列同一性は、Smith, T. F. & Waterman, M. S. (1981) "Comparison Of Biosequences," *Adv. Appl. Math.* 2: 482 [local homology algorithm], Needleman, S. B. & Wunsch, C.D. (1970) "A General Method Applicable To The Search For Similarities In The Amino Acid Sequence Of Two Proteins," *J. Mol. Biol.* 48: 443 [homology alignment algorithm], Pearson, W. R & Lipman, D. J. (1988) "Improved Tools For Biological Sequence Comparison," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 85: 2444 [search for similarity method]、またはAltschul, S. F. et al., (1990) "Basic Local Alignment Search Tool," *J. Mol. Biol.* 215: 403 - 10, the "BLAST" algorithm (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>を参照されたい)などのアルゴリズムによって測定され得る。前述のアルゴリズムのうちのいずれかを使用する場合、デフォルトパラメータ（ウィンドウ長さ、ギャップペナルティなどの）が使用される。一実施形態において、配列同一性は、デフォルトパラメータを使用するBLASTアルゴリズムを使用して行われる。

10

20

30

【0104】

本発明の抗体は、概して、単離されているか、または組換え体である。

「単離された」が、本明細書に開示される様々なポリペプチド説明するために使用されるとき、それが発現される細胞または細胞培養から、同定され、分離され、および／または回収されたポリペプチドを意味する。通常、単離されたポリペプチドは、少なくとも1つの精製ステップによって調製されることになる。「単離された抗体」は、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体を指す。「組換え体」は、外因性宿主細胞内で組換え核酸技術を使用して生成される抗体であり、それらもまた単離され得る。

30

【0105】

「特異的結合 (specific binding)」、または特定の抗原もしくはエピトープ「に特異的に結合する (specifically bind to)」、または特定の抗原もしくはエピトープ「に向けて特異的 (specific for)」は、非特異的相互作用とは、測定可能な程に異なる結合を意味する。特異的結合は、例えば、一般に、結合活性を有さない類似構造の分子である対照分子の結合と比較した分子の結合を決定することによって、測定できる。例えば、特異的結合は、標的に類似した対照分子との競合によって決定できる。

【0106】

特定の抗原またはエピトープの特異的結合は、例えば、少なくとも約10 - 4M、少なくとも約10 - 5M、少なくとも約10 - 6M、少なくとも約10 - 7M、少なくとも約10 - 8M、少なくとも約10 - 9M、代替的には少なくとも約10 - 10M、少なくとも約10 - 11M、少なくとも約10 - 12M、またはそれを超える抗原またはエピトープのKDを有する抗体によって示され得、KDは、特定の抗体 - 抗原相互作用の解離速度を指す。典型的には、抗原に特異的に結合する抗体は、抗原またはエピトープに対して、対照分子が、20倍～、50倍～、100倍～、500倍～、1000倍～、5,000倍～、10,000倍～、またはそれを超える倍数のKDを有することになる。

40

【0107】

また、特定の抗原またはエピトープに向けた特異的結合は、例えば、対照に対して、抗体

50

が、そのエピトープに向けて、少なくとも20倍～、50倍～、100倍～、500倍～、1000倍～、5,000倍～、10,000倍～、またはこれらを上回る倍数の、抗原またはエピトープに向けたKAまたはKaを有することによって示すことができ、KAまたはKaは、特定の抗体-抗原相互作用の会合速度を指す。結合親和性は、概して、Biacore、SPR、またはBLIアッセイを使用して測定される。

【0108】

E. 抗体

一態様において、SSTR2（例えば、抗SSTR2抗体）に結合する組成物が本明細書に提供される。特定の実施形態において、抗体は、ヒトSSTR2に結合する（図11）。主題の抗SSTR2抗体は、単一特異性SSTR2抗体、ならびに多特異性（例えば、二重特異性）抗SSTR2抗体を含む。特定の実施形態において、抗SSTR2抗体は、図1に示される抗体形式のうちのいずれか1つに従う形式を有する。

10

【0109】

いくつかの実施形態において、主題の組成物は、SSTR2結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、組成物は、SSTR2結合ドメインを有する抗体を含む。本明細書に提供される抗体は、1、2、3、4、および5個またはそれを超えるSSTR2結合ドメインを含む。特定の実施形態において、SSTR2結合ドメインは、図11に示されるものからなる群から選択されるSSTR2結合ドメインのvhCDR1、vhCDR2、vhCDR3、v1CDR1、v1CDR2、およびv1CDR3配列を含む。いくつかの実施形態において、SSTR2結合ドメインは、図11に示されるものから選択されるSSTR2結合ドメインの、下線が引かれたvhCDR1、vhCDR2、vhCDR3、v1CDR1、v1CDR2、およびv1CDR3配列を含む。いくつかの実施形態において、SSTR2結合ドメインは、図11に示されるものから選択されるSSTR2結合ドメインの可変重ドメインおよび可変軽ドメインを含む。図11に示されるSSTR2結合ドメインは、抗SSTR2_H1.143_L1.30、抗SSTR2_H1_L1.1、抗SSTR2_H1.107_L1.30、抗SSTR2_H1.107_L1.67、抗SSTR2_H1.107_L1.108、抗SSTR2_H1.107_L1.111、抗SSTR2_H1.107_L1.114、抗SSTR2_H1.107_L1.102、抗SSTR2_H1.107_L1.110、抗SSTR2_H1.125_L1.30、抗SSTR2_H1.125_L1.67、抗SSTR2_H1.125_L1.108、抗SSTR2_H1.125_L1.111、抗SSTR2_H1.125_L1.114、抗SSTR2_H1.125_L1.102、および抗SSTR2_H1.125_L1.10を含む。例示的な実施形態において、抗体は、抗SSTR2_H1.143_L1.30結合ドメインを含む。

20

【0110】

いくつかの実施形態において、抗体は、SSTR2およびCD3に結合する二重特性抗体を含む。そのような抗体は、CD3結合ドメインおよび少なくとも1つのSSTR2結合ドメインを含む。任意の好適なSSTR2結合ドメインは、抗SSTR2X抗CD3二重特異性抗体に含まれ得る。いくつかの実施形態において、抗SSTR2X抗CD3二重特異性抗体は、これらに限定されないが、図11に示されるものを含む、1、2、3、4個、またはそれを超えるSSTR2結合ドメインを含む。特定の実施形態において、抗SSTR2X抗CD3抗体は、図の図11に示されるものからなる群から選択されるSSTR2結合ドメインのvhCDR1、vhCDR2、vhCDR3、v1CDR1、v1CDR2、およびv1CDR3配列を含むSSTR2結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、抗SSTR2X抗CD3抗体は、図11に示されるものからなる群から選択されるSSTR2結合ドメインの、下線が引かれたvhCDR1、vhCDR2、vhCDR3、v1CDR1、v1CDR2、およびv1CDR3配列を含むSSTR2結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、抗SSTR2X抗CD3抗体は、図11に示されるものからなる群から選択されるSSTR2結合ドメインの可変重ドメインおよび可変軽ドメインを含むSSTR2結合ドメインを含む。例示的な実施形態において、抗S

30

40

50

S T R 2 X 抗 C D 3 抗体は、抗 S S T R 2 H 1 . 1 4 3 _ L 1 . 3 0 結合ドメインを含む。

【 0 1 1 1 】

本明細書に提供される抗 S S T R 2 X 抗 C D 3 抗体は、任意の好適な C D 3 結合ドメインを含み得る。特定の実施形態において、抗 S S T R 2 X 抗 C D 3 抗体は、図 1 2 および 1 3 に示されるものからなる群から選択される C D 3 結合ドメインの v h C D R 1 、 v h C D R 2 、 v h C D R 3 、 v 1 C D R 1 、 v 1 C D R 2 、および v 1 C D R 3 配列を含む C D 3 結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、抗 S S T R 2 X 抗 C D 3 抗体は、図 1 2 または 1 3 に示されるものからなる群から選択される C D 3 結合ドメインの、下線が引かれた v h C D R 1 、 v h C D R 2 、 v h C D R 3 、 v 1 C D R 1 、 v 1 C D R 2 、および v 1 C D R 3 配列を含む C D 3 結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、抗 S S T R 2 X 抗 C D 3 抗体は、図 1 2 または 1 3 に示されるものからなる群から選択される C D 3 結合ドメインの可変重ドメインおよび可変軽ドメインを含む C D 3 結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、C D 3 結合ドメインは、抗 C D 3 H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7 、抗 C D 3 H 1 . 3 2 _ L 1 . 4 7 、抗 C D 3 H 1 . 8 9 _ L 1 . 4 8 、抗 C D 3 H 1 . 9 0 _ L 1 . 4 7 、抗 C D 3 H 1 . 3 3 _ L 1 . 4 7 、および抗 C D 3 H 1 . 3 1 _ L 1 . 4 7 から選択される。
10

【 0 1 1 2 】

本明細書において使用されるように、用語「抗体」は、概して使用される。本発明においての用途を見出す抗体は、本明細書で説明されるような多くの形式で使用でき、伝統的な抗体、ならびに以下に説明される抗体の誘導体、断片、および模倣体を含む。
20

【 0 1 1 3 】

伝統的な抗体構造単位は、典型的には、四量体を含む。各四量体は、典型的には、ポリペプチド鎖の 2 つの同一対からなり、各対が、1 つの「軽」鎖（典型的には、約 2 5 k D a の分子量を有する）、および 1 つの「重」鎖（典型的には、約 5 0 ~ 7 0 k D a の分子量を有する）を有する。ヒト軽鎖は、カッパ軽鎖およびラムダ軽鎖として分類される。本発明は、I g G クラスを対象とし、I g G クラスは、これらに限定されないが、I g G 1 、 I g G 2 、 I g G 3 、および I g G 4 を含む、いくつかのサブクラスを有する。I g G 1 が、3 5 6 (D または E) および 3 5 8 (L または M) で多型を有する異なるアロタイプを有することに留意されるべきである。本明細書に示される配列は、3 5 6 D / 3 5 8 M アロタイプを使用するが、他のアロタイプが帆明細書に含まれる。すなわち、本明細書に含まれる I g G 1 F c ドメインを含む任意の配列は、3 5 6 D / 3 5 8 M アロタイプを置き換える 3 5 6 E / 3 5 8 L を有し得る。
30

【 0 1 1 4 】

さらに、本明細書の抗体の多くは、セリンによって置き換えられた位置 2 2 0 で少なくとも 1 つのシステインを有し、概して、これは、本明細書に示される配列のうちの大半の「 s c F v 単量体」側であるが、それはまた、「 F a b 単量体」側、または両方であり得、ジスルフィド形成を低減する。置き換えられたこれらのシステイン (C 2 2 0 S) のうちの 1 つまたは両方が、本明細書において配列内に特異的に含まれる。

【 0 1 1 5 】

したがって、本明細書では、「アイソタイプ」は、それら定常領域の化学的特性および抗原特性によって定義される免疫グロブリンのサブクラスのいずれかを意味する。治療用抗体が、アイソタイプおよび / またはサブクラスのハイブリッドも含み得ることを理解されるべきである。例えば、参照により組み込まれる、U S 公開 2 0 0 9 / 0 1 6 3 6 9 9 に示されるように、本発明は、ヒト I g G 1 / G 2 ハイブリッドの使用を含む。
40

【 0 1 1 6 】

超可変領域は、概して、軽鎖可変領域における約アミノ酸残基 2 4 ~ 3 4 (L C D R 1 、「 L 」は軽鎖を示す) 、 5 0 ~ 5 6 (L C D R 2) 、および 8 9 ~ 9 7 (L C D R 3) 、ならびに重鎖可変領域における約 3 1 ~ 3 5 B (H C D R 1 、「 H 」は重鎖を示す) 、 5 0 ~ 6 5 (H C D R 2) 、および 9 5 ~ 1 0 2 (H C D R 3) 前後 ; K a b a t e t a
50

1., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)、かつ／または超可変ループを形成するそれらの残基（例えば、軽鎖可変領域における残基26～32（LCDR1）、50～52（LCDR2）、および91～96（LCDR3）、ならびに重鎖可変領域における26～32（HCDR1）、53～55（HCDR2）、および96～101（HCDR3）；Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917からのアミノ酸残基を包含する。本発明の特定のCDRは、以下に説明される。

【0117】

当業者によって理解されるように、CDRの正確な番号付けおよび配置は、異なる番号付けシステムの間で異なり得る。しかしながら、可変重および／または可変軽配列の開示が、関連する（固有）CDRの開示を含むことを理解されるべきである。したがって、各可変重領域の開示は、vhCDR（例えば、vhCDR1、vhCDR2、およびvhCDR3）の開示であり、各可変軽領域の開示は、vlCDR（例えば、vlCDR1、vlCDR2、およびvlCDR3）の開示である。CDR番号付けの有用な比較は、以下のとおりであり、Lafrazen et al., Dev. Comp. Immunol. 27(1): 55-77 (2003)を参照されたい：

【表1】

	Kabat+ Chothia	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	接触 (Contact)	Xencor
vhCDR1	26-35	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35	27-35
vhCDR2	50-65	56-65	50-65	50-58	52-56	47-58	54-61
vhCDR3	95-102	105-117	95-102	95-102	95-102	93-101	103-116
vlCDR1	24-34	27-38	24-34	24-34	24-34	30-36	27-38

vlCDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-56	46-55	56-62
vlCDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	89-97	89-96	97-105

【0118】

本明細書を通して、可変ドメイン（およそ、軽鎖可変領域の残基1～107、および重鎖可変領域の残基1～113）における残基を指すときは、Kabat番号付けシステム、Fc領域についてはEU番号付けシステムが一般に使用される（例えば、Kabat et al., supra (1991)）。

【0119】

重鎖のIgドメインの別の型は、ヒンジ領域である。本明細書において「ヒンジ」または「ヒンジ領域」または「抗体ヒンジ領域」または「ヒンジドメイン」は、抗体の第1および第2の定常ドメインの間にアミノ酸を含む柔軟性のポリペプチドを意味する。構造的に、IgG CH1ドメインは、EU位置215で終了し、IgG CH2ドメインは、残基EU位置231から始まる。したがって、本明細書においてIgGについて、抗体ヒンジは、位置216(IgG1におけるE216)～位置230(IgG1におけるp230)を含むと定義され、番号付けは、Kabatにあるように、EUインデックスに従うものである。いくつかの場合において、「ヒンジ断片」が使用され、それは、ヒンジドメインのN末端およびC末端のいずれかまたは両方でより少ないアミノ酸を含む。本明細書に留意されるとおり、pI変異体は、ヒンジ領域においても作られ得る。

【0120】

10

20

30

40

50

軽鎖は、概して、2つのドメイン、可変軽ドメイン（Fv領域を形成する可変重ドメインと共に軽鎖CDRを含む）、および定常軽鎖領域（CLまたはCHと称されることが多い）を含む。

【0121】

以下に概説される、追加の置換への対象の別の領域は、Fc領域である。

【0122】

本発明は、多数の異なるCDRの組を提供する。この場合において、「完全なCDRのセット」は、3つの可変軽CDRおよび3つの可変重CDR、例えば、v1CDR1、v1CDR2、v1CDR3、vhCDR1、vhCDR2、およびvhCDR3を含む。これらは、それより大きな可変軽または可変重ドメインの一部であり得る。さらに、本明細書により完全に概説されるとおり、可変重および可変軽ドメインは、重および軽鎖が使用される場合（例えば、Fabが使用される場合）、別々のポリペプチド鎖上に、またはscFv配列の場合は単一ポリペプチド鎖上にあり得る。

10

【0123】

CDRは、抗体結合の形成に寄与し、またはより具体的には、抗体のエピトープ結合部位の形成に寄与する。「エピトープ」は、パラトープとして既知の、抗体分子の可変領域における特異性抗原結合部位と相互作用する決定基を指す。エピトープは、アミノ酸または糖側鎖などの分子の分類であり、通常、特定の構造特性、および特定の荷電特性を有する。单一抗原は、2つ以上のエピトープを有し得る。

20

【0124】

エピトープは、結合（エピトープの免疫優性構成要素とも称される）に直接的に含まれるアミノ酸残基と、特異的抗原結合ペプチドによって有効に阻止されるアミノ酸残基などの結合に直接的に含まれない他のアミノ酸残基とを含み得、言い換えると、アミノ酸残基は、特異的抗原結合ペプチドのフットプリント内にある。

30

【0125】

エピトープは、立体構造的、または直線的のいずれかであってもよい。立体構造的エピトープは、空間的に並置されたアミノ酸によって、直線的ポリペプチド鎖の異なるセグメントから產生される。直線的エピトープは、ポリペプチド鎖における隣接アミノ酸残基によって產生されるものである。立体構造的および非立体構造的エピトープは、前者に対する結合であって、後者に対するものではない結合が、変性溶媒の存在下で消失するという点で区別され得る。

30

【0126】

エピトープは、特有の空間的立体構造において、典型的には少なくとも3個のアミノ酸を含み、より典型的には、少なくとも5または8～10個のアミノ酸を含む。同一エピトープを認識する抗体は、1つの抗体が、標的抗原に対する別の抗体の結合を遮断する能力を示す単純なイムノアッセイにおいて検証でき、例えば、「ビニング（binning）」である。以下に概説されるように、本発明は、本明細書の列挙された抗原結合ドメインおよび抗体を含むだけでなく、列挙された抗原結合ドメインによって結合されているエピトープと結合することを競うものも含む。

40

【0127】

したがって、本発明は、異なる抗体ドメインを提供する。本明細書で説明され、当該技術分野で既知であるように、本発明のヘテロ二量体抗体は、重鎖および軽鎖内に異なるドメインを含み、そのドメインはまた、重複し得る。これらのドメインとしては、これらに限定されないが、Fcドメイン、CH1ドメイン、CH2ドメイン、CH3ドメイン、ヒンジドメイン、重定常ドメイン（CH1-ヒンジ-FcドメインまたはCH1-ヒンジ-CH2-CH3）、可変重ドメイン、可変軽ドメイン、軽定常ドメイン、Fabドメイン、およびscFvドメインが挙げられる。

40

【0128】

したがって、「Fcドメイン」は、-CH2-CH3ドメイン、任意に、ヒンジドメイン（-H-CH2-CH3）を含む。本明細書の実施形態において、scFvがFcドメイ

50

ンに結合されるとき、それは、F c ドメインのヒンジのすべてまたは一部に結合されている s c F v 構築物のC末端であり、例えば、ヒンジの開始である配列E P K Sに概して結合されている。重鎖は、可変重ドメインおよび定常ドメインを含み、C H 2 - C H 3 を含むC H 1 - 任意のヒンジ - F c ドメインを含む。軽鎖は、可変軽鎖および軽定常ドメインを含む。s c F v は、可変重鎖、s c F v リンカー、および可変軽ドメインを含む。本明細書に概説される構築物および配列の大半において、可変重鎖のC末端は、s c F v リンカーのN末端に結合されており、そのC末端は、可変軽鎖(N - v h - リンカー - v l - C)のN末端に結合されているが、それは切り替えられ得る(N - v l - リンカー - v h - C)。

【0129】

10

本発明のいくつかの実施形態は、天然に発生しないが、概して、s c F v リンカーによって一緒に連結される可変重ドメインおよび可変軽ドメインを含む少なくとも1つのs c F v ドメインを含む。本明細書に概説されるように、s c F v ドメインは、概して、v h - s c F v リンカー - v l としてN末端からC末端へ方向付けされているが、これは、形式に応じて一方または両方の端で任意のリンカーを伴って、s c F v ドメイン(またはF a b からv h およびv l 配列を使用して構築されたもの)のうちのいずれかに関しても、v l - s c F v リンカー - v h へ逆転され得る(概して図1を参照されたい)。

【0130】

本明細書に示されるように、組換え技術によって生成された、伝統的なペプチド結合を含む、列挙されたドメインに共有結合するために使用され得る多くの好適なリンカー(ドメインリンカーまたはs c F v リンカーのいずれかとしての使用への)がある。いくつかの実施形態において、リンカーペプチドは、以下のアミノ酸残基: G l y 、S e r 、A l a 、またはT h r を優entiallyに含み得る。リンカーペプチドは、2つの分子を連結するために適切な長さを有するべきであり、そのようにして、それらは、お互いに対し正しい立体構造をとり、その結果、それらは、望ましい活性を保持する。一実施形態において、リンカーは、長さが、約1～50個のアミノ酸、好ましくは、長さが、約1～30個のアミノ酸である。一実施形態において、長さが1～20個のアミノ酸のリンカーは、いくつかの実施形態において用途を見出す約5～約10個のアミノ酸と共に使用されてもよい。有用なリンカーは、例えば、(G S)_n、(G S G G S)_n、(G G G G S)_n、および(G G G S)_nを含む、グリシン-セリン重合体を含み、nは、少なくとも1(かつ概して3～4)の整数であり、グリシン-アラニン重合体、アラニン-セリン重合体、および他の柔軟性リンカーを含む。代替的には、これらに限定されないが、ポリエチレングリコール(P E G)、ポリプロピレングリコール、ポリオキシアルキレン、またはポリエチレングリコールおよびポリプロピレングリコールの共重合体を含む、様々な非タンパク質性重合体は、リンカーとして用途を見出され得る。

20

【0131】

30

他のリンカー配列は、C L / C H 1 ドメインのすべての残基ではないが、C L / C H 1 ドメインの任意の長さの任意の配列、例えば、C L / C H 1 ドメインの最初の5～12個のアミノ酸残基を含み得る。リンカーは、免疫グロブリン軽鎖由来であり得、例えば、C またはC μ である。リンカーは、例えば、C 1 、C 2 、C 3 、C 4 、C 1 、C 2 、C 、C 、およびC μ が含む、任意のアイソタイプの免疫グロブリン重鎖由来であり得る。リンカー配列はまた、I g 様タンパク質(例えば、T C R 、F c R 、K I R)、ヒンジ領域由来の配列、および他のタンパク質由来の他の天然の配列などの他のタンパク質由来であってもよい。

40

【0132】

いくつかの実施形態では、リンカーは、本明細書と一緒に概要が記載されるあらゆる2つのドメインを連結させるために使用される「ドメインリンカー」である。例えば、図1Fにおいて、s c F v のC末端をC H 2 ドメインに結合している別の任意のドメインリンカーを伴って、F a b のC H 1 ドメインのC末端をs c F v のN末端に結合するドメインリンカーがあり得る(しかし、多くの実施形態において、ヒンジは、このドメインリンカー

50

として使用される)。いずれの好適なリンカーも使用され得る一方で、多くの実施形態は、例えば、(G S)_n、(G S G G S)_n、(G G G G S)_n、および(G G G S)_nを含む、ドメインリンカーとしてグリシン-セリン重合体を利用し、nは、少なくとも1(かつ概して3~4~5)の整数、ならびに各ドメインがその生物学的機能を保持することを可能にするのに十分な長さおよび柔軟性を有する2つのドメインの組換え結合を可能にする任意のペプチド配列である。いくつかの場合において、以下に概説されるように、「鎖性」に注目すると、s c F v リンカーのいくつかの実施形態において使用されるよう、荷電ドメインリンカーは使用され得る。

【0133】

いくつかの実施形態において、リンカーは、s c F v リンカーであり、本明細書に論じられるようにv hおよびv l ドメインに共有結合するために使用され得る。多くの場合において、s c F v リンカーは、荷電 s c F v リンカーであり、多くのそれらは図7に示される。したがって、本発明は、第1の単量体と第2の単量体との間でp Iにおける分離を容易にするために荷電 s c F v リンカーをさらに提供する。すなわち、荷電 s c F v リンカーを組み込むことによって、正であっても、負であっても(あるいは異なる単量体上でs c F v を使用する骨格の場合は両方)、これは、荷電リンカーを含む単量体が、F c ドメインにおいてさらなる変化をすることなくp Iを変えることを可能にする。これらの荷電リンカーは、標準リンカーを含む任意のs c F v に置換され得る。かさねて、当業者によつて理解されるように、荷電 s c F v リンカーは、p Iにおける望ましい変化に従つて、正しい「鎖」または単量体上に使用される。例えば、本明細書で論じられるように、三重F形式のヘテロ二量体抗体を作製するために、望ましい抗原結合ドメインの各々についてのF v 領域の初期のp Iは計算され、1つがs c F v を作製するために選択され、p Iに応じて、正または負のリンカーのいずれかが選択される。

10

【0134】

荷電ドメインリンカーはまた、本発明の単量体のp I分離を増加するためにも使用され得、したがって、図7に含まれるものは、リンカーが利用される本明細書の任意の実施形態において使用され得る。

20

【0135】

具体的には、図1に示される形式は抗体であり、通常、「ヘテロ二量体抗体」と称され、タンパク質が、ヘテロ二量体F c ドメインに自己組織化した少なくとも2つの関連するF c 配列、および少なくとも2つのF v 領域を、F a bとしてかまたはs c F v としてかにかかわらず有することを意味する。

30

【0136】

F. キメラおよびヒト化抗体

特定の実施形態において、本発明の抗体は、特定の生殖細胞系重鎖免疫グロブリン遺伝子からの重鎖可変領域および/または特定の生殖細胞系軽鎖免疫グロブリン遺伝子からの軽鎖可変領域を含む。例えば、そのような抗体は、特定の生殖細胞系配列「の産生物」またはそれ「に由来する」重鎖可変領域または軽鎖可変領域を含むヒト抗体を含み得るか、またはそれらからなり得る。ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列「の産生物」またはそれ「に由来する」ヒト抗体は、ヒト抗体のアミノ酸配列をヒト殖細胞系免疫グロブリンのアミノ酸配列と比較することと、ヒト抗体の配列に対して配列において最も近い(すなわち、最良%の同一性)ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列を選択することによるものとして特定され得る(本明細書に概説される方法を使用して)。特定のヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列「の産生物」またはそれ「に由来する」ヒト抗体は、例えば、天然型体細胞突然変異または部位指示された変異の意図的導入に起因して、生殖細胞系配列と比較した場合にアミノ酸の差異を含み得る。しかしながら、ヒト化抗体は、典型的には、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列とアミノ酸配列において少なくとも90%同一であり、他の種(例えば、マウス生殖細胞系列配列)の生殖細胞系免疫グロブリンアミノ酸配列と比較したときに、ヒト配列に由来しているような抗体を特定するアミノ酸残基を含む。特定の場合において、ヒト化抗体は、生殖細胞系免疫グロブリ

40

50

ン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列とアミノ酸配列において少なくとも 95%、96%、97%、98%、もしくは 99%、またはさらに少なくとも 96%、97%、98%、もしくは 99% 同一であり得る。典型的には、特定のヒト生殖細胞系配列に由来するヒト化抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列から 10 ~ 20 個以下のアミノ酸の差異を示すであろう（本明細書の任意の歪曲、pI、および消去変異体の導入の前、すなわち、本発明の変異体の導入の前に、変異体の数が、概して低い）。特定の場合において、ヒト化抗体は、生殖細胞系免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列から 5 個以下、またはさらに 4、3、2、もしくは 1 個以下のアミノ酸の差異を示し得る（かさねて、本明細書の任意の歪曲、pI、および消去変異体の導入の前、すなわち、本発明の変異体の導入の前に、変異体の数が、概して低い）。

10

【0137】

一実施形態において、親抗体は、親和性が成熟しており、当該技術分野で既知のとおりである。構造に基づく方法は、例えば、USSN11/004, 590 に記載されているように、ヒト化および親和性の成熟に用いられてもよい。選択に基づく方法は、これらに限定されないが、参照によりすべてが全体的に組み込まれる、Wu et al., 1999, J. Mol. Biol. 294: 151 - 162、Baca et al., 1997, J. Biol. Chem. 272(16): 10678 - 10684、Rosok et al., 1996, J. Biol. Chem. 271(37): 22611 - 22618、Rader et al., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 8910 - 8915、Krauss et al., 2003, Protein Engineering 16(10): 753 - 759 に記載されている方法を含む、ヒト化および / または親和性成熟抗体可変領域に用いられ得る。他のヒト化方法は、これらに限定されないが、参照によりすべてが全体的に組み込まれる、USSN09/810, 510、Tan et al., 2002, J. Immunol. 169: 1119 - 1125、De Pascalis et al., 2002, J. Immunol. 169: 3076 - 3084 に記載されている方法を含む、CDR の部分のみの移植を含み得る。

20

【0138】

G. ヘテロ二量体抗体

したがって、いくつかの実施形態において、主題の抗体は、2 つの異なる鎖変異体 Fc 配列の使用に依存するヘテロ二量体抗体である。そのような抗体は、ヘテロ二量体 Fc ドメインおよびヘテロ二量体抗体を形成するために自己組織化するであろう。

30

【0139】

本発明は、2 つ以上の抗原またはリガンドに結合することを可能にする、例えば、二重特異的結合（例えば、抗 SSTR2 および抗 CD3 結合）を可能にするヘテロ二量体抗体を提供するための新規の構築物を対象とする。ヘテロ二量体抗体構築物は、抗体の重鎖の 2 つの Fc ドメイン、例えば、「二量体」に組織化する 2 つの「単量体」の自己組織化の性質に基づく。ヘテロ二量体抗体は、以下により完全に論じられるように各単量体のアミノ酸配列を変えることによって作製される。したがって、本発明は、概して、いくつかの方法で、抗原（例えば、SSTR2 および CD3）を共結合できるヘテロ二量体抗体の創出を対象とし、それぞれの鎖で異なる定常領域のアミノ酸変異体に依存することで、ヘテロ二量体形成の促進し、および / またはホモ二量体を上回るヘテロ二量体の精製の容易化を可能にする。

40

【0140】

したがって、本発明は、二重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、SSTR2 結合ドメインを含む二重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、二重特異性抗体は、抗 SSTR2 × 抗 CD3 二重特異性抗体である。抗体技術における継続問題は、2 つの異なる抗原に同時に結合し、概して、そのようにして、異なる抗原を近接させることを可能にし、新しい機能性および新しい治療をもたらす「二重特異性」抗体への望みである。概して、これらの抗体は、重鎖および軽鎖それぞれの遺伝子を宿主細胞へと含めることによって作られる。これにより、概して、望ましいヘテロ二量体

50

(A - B)、ならびに2つのホモ二量体(A - AおよびB - B(軽鎖ヘテロ二量体の問題を含まない))の形成がもたらされる。しかしながら、二重特異性抗体の形成における主な障壁は、ホモ二量体から離れたヘテロ二量体抗体を精製することおよび/またはホモ二量体の形成を上回るヘテロ二量体の形成を偏らせることの困難さである。

【0141】

本発明のヘテロ二量体を生成するために使用され得る多くの機構が存在する。さらに、当業者によって理解されるように、これらの機構は、高いヘテロ二量体化を確実にするために組み合わされ得る。したがって、ヘテロ二量体の產生につながるアミノ酸変異体は、「ヘテロ二量体化変異体」と称される。以下に論じられるように、ヘテロ二量体化変異体は、立体変異体(例えば、以下に説明される「ノブアンドホール」または「歪曲」変異体、および以下に説明される「荷電対」変異体)、ならびにヘテロ二量体から離れたホモ二量体の精製を可能にする「pI変異体」を含み得る。WO 2014 / 145806に概して記載されており、その全体において参照により本明細書によって組み込まれ、特に「ヘテロ二量体化変異体」の議論について以下にあるように、ヘテロ二量体化に有用な機構としては、「ノブアンドホール」(「KIH」、時に本明細書では「歪曲」変異体として(WO 2014 / 145806の議論参照)、WO 2014 / 145806に記載されている「静電操縦」または「電荷対」、WO 2014 / 145806に記載されているpI変異体、ならびにWO 2014 / 145806および以下に概説される一般的な追加のFc変異体が挙げられる。

10

【0142】

本発明には、ヘテロ二量体抗体の精製を容易化できるいくつかの基礎的な機構が存在し、1つは、各单量体が異なるpIを有するようにpI変異体の使用に依存し、そうすることで、A - A二量体タンパク質、A - B二量体タンパク質、およびB - B二量体タンパク質の等電点精製を可能にする。代替的には、「三重F」形式などのいくつかの骨格形式はまた、サイズに基づいて分離も可能にする。以下にさらに概説されるとおり、ホモ二量体を上回るヘテロ二量体の形成を「歪曲」することも可能である。したがって、立体二量体化変異体、およびpI変異体または電荷対変異体の組み合わせは、本発明において、特定の用途を見出す。

20

【0143】

概して、本発明における特定の使用の実施形態は、歪曲変異体を含む変異体のセットに依存し、それは、pI変異体で結合された、ホモ二量体化形成を上回るヘテロ二量体化形成を促進し、それは、2つの单量体の間のpIの差異を増加させて、ホモ二量体から離れたヘテロ二量体の精製を容易にする。

30

【0144】

さらに、以下により完全に概説されるとおり、ヘテロ二量体抗体の形式に応じて、pI変異体は、单量体の定常および/またはFcドメインのいずれかの内に含まれ得るか、あるいはドメインリンカーまたはscFvリンカーのいずれかである荷電リンカーが使用され得る。すなわち、三重F、または「栓抜き」形式などのscFv(複数可)を利用する骨格は、精製の目的のためにさらなるpIブーストを与える荷電scFvリンカー(正または負のいずれか)を含み得る。当業者によって理解されるとおり、いくつかの三重F形式は、荷電scFvリンカーハのみで、追加のpI調整無しでも有用であるが、本発明は、单量体のうちの1つまたは両方にあるpI変異体、および/または荷電ドメインリンカーも提供する。さらに、代替機能性のために操作する追加のアミノ酸はまた、Fc、FcRn、およびKO変異体などのpIの変化を与え得る。

40

【0145】

ヘテロ二量体タンパク質の精製を可能にする分離機構としてpIを利用する本発明において、アミノ酸変異体は、单量体ポリペプチドの1つまたは両方に導入され得、すなわち、单量体のうちの1つのpI(本明細書において簡略化のために、「单量体A」と称される)は、单量体Bから離れて操作され得るか、または单量体AおよびBの両方の変化は、单量体AのpIが増加し、单量体BのpIが減少する状態で変化され得る。以下に、より完

50

全に概説されるように、単量体のいずれかまたは両方の p I の変化は、荷電残基を除去もしくは追加（例えば、中性アミノ酸は、正または負に荷電したアミノ酸残基によって置き換えられ、例えば、グリシンからグルタミン酸への置き換えである）するか、荷電残基を正もしくは負から反対の電荷へと変化（アスパラギン酸からリジンへ）するか、または荷電残基を中性残基へと変化（例えば、リジンからセリンへであり、これにより荷電が消失する）することによって行われ得る。多くのこれらの変異体は、図に示される。

【 0 1 4 6 】

したがって、本発明のこの実施形態は、ヘテロ二量体がホモ二量体から分離され得るように単量体のうちの少なくとも 1 つにおいて p I における十分な変化を創出することを提供する。当業者によって理解されるように、および以下にさらに論じられるように、これは、その p I を増加または減少のいずれかをさせるように操作されている「野生型」重鎖定常領域を使用すること（w t A - + B または w t A - - B ）によって、または一方の領域を増加し、他方の領域を減少させること（A + - B - または A - B + ）によって行われ得る。

10

【 0 1 4 7 】

したがって、概して、本発明のいくつかの実施形態の構成要素は、アミノ酸置換（「 p I 変異体」または「 p I 置換」）を単量体のうちの 1 つまたは両方に組み込むことによって、二量体タンパク質の単量体のうち、両方ではない場合、少なくとも 1 つの等電点（ p I ）を変化させて、「 p I 抗体」を形成するように指示された抗体の定常領域におけるアミノ酸変異体である。本明細書で示されるように、2 つのホモ二量体からのヘテロ二量体の分離は、2 つの単量体の p I が、わずか 0 . 1 pH 単位でも異なれば達成され得、0 . 2 、0 . 3 、0 . 4 、および 0 . 5 、またはそれを超える差異はすべて本発明において用途を見出す。

20

【 0 1 4 8 】

当業者によって理解されるように、良好な分離を得るためにそれぞれまたは両方の単量体に含まれる p I 変異体の数は、構成要素の出発 p I 、例えば、三重 F 形式で、対象の s c F v および F a b の出発 p I に依存する部分があるであろう。すなわち、どの単量体を操作するか、またはどの「方向」（例えば、より正またはより負）にするかを決定するために、2 つの標的抗原の F v 配列が計算され、そこから決定が行われる。当該技術分野で既知であるように、異なる F v は、本発明で活用される異なる出発 p I を有する。概して、本明細書に概説されるように、 p I が操作されることにより、それぞれの単量体で、少なくとも約 0 . 1 1 0 g の総 p I 差異がもたらされ、本明細書に概説されるように当該総 p I 差異は、0 . 2 ~ 0 . 5 であることが好ましい。

30

【 0 1 4 9 】

さらに、当業者によって理解されるように、本明細書に概説されるように、いくつかの実施形態において、ヘテロ二量体は、サイズに基づいてホモ二量体から分離され得る。例えば図 1 に示されるように、形式のいくつかは、サイズに基づいてヘテロ二量体およびホモ二量体の分離を可能にする。

【 0 1 5 0 】

p I 変異体が、重鎖（複数可）の定常領域（複数可）を使用することによって、二量体化を達成するために使用される場合において、抗体を含む二重特異性タンパク質の設計および精製に対する、よりモジュール型の手法が提供される。したがって、いくつかの実施形態において、ヘテロ二量体化変異体（歪曲ヘテロ二量体化変異体および精製ヘテロ二量体化変異体を含む）は、それぞれの個々の抗体が操作されなければならないために可変領域に含まれていない。さらに、いくつかの実施形態において、 p I 変異体からもたらされる免疫原性の可能性は、 p I が著しい免疫原性を導入することなく変化されるように異なる Ig G アイソタイプ由来の p I 変異体を移入することによって、著しく低減される。したがって、解決すべき追加の問題は、ヒト配列含量が高い低 p I 定常ドメインの解明であり、例えば、任意の特定位置における非ヒト残基の最小化または回避である。

40

【 0 1 5 1 】

50

この p I 操作で起こり得る付帯利点は、血清半減期の延長および F c R n 結合の増加である。すなわち、U S S N 1 3 / 1 9 4 , 9 0 4 に記載されているように（その全体において参照により組み込まれる）、抗体定常ドメイン（抗体および F c 融合体においてみられるものを含む）の p I を低下させることは、インビボでより長期の血清保持をもたらし得る。血清半減期の増加には、これらの p I 変異体は、精製のための p I の変化も容易にする。

【 0 1 5 2 】

さらに、ホモ二量体が存在する場合に、排除、最小化、および区別するいずれかの能力が顕著であるため、ヘテロ二量体化変異体の p I 変異体が、二重特異性抗体の分析論および品質管理工程のための追加の利点をもたらすことに留意されるべきである。同様に、ヘテロ二量体抗体産生の再現性を確実に試験する能力が重要である。10

【 0 1 5 3 】

ヘテロ二量体化変異体

本発明は、ホモ二量体から離れたヘテロ二量体形成および／または精製を可能にするためにヘテロ二量体変異体を利用する様々な形式でヘテロ二量体抗体を含む、ヘテロ二量体タンパク質を提供する。

【 0 1 5 4 】

多くの好適なヘテロ二量体化歪曲変異体のセットの対がある。これらの変異体は、「セット」の「対」で起こる。すなわち、対の一方のセットは、第 1 の単量体に組み込まれ、対の他方のセットは、第 2 の単量体に組み込まれる。これらのセットは、一方の単量体上の残基と他方の単量体上の残基との間の 1 対 1 の対応を有する「ノブインホール」変異体として必ずしも作用せず、すなわち、これらの対のセットは、ヘテロ二量体形成を促進し、ホモ二量体形成を防止する 2 つの単量体の間で境界面を形成し、生物学的条件下で自発的に形成するヘテロ二量体の百分率が、予想された 5 0 % よりもむしろ 9 0 % を超えることを可能にする（2 5 % のホモ二量体 A / A : 5 0 % のヘテロ二量体 A / B : 2 5 % のホモ二量体 B / B ）ことに留意されるべきである。20

【 0 1 5 5 】

立体変異体

いくつかの実施形態において、ヘテロ二量体の形成は、立体変異体の追加によって容易にされ得る。すなわち、それぞれの重鎖におけるアミノ酸を変化させることによって、異なる重鎖が、同じ F c アミノ酸配列を有するホモ二量体を形成するよりも、ヘテロ二量体構造を形成することに関連する可能性が高くなる。好適な立体変異体は、図 1 2 に含まれる。30

【 0 1 5 6 】

1 つの機構は、概して、当該技術分野において「ノブアンドホール」と称され、有利なヘテロ二量体形成に対して立体影響を作り出すアミノ酸操作を指し、不利なホモ二量体形成はまた、任意に使用され得、これは、U S S N 6 1 / 5 9 6 , 8 4 6 、R i d g w a y e t a l . , P r o t e i n E n g i n e e r i n g 9 (7) : 6 1 7 (1 9 9 6) 、A t w e l l e t a l . , J . M o l . B i o l . 1 9 9 7 2 7 0 : 2 6 、米国特許第 8 , 2 1 6 , 8 0 5 号に記載されているように、時に、「ノブアンドホール」と称され、それらのすべてが、それらの全体において参考により本明細書によって組み込まれる。図によって「ノブアンドホール」に依存する多くの「単量体 A - 単量体 B 」の対が特定されている。さらに、M e r c h a n t e t a l . , N a t u r e B i o t e c h . 1 6 : 6 7 7 (1 9 9 8) に記載されているように、これらの「ノブアンドホール」変異は、ジスルフィド結合と組み合わされて、ヘテロ二量体化への形成を歪曲し得る。40

【 0 1 5 7 】

ヘテロ二量体の生成において用途を見出す追加の機構は、G u n a s e k a r a n e t a l . , J . B i o l . C h e m . 2 8 5 (2 5) : 1 9 6 3 7 (2 0 1 0) に記載されているように、時に、「静電ステアリング（e l e c t r o s t a t i c s t e e r i n g ）」と称され、その全体において参考により本明細書によって組み込まれる。これは、時に本明細書で「電荷対」と称されることがある。この実施形態では、静電気が、形成

をヘテロ二量体化へと歪曲するために使用される。当業者であれば、これらは、p Iに対しても効果を有し得、そうすることで、精製に対しても影響を有し得、したがって、場合によっては、p I変異体であり得るとも考えられることを理解されるであろう。しかしながら、これらは、ヘテロ二量体化を押し進めるために生成され、精製手段としては使用されなかつたため、それらは、「立体変異体」として分類される。これらは、これらに限定されないが、D 2 2 1 R / P 2 2 8 R / K 4 0 9 R と対であるD 2 2 1 E / P 2 2 8 E / L 3 6 8 E (例えば、これらは、「単量体が対応するセットである) およびC 2 2 0 R / E 2 2 4 R / P 2 2 8 R / K 4 0 9 R と対であるC 2 2 0 E / P 2 2 8 E / 3 6 8 E を含む。

【0158】

10

追加の単量体 A 変異体、および単量体 B 変異体を、本明細書に概要が記載される p I 変異体または、U S 2 0 1 2 / 0 1 4 9 8 7 6 の図 3 7 に示される他の立体変異体などの他の変異体と、任意にかつ独立して、任意の量で、組み合わせることができ、それらの図および説明文ならびに配列番号が、参照により本明細書に明確に組み込まれる。

【0159】

いくつかの実施形態では、本明細書に概要が記載される立体変異体を、何らかの p I 変異体 (または F c 変異体、F c R n 変異体等の他の変異体) と共に 1 つまたは両方の単量体へ、任意選択かつ独立して、組み込むことができ、本発明のタンパク質を独立かつ任意選択で含む、または当該タンパク質から除外することができる。

【0160】

20

好適な歪曲変異体の一覧は、図 3 に見出され、併せて図 8 は、多くの実施形態において特定の利用性のいくつかの対を示す。多くの実施形態において特定の使用には、これらに限定されないが、S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S, L 3 6 8 D / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K, L 3 6 8 E / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K, T 4 1 1 T / E 3 6 0 E / Q 3 6 2 E : D 4 0 1 K, L 3 6 8 D / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K / E 3 5 7 L、およびK 3 7 0 S : S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q を含むセットの対がある。命名法の用語において、対「S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S」は、単量体のうちの一方が、二重変異体セット S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q を有し、他方が、二重変異体セット L 3 6 8 D / K 3 7 0 S を有することを意味する。

【0161】

30

ヘテロ二量体の p I (等電点) 変異体

概して、当業者に理解されるように、p I 変異体の 2 つの一般的な分類があり、タンパク質の p I を増加させるもの (塩基性の変化) およびタンパク質の p I を減少させるものである (酸性の変化) である。本明細書に説明されるように、これらの変異体のすべての組み合わせが行われ得、一方の単量体は、野生型か、または野生型と著しく異なる p I を示さない変異体であってもよく、他方は、より塩基性またはより酸性であり得る。代替的には、それぞれの単量体が、1 つは、より塩基性へ、1 つは、より酸性へと変化される。

【0162】

p I 変異体の好ましい組み合わせは、図 4 に示される。本明細書に概説され、図に示されるとおり、これらの変化は、I g G 1 に対して示されるが、すべてのアイソタイプおよびアイソタイプハイブリッドが、この方法で変化され得る。重鎖定常ドメインが、I g G 2 ~ 4 由来である場合において、R 1 3 3 E および R 1 3 3 Q もまた使用され得る。

40

【0163】

一実施形態において、例えば、図 1 A、E、F、G、H、および I の形式において、p I 変異体の好ましい組み合わせは、2 0 8 D / 2 9 5 E / 3 8 4 D / 4 1 8 E / 4 2 1 D 変異体 (ヒト I g G 1 に対するときは、N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D) を含む 1 つの単量体 (負の F a b 側)、および (G K P G S) 4 (配列番号 8 1 8) を含む、正に荷電された s c F v リンカーを含む第 2 の単量体 (正の s c F v 側) を有する。しかしながら、当業者に理解されるように、第 1 の単量体は、位置 2 0 8 を含む C H 1 ドメインを含む。したがって、C H 1 ドメインを含まない構築物において (

50

例えば、ドメインのうちの1つでCH1ドメインを利用しない抗体について、例えば、図1B、C、もしくはDに示されるものなどの二重scFv形式または「ワンアーム」形式において)、好ましい負のP*i*変異体Fcセットは、295E/384D/418E/421D変異体(ヒトIgG1に対するときは、Q295E/N384D/Q418E/N421D)を含む。

【0164】

したがって、いくつかの実施形態において、一方の単量体は、図4の置換のセットを有し、他方の単量体は、荷電リンカー(単量体がscFvを含むため荷電scFvリンカーの形式においてか、または、形式が指示される際、図7に示されるものから選択され得る、荷電ドメインリンカーのいずれか)を有する。

10

【0165】

アイソタイプ変異体

さらに、本発明の多くの実施形態が、1つのIgGアイソタイプから別のものへの、特定位置でのpIアミノ酸の「取り込み」に依存しており、したがって、変異体へ導入される不要な免疫原性の可能性を低下または除去している。多くのこれらは、参照により本明細書によって組み込まれる、米国公開第2014/0370013号の図21に示される。すなわち、IgG1は、高いエフェクター機能を含めて、様々な理由で、治療用抗体のための共通のアイソタイプである。しかしながら、IgG1の重定常領域は、IgG2のそれと比較して、より高いpIを有している(8.10対7.31)。特定位置で、IgG2残基を、IgG1主鎖へ導入することによって、得られる単量体のpIは低下(または増加)し、付加的に血清半減期の長期化を示す。例えば、IgG1は、位置137にグリシン(pI5.97)を有し、IgG2は、グルタミン酸(pI3.22)を有している。つまり、グルタミン酸の取り込みは、得られるタンパク質のpIに影響を与えることになる。以下に説明されるとおり、多くのアミノ酸置換は、一般に、変異体抗体のpIに顕著な影響を与えることが必要とされている。しかしながら、以下に論じられるとおり、IgG2分子における変化でさえ、血清半減期の増加を可能にすることに留意されるべきである。

20

【0166】

他の実施形態では、非アイソタイプアミノ酸の変化がなされ、得られるタンパク質の全体の電荷状態が低下(例えば、より高いpIアミノ酸を、より低いpIアミノ酸へと変化させることによって)するか、または安定に向けた構造の適応が可能になる等、以下にさらに説明されるとおりである。

30

【0167】

さらに、重定常ドメインおよび軽定常ドメインの両方のpI操作によって、ヘテロ二量体のそれぞれの単量体において、顕著な変化をみることができる。本明細書で論じられるように、2つの単量体のpIを少なくとも0.5異なるようにすることで、イオン交換クロマトグラフィーもしくは等電点電気泳動、または等電点感受性の他の方法による分離が可能になる。

【0168】

pIの計算

40

それぞれの単量体のpIは、変異体重鎖定常ドメインおよび融合パートナーを含む、可変重鎖定常ドメインのpIおよび総単量体のpIに依存し得る。したがって、いくつかの実施形態において、米国公開第2014/0370013号の図19中の図表を使用して、変異体重鎖定常ドメインに基づいて、pIの変化が計算される。本明細書で論じられるように、どの単量体を操作するかは、概して、Fvおよび骨格領域の固有pIによって決定される。代替的には、それぞれの単量体のpIが、比較され得る。

【0169】

より良好なFcRnインビオ結合も与えるpI変異体

pI変異体が、単量体のpIを低減する場合において、それらは、インビオで血清保持を改善する追加された利点を有し得る。

50

【0170】

依然として試験下であるが、エンドソーム内で pH 6 での FcRnへの結合が Fc を隔離するため、Fc 領域は、インビボでより長期の半減期を有すると思われる (Ghetie and Ward, 1997 Immunol Today. 18 (12) : 592 - 598、参照により全体に組み込まれる)。次いで、エンドソームの区画は、Fc を細胞表面へと再循環させる。区画が、より高い pH である約 7.4 の細胞外空間へと一旦開くと、Fc の放出が誘導され、血液へ戻る。マウスにおいて、Dall'Acquaらは、pH 6 および pH 7.4 で増加された FcRn 結合を有する Fc 変異体は、野生型 Fc として実際に血清濃度および同じ半減期に低減していた (Dall'Acqua et al. 2002, J. Immunol. 169: 5171 - 5180、参照により全体に組み込まれる)。pH 7.4 での FcRn の Fc の増加された親和性は、Fc が放出されて血流へ戻ることを妨げると考えられる。それ故に、インビボでの Fc の半減期を増加させるであろう Fc 変異は、より高い pH での Fc の放出を、可能なままにしつつ、より低い pH で FcRn 結合を理想的に増加させることになる。アミノ酸であるヒスチジンは、6.0 ~ 7.4 の pH 範囲において、その荷電状態を変化させる。したがって、ヒスチジン残基を、Fc / FcRn 複合体において、重要な位置で見出すことは驚くべきことではない。

10

【0171】

より低い等電点を有する可変領域を有する抗体が、より長期の血清半減期も有し得ることが最近提案されている (Igawa et al., 2010 PEDS. 23 (5) : 385 - 392、参照により全体に組み込まれる)。しかしながら、この機構の理解は、依然として不十分である。その上、可変領域は、抗体毎に異なる。低減された pI、および延長された半減期を有する定常領域変異体は、本明細書に説明されるように、抗体の薬物動態特性の改善に対する、よりモジュール型の手法を提供するであろう。

20

【0172】

追加の機能性のための追加の Fc 変異体

pI アミノ酸変異体に加えて、これらに限定されないが、1つ以上の Fc R 受容体への結合を変化させること、FcRn 受容体への変化された結合などを含む様々な理由から行われ得る多くの有用な Fc アミノ酸修飾がある。

【0173】

したがって、本発明のタンパク質は、アミノ酸改変を含むことができ、アミノ酸改変には、pI 変異体および立体変異体を含めて、本明細書に概要が記載されるヘテロ二量体化変異体が含まれる。変異体の各セットは、任意の特定のヘテロ二量体タンパク質を独立かつ任意選択で含む、または当該タンパク質から除外することができる。

30

【0174】

Fc R 変異体

したがって、1つ以上の Fc R 受容体への結合を変化させるために作られ得る多くの有用な Fc 置換がある。増加された結合、ならびに減少された結合をもたらす置換が有用であり得る。例えば、Fc R IIIaへの増加された結合は、概して、増加された ADC C (抗体依存性細胞傷害；細胞媒介反応であって、Fc R を発現する非特異性細胞傷害性細胞が、標的細胞上に結合した抗体を認識し、その後に標的細胞の溶解を引き起こす反応である)をもたらすことが既知である。同様に、Fc R I I b (抑制性受容体)への減少された結合は、いくつかの状況において、有益であり得る。本発明において用途を見出すアミノ酸置換には、USSN11 / 124, 620 (特に図 41)、USSN11 / 174, 287、USSN11 / 396, 495、USSN11 / 538, 406 に列挙されるものを含み、これらのすべては、それらの全体において参照により本明細書に明確に組み込まれ、特に、そこで開示される変異体について組み込まれる。用途を見出す特定の変異体としては、これら限定されないが、236A、239D、239E、332E、332D、239D / 332E、267D、267E、328F、267E / 328F、236A / 332E、239D / 332E / 330Y、239D、332E / 330L、243A、243L、264A、264V、および 299T が挙げられる。

40

50

【0175】

さらに、FcRn受容体への増加された結合、および増加された血清半減期において用途を見出す追加のFc置換があり、これらに限定されないが、434S、434A、428L、308F、259I、428L/434S、259I/308F、436I/428L、436I、またはV/434S、436V/428L、および259I/308F/428Lを含む、USSN12/341,769に具体的に開示されるとおりであって、その全体において参照により本明細書によって組み込まれる。

【0176】**消去変異体**

同様に、機能性変異体の別のカテゴリーは、「Fc 消去変異体」または「Fc ノックアウト(FcKOもしくはKO)」変異体である。これらの実施形態において、いくつかの治療応用には、Fc 受容体(例えば、Fc R1、Fc RIIa、Fc RIIb、Fc RIIIaなど)のうちの1つ以上またはすべてへのFcドメインの通常の結合を低減または除去して、作用の追加の機構を回避することが望ましい。すなわち、例えば、多くの実施形態において、特にCD3に一価に結合する二重特異性抗体の使用において、Fcドメインのうちの1つがFc 受容体消去変異体を含むADC活性を除去または著しく低減するためにFc RIIIa結合を消去することが概して望ましい。これらの消去変異体は、図14に示され、それぞれは独立してかつ任意に、G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236del/S239K、E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G、およびE233P/L234V/L235A/G236delからなる群から選択される消去変異体を利用する好ましい態様と共に含まれ得るか、または除外され得る。本明細書において参照される消去変異体が、概して、FcRn結合ではなくFc R結合を消去することに留意されるべきである。

10

20

30

40

【0177】

当業者に既知であるように、ヒトIgG1のFcドメインは、Fc 受容体への最も高い結合を有し、それによって、消去変異体が、ヘテロ二量体抗体の骨格内の定常ドメイン(またはFcドメイン)がIgG1であるときに、使用され得る。代替的には、またはIg g1骨格内の消去変異体に加えて、グリコシル化位置297(概して、AまたはSに対する)における変異は、例えば、Fc RIIIaへの結合を著しく消去し得る。ヒトIg G2およびIg G4は、Fc 受容体への天然に低減された結合を有し得、それによって、それらの骨格は、消去変異体と共に、またはなしで使用され得る。

【0178】**ヘテロ二量体およびFc変異体の組み合わせ**

当業者によって理解されるように、すべての列挙されたヘテロ二量体化変異体(歪曲および/またはpI変異体を含む)は、それらがその「鎖性」または「単量体区分(monomer partition)」を保持する限り、任意にかつ独立して、任意の方法で組み合わされ得る。さらに、これらの変異体はすべて、ヘテロ二量体化形式のいずれかに組み合わされ得る。

【0179】

pI変異体の場合において、特定の用途を見出す実施形態は、図に示されているが、精製の容易にするために2つの単量体間のpI差異を変化させる基礎的な規則に従って、他の組み合わせが生成され得る。

【0180】

さらに、ヘテロ二量体化変異体、歪曲、およびpIのうちのいずれかはまた、概して本明細書に概説されるとおり、Fc消去変異体、Fc変異体、FcRn変異体と独立してかつ任意に組み合わされ得る。

【0181】**H. 本発明の有用な形式**

50

当業者によって理解され、以下により完全に論じられるように、本発明のヘテロ二量体融合タンパク質は、概して図1に示されるように、幅広い様々な構造をとることができる。いくつかの図は、分子の一方の「アーム」上に1種類の特異性、および他方の「アーム」上に異なる特異性がある「シングルエンド化（single ended）」構造を示す。他の図は、分子の「上部」に少なくとも1種類の特異性、および分子の「下部」に1つ以上の異なる特異性がある「二重エンド化（dual ended）」構造を示す。したがって、本発明は、異なる第1の抗原および第2の抗原を共結合する新規の免疫グロブリン組成物を対象とする。

【0182】

当業者によって理解されるように、本発明のヘテロ二量体形式は、異なる結合価を有し得、かつ二重特異性であり得る。すなわち、本発明のヘテロ二量体抗体は、一方の標的腫瘍抗原（例えば、CD3）が1つの結合ドメインによって結合されており、他方の標的腫瘍抗原（例えば、SSTR2）が第2の結合ドメインによって結合されている二価および二重特異性であり得る。ヘテロ二量体抗体はまた、第1の抗原が2つの結合ドメインによって結合されており、第2の抗原が第2の結合ドメインによって結合されている三価および二重特異性であり得る。本明細書に概説されるように、CD3が標的抗原のうちの1つであるとき、CD3が一価のみに結合され、潜在的副作用を低減することが好ましい。

10

【0183】

本発明は、抗SSTR2結合ドメインと組み合わせて、抗CD3抗原結合ドメインを利用する。当業者によって理解されるように、いずれの図（特に図2～7、および図18参照）にも示される抗CD3 CDR、抗CD3可変軽および可変重ドメイン、Fab、およびscFvのうちの任意の集合は、使用され得る。同様に、抗SSTR2抗原結合ドメインのうちのいずれも使用され得、CDR、可変軽ドメインおよび可変重ドメインにかかわらず、図（例えば、図8および10）のうちのいずれかに示されるように、FabおよびscFvが、任意の組み合わせで、任意にかつ独立して使用され得る。

20

【0184】

栓抜き

本発明において特定の用途を見出す1つのヘテロ二量体骨格は、「三重F」または図1Aに示される「栓抜き」骨格形式である。この実施形態において、抗体の一方の重鎖は、一本鎖Fv（以下に定義される「scFv」）を含み、他方の重鎖は、「定型的な（regular）Fab形式であって、可変重鎖および軽鎖を含む。この構造は、栓抜きに対する粗い視覚的類似性に起因して、時に、本明細書において「三重F」形式または「栓抜き」形式と称される。2つの鎖は、以下により完全に説明されるように、ヘテロ二量体抗体の形成を促進する定常領域（例えば、Fcドメイン、CH1ドメイン、および/またはヒンジ領域）において、アミノ酸変異体の使用によって一緒にまとめられる。

30

【0185】

本発明の「三重F」形式には、いくつかの明確に異なる利点が存在する。当該技術分野で既知のとおり、2つのscFv構築物に依存する抗体アナログは、安定性および凝集の問題を有することが多いが、それは、本発明において、「定型的な」重鎖および軽鎖の対の追加によって、軽減され得る。さらに、2つの重鎖および2つの軽鎖に依存する形式とは対照的に、重鎖および軽鎖が、不正確に対になる（例えば、重1が、軽2と対になるなど）という問題は存在しない。

40

【0186】

本明細書に概説される多くの実施形態は、概して、scFvがドメインリンカー（本明細書に概要が記載されるとおり、非荷電または荷電であり得る）を通常通して第1のFcドメインのN末端に共有結合されるscFvリンカー（多くの実施例において荷電）を使用して共有結合される可変重および可変軽ドメインを含むscFvを含む第1の単量体を含む栓抜き形式に依存する。栓抜き形式の第2の単量体は重鎖であり、組成物は、軽鎖をさらに含む。

【0187】

50

概して、多くの好ましい実施形態において、*s c F v* は、*C D 3* に結合するドメインであり、*F a b* は、*S S T R 2* 結合ドメインを形成する。

【 0 1 8 8 】

さらに、本発明の*F c* ドメインは、概して、歪曲変異体（例えば、S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S、L 3 6 8 D / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K、L 3 6 8 E / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K、T 4 1 1 T / E 3 6 0 E / Q 3 6 2 E : D 4 0 1 K、L 3 6 8 D / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K / E 3 5 7 L、およびK 3 7 0 S : S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q からなる群から選択されている特に有用な歪曲変異体を有する、図3および8に示されるようなアミノ酸置換のセット）、任意に消去変異体（図5に示されるものを含む）、任意に荷電*s c F v* リンカー（図7に示されるものを含む）を含み、重鎖は、*p I* 変異体（図4に示されるものを含む）を含む。

10

【 0 1 8 9 】

いくつかの実施形態において、栓抜き形式は、歪曲変異体、*p I* 変異体、および消去変異体を含む。したがって、いくつかの実施形態は、a) 荷電*s c F v* リンカー（いくつかの実施形態において好ましい図7の+H配列を有する）を含む第1の単量体（「*s c F v* 单量体」）、歪曲変異体S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q、消去変異体E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K、および本明細書で概説されるように*C D 3* に結合する*F v*；b) 歪曲変異体L 3 6 8 D / K 3 7 0 S、*p I* 変異体N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D、消去変異体E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K、および本明細書に概説されるように*S S T R 2* に結合する*F v* を作る、可変軽ドメインを有する可変重ドメインを含む第2の単量体（「*F a b* 单量体」）；ならびにc) 軽鎖を含む栓抜き形式を含む。

20

【 0 1 9 0 】

C D 3 に結合する*s c F v* の例示的な可変重ドメインおよび可変軽ドメインは、図12および13に含まれる。*S S T R 2* に結合する*F v* の例示的な可変重ドメインおよび可変軽ドメインは、図11に含まれる。例示的な実施形態において、*S S T R 2* 結合ドメインは、H 1 . 1 4 3 _ L 1 . 3 0 *S S T R 2* 結合ドメインであり、*C D 3* に結合する*s c F v* は、H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7 *C D 3* 結合ドメインの可変重ドメインおよび可変軽ドメインを含む。他の特に有用な*S S T R 2* および*C D 3* 配列の組み合わせは、図16に開示されている。

30

【 0 1 9 1 】

いくつかの実施形態において、栓抜き形式は、歪曲変異体、*p I* 変異体、消去変異体、および*F c R n* 変異体を含む。したがって、いくつかの実施形態は、a) 荷電*s c F v* リンカー（いくつかの実施形態において好ましい図7の+H配列を有する）を含む第1の単量体（「*s c F v* 单量体」）、歪曲変異体S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q、消去変異体E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K、*F c R n* 変異体M 4 2 8 L / N 4 3 4 S、および本明細書で概説されるように*C D 3* に結合する*F v*；b) 歪曲変異体L 3 6 8 D / K 3 7 0 S、*p I* 変異体N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D、消去変異体E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K、*F c R n* 変異体M 4 2 8 L / N 4 3 4 S、および本明細書に概説されるように*S S T R 2* に結合する*F v* を作る、可変軽ドメインを有する可変重ドメインを含む第2の単量体（「*F a b* 单量体」）；ならびにc) 軽鎖を含む栓抜き形式を含む。

40

【 0 1 9 2 】

C D 3 に結合する*s c F v* の例示的な可変重ドメインおよび可変軽ドメインは、図12および13に含まれる。*S S T R 2* に結合する*F v* の例示的な可変重ドメインおよび可変軽ドメインは、図11に含まれる。例示的な実施形態において、*S S T R 2* 結合ドメインは、H 1 . 1 4 3 _ L 1 . 3 0 *S S T R 2* 結合ドメインの可変重ドメインおよび可変軽ドメインを含み、*C D 3* に結合する*s c F v* は、H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7 *C D 3* 結合ドメインの可変重ドメインおよび可変軽ドメインを含む。他の特に有用な*S S T R 2* および*C D 3* 配列の組み合わせは、図16に開示されている。

50

【 0 1 9 3 】

図9は、本発明において使用され得るFv配列を欠いているいくつかの例示的な栓抜き「骨格」配列を示す。いくつかの実施形態において、本明細書に示されるvhおよびvl配列のうちのいずれか(SSTR2を対象とするものを含む、図および配列表に示されるすべてのvhおよびvl配列を含む)は、図および配列表に示される抗CD3scFv配列のうちのいずれかを使用して、「Fab部位」として図9の栓抜き骨格形式に追加され得る。

【 0 1 9 4 】

図9の栓抜き骨格1(任意に、428L/434S変異体を含む)について、これらの実施形態において特定の用途を見出すCD結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、CD3結合ドメイン抗CD3H1.30_L1.47、抗CD3H1.32_L1.47、抗CD3H1.89_L1.47、抗CD3H1.90_L1.47、抗CD3H1.33_L1.47、および抗CD3H1.31_L1.47、ならびに図9に示される骨格のscFv側として結合される図12および13に示されるものを含む。10

【 0 1 9 5 】

図9の栓抜き骨格1(任意に、428L/434S変異体を含む)について、これらの実施形態において特定の使用のうちのSSTR2結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗SSTR2H1.143_L1.30、抗SSTR2H1_L1.1、抗SSTR2H1.107_L1.30、抗SSTR2H1.107_L1.67、抗SSTR2H1.107_L1.108、抗SSTR2H1.107_L1.111、抗SSTR2H1.107_L1.114、抗SSTR2H1.107_L1.102、抗SSTR2H1.107_L1.110、抗SSTR2H1.125_L1.30、抗SSTR2H1.125_L1.67、抗SSTR2H1.125_L1.108、抗SSTR2H1.125_L1.111、抗SSTR2H1.125_L1.114、抗SSTR2H1.125_L1.102、および抗SSTR2H1.125_L1.1を含む。20

【 0 1 9 6 】

図9の栓抜き骨格1(任意に、428L/434S変異体を含む)と共に使用するのに特に有用なSSTR2およびCD3配列の組み合わせは、図16に開示されている。

【 0 1 9 7 】

1つの例示的な実施形態において、栓抜き抗体は、図9の栓抜き「骨格」1を含み、SSTR2結合ドメインは、H1.143_L1.30 SSTR2結合ドメインの可変重ドメインおよび可変軽ドメインを含み、CD3に結合するscFvは、H1.30_L1.47 CD3結合ドメインの可変重ドメインおよび可変軽ドメインを含む。30

【 0 1 9 8 】

mAb - Fv

本発明において特定の用途を見出す1つのヘテロ二量体骨格は、図1Hに示されるmAb-Fv形式である。この実施形態において、形式は、一方の単量体に対する「余分な」可変重ドメインのC末端結合、および他方の単量体に対する「余分な」可変軽ドメインのC末端結合の使用に依存し、したがって、第3の抗原結合ドメインを形成し、2つの単量体のFab部分は、SSTR2に結合し、「余分な」scFvドメインは、CD3に結合する。40

【 0 1 9 9 】

この実施形態において、第1の単量体は、ドメインリンカー(vh1-CH1-ヒンジ-CH2-CH3-[任意のリンカー]-vl2)を使用して、第1のFcドメインのC末端に共有結合されている第1の可変軽ドメインを有する、Fcドメインを含む第1の可変重ドメインおよび第1の定常重ドメインを含む第1の重鎖を含む。第2の単量体は、第2のFcドメインを含む第2の定常重ドメインの第2の可変重ドメイン、およびドメインリンカー(vj1-CH1-ヒンジ-CH2-CH3-[任意のリンカー]-vh2)を使用して、第2のFcドメインのC末端に共有結合されている第3の可変重ドメインを含む。50

2つのC末端結合された可変ドメインは、CD3に結合するFvを作る（二価のCD3結合を有することはあまり好ましくないため）。この実施形態は、SSTR2に結合する2つの同一Fabを形成するために重鎖に関連する、可変軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む共通の軽鎖をさらに利用する。本明細書の実施形態の多くについて、これらの構築物は、本明細書において望ましくかつ説明される歪曲変異体、pI変異体、消去変異体、追加のFc変異体などを含む。

【0200】

本発明は、CD結合ドメイン配列が、図12および13、ならびに配列表に示されるとおりであるmAb-Fv形式を提供する。本発明は、SSTR2結合ドメイン配列が、図11および配列表に示されるとおりであるmAb-Fv形式を提供する。mAb-Fv形式と共に使用するため特に有用なSSTR2およびCD3配列の組み合わせは、図16に開示されている。10

【0201】

さらに、mAb-Fv形式のFcドメインは、概して、歪曲変異体（例えば、S364K/E357Q:L368D/K370S、L368D/K370S:S364K、L368E/K370S:S364K、T411T/E360E/Q362E:D401K、L368D/K370S:S364K/E357L、K370S:S364K/E357Q、T366S/L368A/Y407V:T366W、およびT366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354Cからなる群から選択されている特に有用な歪曲変異体を有する、図3および8に示されるようなアミノ酸置換のセット）、任意に消去変異体（図5に示されるものを含む）、任意に荷電scFvリンカー（図7に示されるものを含む）を含み、重鎖は、pI変異体（図4に示されるものを含む）を含む。20

【0202】

いくつかの実施形態において、mAb-Fv形式は、歪曲変異体、pI変異体、および消去変異体を含む。したがって、いくつかの実施形態は、a)歪曲変異体S364K/E357Q、消去変異体E233P/L234V/L235A/G236de1/S267K、およびSSTR2に結合するFvを作る、軽鎖の第1の可変軽ドメインと、第2の可変重ドメインとを有する第1の可変重ドメインを含む第1の単量体；b)歪曲変異体L368D/K370S、pI変異体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消去変異体E233P/L234V/L235A/G236de1/S267K、および本明細書に概説されるようにSSTR2に結合するFvを作る、第1の可変軽ドメインと、CD3に結合するFv(ABD)を形成する第2の可変重ドメインと一緒に有する第2の可変軽鎖を有する第1の可変重ドメインを含む第2の単量体；ならびにc)第1の軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む軽鎖を含むmAb-Fv形式を含む。30

【0203】

いくつかの実施形態において、mAb-Fv形式は、歪曲変異体、pI変異体、消去変異体、およびFcRn変異体を含む。したがって、いくつかの実施形態は、a)歪曲変異体S364K/E357Q、消去変異体E233P/L234V/L235A/G236de1/S267K、FcRn変異体M428L/N434S、およびSSTR2に結合するFvを作る、軽鎖の第1の可変軽ドメインと、第2の可変重ドメインとを有する第1の可変重ドメインを含む第1の単量体；b)歪曲変異体L368D/K370S、pI変異体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消去変異体E233P/L234V/L235A/G236de1/S267K、FcRn変異体M428L/N434S、および本明細書に概説されるようにSSTR2に結合するFvを作る、第1の可変軽ドメインと、CD3に結合するFv(ABD)を形成する第1の単量体の第2の可変重ドメインと一緒に有する第2の可変軽鎖とを有する第1の可変重ドメインを含む第2の単量体；ならびにc)第1の可変軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む軽鎖を含むmAb-Fv形式を含む。40

【0204】

図10のmAb-Fv骨格1に類似するmAb-Fv配列（任意に、M428L/434

10

20

30

40

50

S変異体を含む)について、これらの実施形態において特定の用途を見出すCD3結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗CD3 H1.30_L1.47、抗CD3 H1.32_L1.47、抗CD3 H1.89_L1.47、抗CD3 H1.90_L1.47、抗CD3 H1.33_L1.47、および抗CD3 H1.31_L1.47、ならびに図12および13に示されるものを含む。

【0205】

図10のmAb-Fv骨格1に類似するmAb-Fv配列(任意に、M428L/434S変異体を含む)について、これらの実施形態において特定の使用のうちのSSTR2結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗SSTR2 H1.143_L1.30、抗SSTR2 H1.107_L1.1、抗SSTR2 H1.107_L1.30、抗SSTR2 H1.107_L1.67、抗SSTR2 H1.107_L1.108、抗SSTR2 H1.107_L1.111、抗SSTR2 H1.107_L1.114、抗SSTR2 H1.107_L1.102、抗SSTR2 H1.107_L1.110、抗SSTR2 H1.125_L1.30、抗SSTR2 H1.125_L1.67、抗SSTR2 H1.125_L1.108、抗SSTR2 H1.125_L1.111、抗SSTR2 H1.125_L1.114、抗SSTR2 H1.125_L1.102、および抗SSTR2 H1.125_L1.10、ならびに図11と15および配列番号68~659に列挙されるものを含む。

10

【0206】

図10のmAb-Fv骨格1に類似するmAb-Fv配列(任意に、428L/434S変異体を含む)と共に使用するために特に有用なSSTR2およびCD3配列の組み合わせは、図16に開示されている。

20

【0207】

mAb-scFv

本発明において特定の用途を見出す1つのヘテロ二量体骨格は、図1に示されるmAb-scFv形式である。この実施形態では、形式は、単量体のうちの1つに対するscFvのC末端付加の使用に依存し、したがって、第3の抗原結合ドメインを形成し、2つの単量体のFab部分は、SSTR2に結合し、「余分な」scFvドメインは、CD3に結合する。したがって、第1の単量体は、いずれかの方向付け(vh1-CH1-ヒンジ-CH2-CH3-[任意のリンカー]-vh2-scFvリンカー-v12またはvh1-CH1-ヒンジ-CH2-CH3-[任意のリンカー]-v12-scFvリンカー-vh2)においてscFv可変軽ドメイン、scFvリンカー、およびscFv可変重ドメインを含むC末端共有結合されたscFvを有する、第1の重鎖(可変重ドメインおよび定常ドメインを含む)を含む。この実施形態は、SSTR2に結合する2つの同一Fabを形成するために重鎖に関連する、可変軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む共通の軽鎖をさらに利用する。本明細書の実施形態の多くについては、これらの構築物には、本明細書で所望され説明される歪曲変異体、pI変異体、消去変異体、追加のFc変異体などが含まれる。

30

【0208】

本発明は、CD結合ドメイン配列が、図12および13、ならびに配列表に示されるmAb-scFv形式を提供する。本発明は、SSTR2結合ドメイン配列が、図11および配列表に示されるmAb-scFv形式を提供する。mAb-scFv形式と共に使用するため特に有用なSSTR2およびCD3配列の組み合わせは、図16に開示されている。

40

【0209】

さらに、mAb-scFv形式のFcドメインは、概して、歪曲変異体(例えば、S364K/E357Q:L368D/K370S、L368D/K370S:S364K、L368E/K370S:S364K、T411T/E360E/Q362E:D401K、L368D/K370S:S364K/E357L、K370S:S364K/E357Q、T366S/L368A/Y407V:T366W、およびT366S/L368

50

A / Y 4 0 7 V / Y 3 4 9 C : T 3 6 6 W / S 3 5 4 C からなる群から選択されている特に有用な歪曲変異体を有する、図3および8に示されるようなアミノ酸置換のセット)、任意に消去変異体(図5に示されるものを含む)、任意に荷電 s c F v リンカー(図7に示されるものを含む)を含み、重鎖は、p I 变異体(図4に示されるものを含む)を含む。

【0210】

いくつかの実施形態において、m A b - s c F v 形式は、歪曲変異体、p I 变異体、および消去変異体を含む。したがって、いくつかの実施形態は、a) 歪曲変異体 S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q、消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K、および本明細書に概説されるように S S T R 2 に結合する F v を作る、共通の軽鎖の可変軽ドメインと、C D 3 に結合する s c F v ドメインとを有する可変重ドメインを含む第1の単量体；b) 歪曲変異体 L 3 6 8 D / K 3 7 0 S、p I 变異体 N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D、消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K、および本明細書に概説されるように S S T R 2 に結合する F v を作る、共通の軽鎖の可変軽ドメインを有する可変重ドメインを含む第2の単量体；ならびにc) 可変軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む共通の軽鎖を含む m A b - s c F v 形式を含む。

10

【0211】

いくつかの実施形態において、m A b - s c F v 形式は、歪曲変異体、p I 变異体、消去変異体、およびF c R n 变異体を含む。したがって、いくつかの実施形態は、a) 歪曲変異体 S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q、消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K、F c R n 变異体 M 4 2 8 L / N 4 3 4 S、および本明細書に概説されるように S S T R 2 に結合する F v を作る、共通の軽鎖の第1の可変軽ドメインと、C D 3 に結合する s c F v ドメインとを有する可変重ドメインを含む第1の単量体；b) 歪曲変異体 L 3 6 8 D / K 3 7 0 S、p I 变異体 N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D、消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K、F c R n 变異体 M 4 2 8 L / N 4 3 4 S、および本明細書に概説されるように S S T R 2 に結合する F v を作る、共通の軽鎖の可変軽ドメインを有する可変重ドメインを含む第2の単量体；ならびにc) 可変軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む共通の軽鎖を含む m A b - s c F v 形式を含む。

20

【0212】

図10のm A b - s c F v 骨格1(任意に、M 4 2 8 L / N 4 3 4 S を含む)において(任意に、4 2 8 L / 4 3 4 S 变異体を含む、これらの実施形態において特定の用途を見出す C D 3 結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗 C D 3 H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7、抗 C D 3 H 1 . 3 2 _ L 1 . 4 7、抗 C D 3 H 1 . 8 9 _ L 1 . 4 7、抗 C D 3 H 1 . 9 0 _ L 1 . 4 7、抗 C D 3 H 1 . 3 3 _ L 1 . 4 7、および抗 C D 3 H 1 . 3 1 _ L 1 . 4 7、ならびに図12および13に示されるものを含む。

30

【0213】

図10のm A b - s c F v 骨格1(任意に、M 4 2 8 L / N 4 3 4 S 含む)において(任意に、4 2 8 L / 4 3 4 S 变異体を含む)、これらの実施形態において特定の使用のうちの S S T R 2 結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗 S S T R 2 H 1 . 1 4 3 _ L 1 . 3 0、抗 S S T R 2 H 1 _ L 1 . 1、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 3 0、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 6 7、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 0 8、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 1、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 4、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 0、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 3 0、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 6 7、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 0 8、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 1 1、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 1 4、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 0 2、および抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 0、ならびに図11と15および配列番号 6 8 ~ 6 5 9 に列挙されるものを含む。

40

【0214】

50

中心 s c F v

本発明において特定の用途を見出す1つのヘテロ二量体骨格は、図1に示される中心 s c F v 形式である。この実施形態において、形式は、挿入 s c F v ドメインの使用に依存し、したがって、第3の抗原結合ドメインを形成し、2つの単量体の F a b 部分は、S S T R 2 に結合し、「余分な」 s c F v ドメインは、C D 3 に結合する。 s c F v ドメインは、単量体のうちの1つの F c ドメインと C H 1 - F v 領域との間に挿入され、したがって、第3の抗原結合ドメインを提供する。

【 0 2 1 5 】

この実施形態において、一方の単量体は、 s c F v 可変軽ドメイン、 s c F v リンカー、および s c F v 可変重ドメインを含む s c F v を有する、第1の可変重ドメイン、 C H 1 ドメイン（および任意のヒンジ）、および F c ドメインを含む第1の重鎖を含む。 s c F v は、任意のドメインリンカー（ v h 1 - C H 1 - [任意のリンカー] - v h 2 - s c F v リンカー - v l 2 - [ヒンジを含む任意のリンカー] - C H 2 - C H 3 、または s c F v への逆の方向付け v h 1 - C H 1 - [任意のリンカー] - v l 2 - s c F v リンカー - v h 2 - [ヒンジを含む任意のリンカー] - C H 2 - C H 3 ）を使用して、重定常ドメインの C H 1 ドメインの C 末端と、第1の F c ドメインの N 末端との間に共有結合されている。他方の単量体は、標準 F a b 側である。この実施形態は、S S T R 2 に結合する2つの同一 F a b を形成するために重鎖に関連する、可変軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む共通の軽鎖をさらに利用する。本明細書の実施形態の多くについては、これらの構築物は、本明細書において望ましくかつ説明される歪曲変異体、 p I 変異体、消去変異体、追加の F c 変異体などを含む。

10

20

【 0 2 1 6 】

本発明は、 C D 3 結合ドメイン配列が、図12および13、ならびに配列表に示されるとおりである中心 s c F v 形式を提供する。本発明は、抗 S S T R 2 配列が、図11および配列表に示されるとおりである中心 s c F v 形式を提供する。中心 s c F v 形式と共に使用するため特に有用な S S T R 2 および C D 3 配列の組み合わせは、図16に開示されている。

【 0 2 1 7 】

さらに、中心 s c F v 形式の F c ドメインは、歪曲変異体（例えば、 S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S 、 L 3 6 8 D / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K 、 L 3 6 8 E / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K 、 T 4 1 1 T / E 3 6 0 E / Q 3 6 2 E : D 4 0 1 K 、 L 3 6 8 D / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K / E 3 5 7 L 、 K 3 7 0 S : S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q 、 T 3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V : T 3 6 6 W 、および T 3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V / Y 3 4 9 C : T 3 6 6 W / S 3 5 4 C からなる群から選択されている特に有用な歪曲変異体を有する、図3および8に示されるようなアミノ酸置換のセット）、任意に消去変異体（図5に示されるものを含む）、任意に荷電 s c F v リンカー（図7に示されるものを含む）を含み、重鎖は、 p I 変異体（図4に示されるものを含む）を含む。

30

【 0 2 1 8 】

いくつかの実施形態において、中心 s c F v 形式は、歪曲変異体、 p I 変異体、および消去変異体を含む。したがって、いくつかの実施形態は、 a) 歪曲変異体 S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q 、消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K 、および本明細書に概説されるように S S T R 2 に結合する F v を作る、軽鎖の可変軽ドメインと、 C D 3 に結合する s c F v ドメインとを有する可変重ドメインを含む第1の単量体； b) 歪曲変異体 L 3 6 8 D / K 3 7 0 S 、 p I 変異体 N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D 、消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K 、および本明細書に概説されるように S S T R 2 に結合する F v を作る、軽鎖の可変軽ドメインを有する可変重ドメインを含む第2の単量体；ならびに c) 可変軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む軽鎖を含む中心 s c F v 形式を含む。

40

【 0 2 1 9 】

いくつかの実施形態において、中心 s c F v 形式は、歪曲変異体、 p I 変異体、消去変異

50

体、およびFcRn変異体を含む。したがって、いくつかの実施形態は、a) 歪曲変異体 S364K / E357Q、消去変異体 E233P / L234V / L235A / G236d e1 / S267K、FcRn変異体 M428L / N434S、および本明細書に概説されるようにSSTR2に結合するFvを作る、軽鎖の第1の可変軽ドメインと、CD3に結合するscFvドメインとを有する可変重ドメインを含む第1の単量体；b) 歪曲変異体 L368D / K370S、pI変異体 N208D / Q295E / N384D / Q418E / N421D、消去変異体 E233P / L234V / L235A / G236d e1 / S267K、FcRn変異体 M428L / N434S、および本明細書に概説されるようにSSTR2に結合するFvを作る、軽鎖の可変軽ドメインを有する可変重ドメインを含む第2の単量体；ならびにc) 可変軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む軽鎖を含む中心scFv形式を含む。

【0220】

図9の栓抜き骨格1に類似かつそれを利用する中心scFv配列について（任意に、M428L / N434Sを含む）、これらの実施形態において特定の用途を見出すCD3結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗CD3 H1.30_L1.47、抗CD3 H1.32_L1.47、抗CD3 H1.89_L1.47、抗CD3 H1.90_L1.47、抗CD3 H1.33_L1.47、および抗CD3 H1.31_L1.47、ならびに図12および13に示されるものを含む。

【0221】

図9の栓抜き骨格1に類似かつそれを利用する中心scFv配列について（任意に、M428L / N434S変異体を含む）、これらの実施形態において特定の使用のうちのSSTR2結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗SSTR2 H1.143_L1.30、抗SSTR2 H1_L1.1、抗SSTR2 H1.107_L1.30、抗SSTR2 H1.107_L1.67、抗SSTR2 H1.107_L1.108、抗SSTR2 H1.107_L1.111、抗SSTR2 H1.107_L1.114、抗SSTR2 H1.107_L1.102、抗SSTR2 H1.107_L1.110、抗SSTR2 H1.125_L1.30、抗SSTR2 H1.125_L1.67、抗SSTR2 H1.125_L1.108、抗SSTR2 H1.125_L1.111、抗SSTR2 H1.125_L1.114、抗SSTR2 H1.125_L1.102、および抗SSTR2 H1.125_L1.10、ならびに図11と15および配列番号68～659に列挙されるものを含む。

【0222】

中心Fv

本発明において特定の用途を見出す1つのヘテロ二量体骨格は、図1Gに示される中心Fv形式である。この実施形態において、形式は、挿入Fvドメイン（すなわち、中心Fvドメイン）の使用に依存し、したがって、第3の抗原結合ドメインを形成し、2つの単量体のFab部分は、SSTR2に結合し、「中心Fv」ドメインは、CD3に結合する。scFvドメインは、単量体のFcドメインとCH1-Fv領域との間に挿入され、したがって、第3の抗原結合ドメインを提供し、各単量体は、scFvの構成要素を含む（例えば、一方の単量体は、可変重ドメインを含み、他方は、可変軽ドメインを含む）。

【0223】

この実施形態において、一方の単量体は、第1の可変重ドメイン、CH1ドメイン、およびFcドメイン、ならびに追加の可変軽ドメインを含む第1の重鎖を含む。軽ドメインは、ドメインリンカー（vh1-CH1-[任意のリンカー]-vh2-ヒンジ-CH2-CH3）を使用して、重定常ドメインのCH1ドメインのC末端と、第1のFcドメインのN末端との間に共有結合されている。この実施形態において、他方の単量体は、第1の可変重ドメイン、CH1ドメイン、およびFcドメイン、ならびに追加の可変重ドメイン（vh1-CH1-[任意のリンカー]-vh2-ヒンジ-CH2-CH3）を含む第1の重鎖を含む。軽ドメインは、ドメインリンカーを使用して重定常ドメインのCH1ドメインのC末端と、第1のFcドメインのN末端との間に共有結合されている。

10

20

30

40

50

【 0 2 2 4 】

この実施形態は、S S T R 2 に結合する 2 つの同一 F a b を形成するために重鎖に関連する、可変軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む共通の軽鎖をさらに利用する。本明細書の実施形態の多くについては、これらの構築物は、本明細書において望ましくかつ説明される歪曲変異体、p I 変異体、消去変異体、追加の F c 変異体などを含む。

【 0 2 2 5 】

本発明は、C D 3 結合ドメイン配列が、図 1 2 および 1 3 、ならびに配列表に示されるとおりである中心 F v 形式を提供する。本発明は、S S T R 2 結合ドメイン配列が、図 1 1 および配列表に示されるとおりである中心 F v 形式を提供する。中心 F v 形式と共に使用するため特に有用な S S T R 2 および C D 3 配列の組み合わせは、図 1 6 に開示されている。

10

【 0 2 2 6 】

中心 F v 形式について、これらの実施形態において特定の用途を見出す C D 3 結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗 C D 3 H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7 、抗 C D 3 H 1 . 3 2 _ L 1 . 4 7 、抗 C D 3 H 1 . 8 9 _ L 1 . 4 7 、抗 C D 3 H 1 . 9 0 _ L 1 . 4 7 、抗 C D 3 H 1 . 3 3 _ L 1 . 4 7 、および抗 C D 3 H 1 . 3 1 _ L 1 . 4 7 、ならびに図 1 2 および 1 3 に示されるものを含む。

【 0 2 2 7 】

中心 F v 形式について、これらの実施形態において特定の使用のうちの S S T R 2 結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗 S S T R 2 H 1 . 1 4 3 _ L 1 . 3 0 、抗 S S T R 2 H 1 _ L 1 . 1 、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 3 0 、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 6 7 、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 0 8 、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 1 、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 4 、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 0 2 、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 0 、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 3 0 、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 6 7 、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 0 8 、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 1 1 、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 1 4 、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 0 2 、および抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 0 、ならびに図 1 1 と 1 5 および配列番号 6 8 ~ 6 5 9 に列挙されるものを含む。

20

【 0 2 2 8 】

30

ワンアーム化中心 s c F v

本発明において特定の用途を見出す 1 つのヘテロ二量体骨格は、図 1 に示されるワンアーム化中心 s c F v 形式である。この実施形態では、一方の単量体は、F c ドメインのみを含むが、他方の単量体は、挿入 s c F v ドメインを使用し、したがって、第 2 の抗原結合ドメインを形成する。この形式において、F a b 部分が、S S T R 2 に結合し、s c F v が、C D 3 に結合するか、またはその逆のいずれかである。s c F v ドメインは、単量体のうちの 1 つの F c ドメインと C H 1 - F v 領域との間に挿入される。

【 0 2 2 9 】

40

この実施形態において、一方の単量体は、s c F v 可変軽ドメイン、s c F v リンカー、および s c F v 可変重ドメインを含む s c F v を有する、第 1 の可変重ドメイン、C H 1 ドメイン、および F c ドメインを含む第 1 の重鎖を含む。s c F v は、ドメインリンカーを使用して重定常ドメインの C H 1 ドメインの C 末端と、第 1 の F c ドメインの N 末端との間に共有結合されている。第 2 の単量体は、F c ドメインを含む。この実施形態は、F a b を形成するために重鎖に関連する、可変軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む軽鎖をさらに利用する。本明細書の実施形態の多くについては、これらの構築物は、本明細書において望ましくかつ説明される歪曲変異体、p I 変異体、消去変異体、追加の F c 変異体などを含む。

【 0 2 3 0 】

本発明は、C D 3 結合ドメイン配列が、図 1 2 および 1 3 、ならびに配列表に示されるとおりである中心 F v 形式を提供する。本発明は、S S T R 2 結合ドメイン配列が、図 1 1

50

および配列表に示されるとおりである中心 F v 形式を提供する。中心 F v 形式と共に使用するための特に有用な S S T R 2 および C D 3 配列の組み合わせは、図 1 6 に開示されている。

【 0 2 3 1 】

さらに、ワンアーム化中心 s c F v 形式の F c ドメインは、概して、歪曲変異体（例えば、S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S、L 3 6 8 D / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K、L 3 6 8 E / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K、T 4 1 1 T / E 3 6 0 E / Q 3 6 2 E : D 4 0 1 K、L 3 6 8 D / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K / E 3 5 7 L、K 3 7 0 S : S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q、T 3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V : T 3 6 6 W、および T 3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V / Y 3 4 9 C : T 3 6 6 W / S 3 5 4 C からなる群から選択されている特に有用な歪曲変異体を有する、図 3 および 8 に示されるようなアミノ酸置換のセット）、任意に消去変異体（図 5 に示されるものを含む）、任意に荷電 s c F v リンカー（図 7 に示されるものを含む）を含み、重鎖は、p I 变異体（図 4 に示されるものを含む）を含む。

10

【 0 2 3 2 】

いくつかの実施形態において、ワンアーム化中心 s c F v 形式は、歪曲変異体、p I 变異体、および消去変異体を含む。したがって、ワンアーム化中心 s c F v 形式のいくつかの実施形態は、a) 歪曲変異体 S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q、消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l / S 2 6 7 K、および本明細書に概説されるように S S T R 2 に結合する F v を作る、軽鎖の可変軽ドメインと、C D 3 に結合する s c F v ドメインとを有する可変重ドメインを含む第 1 の単量体；b) 歪曲変異体 L 3 6 8 D / K 3 7 0 S、p I 变異体 N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D、消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l / S 2 6 7 K 有する F c ドメインを含む第 2 の単量体；ならびに c) 可変軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む軽鎖を含む。

20

【 0 2 3 3 】

いくつかの実施形態において、ワンアーム化中心 s c F v 形式は、歪曲変異体、p I 变異体、消去変異体、および F c R n 变異体を含む。したがって、ワンアーム化中心 s c F v 形式のいくつかの実施形態は、a) 歪曲変異体 S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q、消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l / S 2 6 7 K、F c R n 变異体 M 4 2 8 L / N 4 3 4 S、および本明細書に概説されるように S S T R 2 に結合する F v を作る、軽鎖の可変軽ドメインと、C D 3 に結合する s c F v ドメインとを有する、可変重ドメインを含む第 1 の単量体；b) 歪曲変異体 L 3 6 8 D / K 3 7 0 S、p I 变異体 N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D、消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l / S 2 6 7 K、および F c R n 变異体 M 4 2 8 L / N 4 3 4 S を有する F c ドメインを含む第 2 の単量体；ならびに c) 可変軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む軽鎖を含む。

30

【 0 2 3 4 】

ワンアーム化中心 s c F v 形式について、特定の用途を見出す C D 3 結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗 C D 3 H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7、抗 C D 3 H 1 . 3 2 _ L 1 . 4 7、抗 C D 3 H 1 . 8 9 _ L 1 . 4 7、抗 C D 3 H 1 . 9 0 _ L 1 . 4 7、抗 C D 3 H 1 . 3 3 _ L 1 . 4 7、および抗 C D 3 H 1 . 3 1 _ L 1 . 4 7、ならびに図 1 2 および 1 3 に示されるものを含む。

40

【 0 2 3 5 】

ワンアーム化中心 s c F v 形式について、特定の使用のうちの S S T R 2 結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗 S S T R 2 H 1 . 1 4 3 _ L 1 . 3 0、抗 S S T R 2 H 1 _ L 1 . 1、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 3 0、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 6 7、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 0 8、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 1、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 4、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 0 2、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 0、抗 S S T R 2 H 1 . 1

50

25_L1.30、抗SSTR2_H1.125_L1.67、抗SSTR2_H1.12
 5_L1.108、抗SSTR2_H1.125_L1.111、抗SSTR2_H1.1
 25_L1.114、抗SSTR2_H1.125_L1.102、および抗SSTR2
 H1.125_L1.10、ならびに図11と15および配列番号68~659に列挙さ
 れるものを持む。

【0236】

ワンアーム化scFv-mAb

本発明において特定の用途を見出す1つのヘテロ二量体骨格は、図1Dに示されるワンアーム化scFv-mAb形式である。この実施形態において、一方の単量体は、Fcドメインのみを含むが、他方の単量体は、リンカー：vh-scFvリンカー-v1-[任意のリンカー]-CH1-ヒンジ-CH2-CH3または(逆の方向付けにおいて)v1-scFvリンカー-vh-[任意のドメインリンカー]-CH1-ヒンジ-CH2-CH3の使用を通常通して、重鎖のN末端で結合されたscFvドメインを使用する。この形式において、Fab部分はそれぞれ、SSTR2に結合し、scFvは、CD3に結合する。この実施形態は、Fabを形成するために重鎖に関連する、可変軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む軽鎖をさらに利用する。本明細書の実施形態の多くについては、これらの構築物は、本明細書において望ましくかつ説明される歪曲変異体、pI変異体、消去変異体、追加のFc変異体などを含む。

10

【0237】

本発明は、CD3結合ドメイン配列が、図12および13、ならびに配列表に示されるとおりであるワンアーム化scFv-mAb形式を提供する。本発明は、SSTR2結合ドメイン配列が、図11および配列表に示されるとおりであるワンアーム化scFv-mAb形式を提供する。ワンアーム化scFv-mAb形式と共に使用するため特に有用なSSTR2およびCD3配列の組み合わせは、図16に開示されている。

20

【0238】

さらに、ワンアーム化scFv-mAb形式のFcドメインは、概して、歪曲変異体(例えば、S364K/E357Q:L368D/K370S、L368D/K370S:S364K、L368E/K370S:S364K、T411T/E360E/Q362E:D401K、L368D/K370S:S364K/E357L、K370S:S364K/E357Q、T366S/L368A/Y407V:T366W、およびT366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354Cからなる群から選択されている特に有用な歪曲変異体を有する、図3および8に示されるようなアミノ酸置換のセット)、任意に消去変異体(図5に示されるものを含む)、任意に荷電scFvリンカー(図7に示されるものを含む)を含み、重鎖は、pI変異体(図4に示されるものを含む)を含む。

30

【0239】

いくつかの実施形態において、ワンアーム化scFv-mAb形式は、歪曲変異体、pI変異体、および消去変異体を含む。したがって、ワンアーム化scFv-mAb形式のいくつかの実施形態は、a)歪曲変異体S364K/E357Q、消去変異体E233P/L234V/L235A/G236de1/S267K、および本明細書に概説されるようにSSTR2に結合するFvを作る、軽鎖の可変軽ドメインと、CD3に結合するscFvドメインとを有する可変重ドメインを含む第1の単量体；b)歪曲変異体L368D/K370S、pI変異体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消去変異体E233P/L234V/L235A/G236de1/S267K有するFcドメインを含む第2の単量体；ならびにc)可変軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む軽鎖を含む。

40

【0240】

いくつかの実施形態において、ワンアーム化scFv-mAb形式は、歪曲変異体、pI変異体、消去変異体、およびFcRn変異体を含む。したがって、ワンアーム化scFv-mAb形式のいくつかの実施形態は、a)歪曲変異体S364K/E357Q、消去変

50

異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K、F c R n 变異体 M 4 2 8 L / N 4 3 4 S、および本明細書に概説されるように S S T R 2 に結合する F v を作る、軽鎖の可変軽ドメインと、C D 3 に結合する s c F v ドメインとを有する、可变重ドメインを含む第1の单量体；b) 歪曲变異体 L 3 6 8 D / K 3 7 0 S、p I 变異体 N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D、消去变異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K、および F c R n 变異体 M 4 2 8 L / N 4 3 4 S を有する F c ドメインを含む第2の单量体；ならびに c) 可变軽ドメインおよび定常軻ドメインを含む軻鎖を含む。

【0241】

ワンアーム化 s c F v - m A b 形式について、特定の用途を見出す C D 3 結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗 C D 3 H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7、抗 C D 3 H 1 . 3 2 _ L 1 . 4 7、抗 C D 3 H 1 . 8 9 _ L 1 . 4 7、抗 C D 3 H 1 . 9 0 _ L 1 . 4 7、抗 C D 3 H 1 . 3 3 _ L 1 . 4 7、および抗 C D 3 H 1 . 3 1 _ L 1 . 4 7、ならびに図12および13に示されるものを含む。

10

【0242】

ワンアーム化 s c F v - m A b 形式について、特定の使用のうちの S S T R 2 結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗 S S T R 2 H 1 . 1 4 3 _ L 1 . 3 0、抗 S S T R 2 H 1 _ L 1 . 1、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 3 0、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 6 7、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 0 8、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 1、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 4、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 0 2、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 0、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 3 0、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 6 7、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 0 8、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 1 1、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 1 4、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 0 2、および抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 0、ならびに図11と15および配列番号68～659に列挙されるものを含む。

20

【0243】

s c F v - m A b

本発明において特定の用途を見出す1つのヘテロ二量体骨格は、図1Eに示される m A b - s c F v 形式である。この実施形態において、形式は、单量体のうちの1つに対する s c F v のN末端結合の使用に依存し、したがって、第3の抗原結合ドメインを形成し、2つの单量体の F a b 部分は、S S T R 2 に結合し、「余分な」 s c F v ドメインは、C D 3 に結合する。

30

【0244】

この実施形態において、第1の单量体は、いずれかの方向付け ((v h 1 - s c F v リンカー - v 1 1 - [任意のドメインリンカー] - v h 2 - C H 1 - ヒンジ - C H 2 - C H 3) または (逆の方向付けにおいて s c F v を有する) ((v 1 1 - s c F v リンカー - v h 1 - [任意のドメインリンカー] - v h 2 - C H 1 - ヒンジ - C H 2 - C H 3)) において s c F v 可变軻ドメイン、s c F v リンカー、および s c F v 可变重ドメインを含む N末端共有結合された s c F v を有する、第1の重鎖(可变重ドメインおよび定常ドメインを含む)を含む。この実施形態は、S S T R 2 に結合する2つの同一 F a b を形成するために重鎖に関連する、可变軻ドメインおよび定常軻ドメインを含む共通の軻鎖をさらに利用する。本明細書の実施形態の多くについては、これらの構築物には、本明細書で所望され説明される歪曲变異体、p I 变異体、消去变異体、追加の F c 变異体などが含まれる。

40

【0245】

本発明は、C D 3 結合ドメイン配列が、図12および13、ならびに配列表に示されるおりである s c F v - m A b 形式を提供する。本発明は、S S T R 2 結合ドメイン配列が、図11および配列表に示されるとおりである s c F v - m A b 形式を提供する。s c F v - m A b 形式と共に使用するための特に有用な S S T R 2 および C D 3 配列の組み合わせは、図16に開示されている。

50

【0246】

さらに、 $s\ c\ F\ v\ - m\ A\ b$ 形式の $F\ c$ ドメインは、概して、歪曲変異体（例えば、S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S, L 3 6 8 D / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K, L 3 6 8 E / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K, T 4 1 1 T / E 3 6 0 E / Q 3 6 2 E : D 4 0 1 K, L 3 6 8 D / K 3 7 0 S : S 3 6 4 K / E 3 5 7 L, K 3 7 0 S : S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q, T 3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V : T 3 6 6 W, および T 3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V / Y 3 4 9 C : T 3 6 6 W / S 3 5 4 C からなる群から選択されている特に有用な歪曲変異体を有する、図 3 および 8 に示されるようなアミノ酸置換のセット）、任意に消去変異体（図 5 に示されるものを含む）、任意に荷電 $s\ c\ F\ v$ リンカー（図 7 に示されるものを含む）を含み、重鎖は、 $p\ I$ 変異体（図 4 に示されるものを含む）を含む。

10

【0247】

いくつかの実施形態において、 $s\ c\ F\ v\ - m\ A\ b$ 形式は、歪曲変異体、 $p\ I$ 変異体、および消去変異体を含む。したがって、いくつかの実施形態は、a) 歪曲変異体 S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q、消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K、および本明細書に概説されるように S S T R 2 に結合する $F\ v$ を作る、共通の軽鎖の可変軽ドメインと、C D 3 に結合する $s\ c\ F\ v$ ドメインとを有する可変重ドメインを含む第 1 の単量体；b) 歪曲変異体 L 3 6 8 D / K 3 7 0 S、 $p\ I$ 変異体 N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D、消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K、および本明細書に概説されるように S S T R 2 に結合する $F\ v$ を作る、共通の軽鎖の可変軽ドメインを有する可変重ドメインを含む第 2 の単量体；ならびに c) 可変軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む共通の軽鎖を含む $s\ c\ F\ v\ - m\ A\ b$ 形式を含む。

20

【0248】

いくつかの実施形態において、 $s\ c\ F\ v\ - m\ A\ b$ 形式は、歪曲変異体、 $p\ I$ 変異体、消去変異体、および $F\ c\ R\ n$ 変異体を含む。したがって、いくつかの実施形態は、a) 歪曲変異体 S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q、消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K、 $F\ c\ R\ n$ 変異体 M 4 2 8 L / N 4 3 4 S、および本明細書に概説されるように S S T R 2 に結合する $F\ v$ を作る、共通の軽鎖の可変軽ドメインと、C D 3 に結合する $s\ c\ F\ v$ ドメインとを有する可変重ドメインを含む第 1 の単量体；b) 歪曲変異体 L 3 6 8 D / K 3 7 0 S、 $p\ I$ 変異体 N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D、消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e 1 / S 2 6 7 K、 $F\ c\ R\ n$ 変異体 M 4 2 8 L / N 4 3 4 S、および本明細書に概説されるように S S T R 2 に結合する $F\ v$ を作る、共通の軽鎖の可変軽ドメインを有する可変重ドメインを含む第 2 の単量体；および c) 可変軽ドメインおよび定常軽ドメインを含む共通の軽鎖を含む $s\ c\ F\ v\ - m\ A\ b$ 形式を含む。

30

【0249】

図 1 0 の $m\ A\ b\ - s\ c\ F\ v$ 形式骨格 1（任意に、M 4 2 8 L / N 4 3 4 S を含む）について、特定の用途を見出す C D 3 結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗 C D 3 H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7、抗 C D 3 H 1 . 3 2 _ L 1 . 4 7、抗 C D 3 H 1 . 8 9 _ L 1 . 4 7、抗 C D 3 H 1 . 9 0 _ L 1 . 4 7、抗 C D 3 H 1 . 3 3 _ L 1 . 4 7、および抗 C D 3 H 1 . 3 1 _ L 1 . 4 7、ならびに図 1 2 および 1 3 に示されるものを含む。

40

【0250】

図 1 0 の $m\ A\ b\ - s\ c\ F\ v$ 形式骨格 1（任意に、M 4 2 8 L / N 4 3 4 S 含む）について、特定の使用のうちの S S T R 2 結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗 S S T R 2 H 1 . 1 4 3 _ L 1 . 3 0、抗 S S T R 2 H 1 _ L 1 . 1、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 3 0、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 6 7、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 0 8、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 1、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 4、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 0 2、抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 1 0、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 3 0、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 6 7、抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 0 8、抗 S S T R 2 H

50

1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 1 1 、 抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 1 4 、 抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 0 2 、 および 抗 S S T R 2 H 1 . 1 2 5 _ L 1 . 1 0 、 ならびに 図 1 1 と 1 5 および 配列番号 6 8 ~ 6 5 9 に 列挙されるものを 含む。

【 0 2 5 1 】

二重 s c F v 形式

本発明はまた、当該技術分野で既知であり、図 1 B に示されるような二重 s c F v 形式を提供する。この実施形態において、S S T R 2 × C D 3 ヘテロ二量体二重特異性抗体は、2 つの s c F v - F c 単量体から構成されている（両方が、(v h - s c F v リンカー - v 1 - [任意のドメインリンカー] - C H 2 - C H 3) 形式もしくは (v 1 - s c F v リンカー - v h - [任意のドメインリンカー] - C H 2 - C H 3) 形式のいずれかであるか、または一方の単量体が一方の方向付けにあり、他方の単量体がもう一方の方向付けにある。 10

【 0 2 5 2 】

本発明は、C D 3 結合ドメイン配列が、図 1 2 および 1 3 、 ならびに 配列表に示されるおりである二重 s c F v 形式を提供する。本発明は、S S T R 2 結合ドメイン配列が、図 1 1 および 配列表に示される二重 s c F v 形式を提供する。二重 s c F v 形式と共に 使用するため特に有用な S S T R 2 および C D 3 配列の組み合わせは、図 1 6 に開示されている。

【 0 2 5 3 】

いくつかの実施形態において、二重 s c F v 形式は、歪曲変異体、p I 变異体、および 消去変異体を含む。したがって、いくつかの実施形態は、a) 歪曲変異体 S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q 、 消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l / S 2 6 7 K 、 および C D 3 または S S T R 2 のいずれかに結合する第 1 の s c F v を含む第 1 の 単量体； ならびに b) 歪曲変異体 L 3 6 8 D / K 3 7 0 S 、 p I 变異体 N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D 、 消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l / S 2 6 7 K 、 および C D 3 または S S T R 2 のいずれかに結合する第 2 の s c F v を含む第 2 の 单量体を含む二重 s c F v 形式を含む。 20

【 0 2 5 4 】

いくつかの実施形態において、二重 s c F v 形式は、歪曲変異体、p I 变異体、消去変異体、および F c R n 变異体を含む。いくつかの実施形態において、二重 s c F v 形式は、歪曲変異体、p I 变異体、および 消去変異体を含む。したがって、いくつかの実施形態は、a) 歪曲変異体 S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q 、 消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l / S 2 6 7 K 、 F c R n 变異体 M 4 2 8 L / N 4 3 4 S 、 および C D 3 または S S T R 2 のいずれかに結合する第 1 の s c F v を含む第 1 の 单量体； ならびに b) 歪曲変異体 L 3 6 8 D / K 3 7 0 S 、 p I 变異体 N 2 0 8 D / Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D 、 消去変異体 E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l / S 2 6 7 K 、 F c R n 变異体 M 4 2 8 L / N 4 3 4 S 、 および C D 3 または S S T R 2 のいずれかに結合する第 2 の s c F v を含む第 2 の 单量体を含む二重 s c F v 形式を含む。 30

【 0 2 5 5 】

二重 s c F v 形式について、特定の用途を見出す C D 3 結合ドメイン配列は、これらに 限定されないが、抗 C D 3 H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7 、 抗 C D 3 H 1 . 3 2 _ L 1 . 4 7 、 抗 C D 3 H 1 . 8 9 _ L 1 . 4 7 、 抗 C D 3 H 1 . 9 0 _ L 1 . 4 7 、 抗 C D 3 H 1 . 3 3 _ L 1 . 4 7 、 および 抗 C D 3 H 1 . 3 1 _ L 1 . 4 7 、 ならびに 図 1 2 および 1 3 に 示されるものを 含む。 40

【 0 2 5 6 】

二重 s c F v 形式について、特定の使用のうちの S S T R 2 結合ドメイン配列は、これらに 限定されないが、抗 S S T R 2 H 1 . 1 4 3 _ L 1 . 3 0 、 抗 S S T R 2 H 1 _ L 1 . 1 、 抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 3 0 、 抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 6 7 、 抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 0 8 、 抗 S S T R 2 H 1 . 1 0 7 _ L 1 . 1 50

11、抗SSTR2_H1.107_L1.114、抗SSTR2_H1.107_L1.
 102、抗SSTR2_H1.107_L1.110、抗SSTR2_H1.125_L1.
 .30、抗SSTR2_H1.125_L1.67、抗SSTR2_H1.125_L1.
 108、抗SSTR2_H1.125_L1.111、抗SSTR2_H1.125_L1.
 .114、抗SSTR2_H1.125_L1.102、および抗SSTR2_H1.12
 5_L1.10、ならびに図11と15および配列番号68～659に列挙されるものを
 含む。

【0257】

单一特異性、モノクローナル抗体

当業者によって理解されるように、本明細書に概説される新規のFv配列はまた、单一特異性抗体（例えば、「伝統的なモノクローナル抗体」）または非ヘテロ二量体二重特異性形式の両方において使用され得る。したがって、本発明は、概してIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4定常領域を有する、6つのCDRならびに／またはvhおよびv1配列を含むモノクローナル（单一特異性）抗体を提供し、IgG1、IgG2、およびIgG4（S228Pアミノ酸置換を含むIgG4定常領域を含む）は、いくつかの実施形態において特定の用途を見出す。すなわち、「H_L」名称を有する本明細書における任意の配列は、ヒトIgG1抗体の定常領域に連結され得る。

10

【0258】

I. 標的抗原に対する抗原結合ドメイン

本発明の二重特異性抗体は、概して図1に示されるように、2価の、二重特異性形式または3価の、二重特異性形式のいずれかにおいて、2つの異なる標的チェックポイント抗原（「標的対」）に結合する2つの異なる抗原結合ドメイン（ABD）を有する。概して、これらの二重特異性抗体が、各対について「抗SSTR2X抗CD3」、または概して単純化してもしくは簡略化のために（およびしたがって交換可能に）「SSTR2XCD3」などとして名付けられることに留意されたい。本明細書において特に指定のない限り、名称における抗原の一覧の順序は、構造を授与せず、すなわち、SSTR2XCD3栓抜き抗体は、SSTR2またはCD3に結合するscFvを有し得るが、いくつかの場合において、順序は示されるように構造を指定する。

20

【0259】

本明細書により完全に概説されるように、ABDのこれらの組み合わせは、様々な形式内にあり得、以下に概説されるように、概して、一方のABDがFab形式にあり、他方がscFv形式にある組み合わせである。本明細書に論じられ、図1に示されるように、いくつかの形式は、单一のFabおよび单一のscFv（図1A、C、およびD）を使用し、いくつかの形式は、2つのFabおよび单一のscFv（図1E、F、およびI）を使用する。

30

【0260】

抗原結合ドメイン

本明細書に論じられるように、主題のヘテロ二量体抗体は、2つの抗原結合ドメインを（ABD）を含み、それら各々は、SSTR2またはCD3に結合する。本明細書に概説されるように、これらのヘテロ二量体抗体は、二重特異性および2価（各抗原は、例えば、図1Aに示される形式において、单一のABDによって結合される）、または二重特異性および3価（一方の抗原は、例えば、図1Fに示されるように、单一のABDによって結合され、他方は、2つのABDによって結合される）であり得る。

40

【0261】

さらに、概して、ABDのうちの一方は、vh-scFvリンカー-v1またはv1-scFvリンカー-vhのN末端からC末端への方向付けにおいて、本明細書に概説されるようにscFvを含む。他方のABDのうちの一方または両方は、形式に従って、概して、1つのタンパク質鎖（概して、重鎖の構成要素として）上のvhドメインと、別のタンパク質鎖（概して、軽鎖の構成要素として）上のv1とを含むFabである。

【0262】

50

本発明は、以下に概説されるとおり、多くの異なるチェックポイントタンパク質に結合する多くのA B Dを提供する。当業者に理解されるように、6つのC D Rまたはv hおよびv 1ドメインの任意のセットは、s c F v形式またはF a b形式にあり得、それは、次いで、重定常ドメインが変異体（C H 1ドメインおよびF c ドメイン内に含む）を含む重定常ドメインおよび軽定常ドメインに追加される。配列表中に含まれるs c F v配列は、特定の荷電リンカーを利用するが、本明細書に概説されるように、非荷電または他の荷電リンカーが使用され得、図7に示されるものを含む。

【0263】

さらに、上記に論じられるように、C D Rの識別のために配列表中で使用される番号付けは、K a b a tであるが、しかしながら、異なる番号付けが使用され得、それは、表1に示されるようにC D Rのアミノ酸配列を変更するであろう。

10

【0264】

本明細書に列挙されるすべての可変重ドメインおよび可変軽ドメインについて、さらなる変異体が作製され得る。本明細書に概説されるように、いくつかの実施形態において、6つのC D Rのセットは、0、1、2、3、4、または5つのアミノ酸修飾（特定の用途を見出すアミノ酸置換を有する）、ならびにフレームワーク（C D Rを除く）が、米国特許第7,657,380号の図1に列挙されるものから選択されたヒト生殖細胞系配列に対して少なくとも約80、85、または90%の同一性を保持する限り、可変重ドメインおよび可変軽ドメインのフレームワーク領域において変化を有し得、当該参考文献のその図および説明文は、本明細書にその全体において参照により組み込まれる。したがって、例えば、本明細書に説明されるように同一C D Rは、フレームワーク領域が、米国特許第7,657,380号の図1に列挙されるものから選択されたヒト生殖細胞系配列に対して少なくとも約80、85、または90%の同一性を保持する限り、ヒト生殖細胞系配列とは異なるフレームワーク配列と組み合わされ得る。代替的に、C D Rは、アミノ酸修飾（例えば、C D Rのセットにおいて1、2、3、4、または5つのアミノ酸修飾（すなわち、C D Rは、6つのC D Rのセットにおける変化の総数が6つ未満のアミノ酸修飾である限り修飾され得、C D Rの任意の組み合わせが変化され、例えば、v 1 C D R 1に1つの変化、v h C D R 2に2つの変化があり得、v h C D R 3には存在しないなど））を有し得、ならびにフレームワーク領域が、米国特許第7,657,380号の図1に列挙されるものから選択されたヒト生殖細胞系配列に対して少なくとも約80、85、または90%の同一性を保持する限り、フレームワーク領域の変化を有する。

20

【0265】

S S T R 2 抗原結合ドメイン

いくつかの実施形態において、A B Dのうちの1つは、S S T R 2に結合する。6つのC D Rならびに/またはv hおよびv 1ドメイン、ならびにs c F v配列の好適なセットは、図11および配列表に示される。特定の使用のうちのS S T R 2結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗S S T R 2_H 1 . 1 4 3 _L 1 . 3 0、抗S S T R 2_H 1 _L 1 . 1 、抗S S T R 2_H 1 . 1 0 7 _L 1 . 3 0、抗S S T R 2_H 1 . 1 0 7 _L 1 . 6 7 、抗S S T R 2_H 1 . 1 0 7 _L 1 . 1 0 8 、抗S S T R 2_H 1 . 1 0 7 _L 1 . 1 1 1 、抗S S T R 2_H 1 . 1 0 7 _L 1 . 1 1 4 、抗S S T R 2_H 1 . 1 0 7 _L 1 . 1 0 2 、抗S S T R 2_H 1 . 1 0 7 _L 1 . 1 1 0 、抗S S T R 2_H 1 . 1 2 5 _L 1 . 3 0 、抗S S T R 2_H 1 . 1 2 5 _L 1 . 6 7 、抗S S T R 2_H 1 . 1 2 5 _L 1 . 1 0 8 、抗S S T R 2_H 1 . 1 2 5 _L 1 . 1 1 1 、抗S S T R 2_H 1 . 1 2 5 _L 1 . 1 1 4 、抗S S T R 2_H 1 . 1 2 5 _L 1 . 1 0 2 、および抗S S T R 2_H 1 . 1 2 5 _L 1 . 1 0 、ならびに図11と15および配列番号6 8 ~ 6 5 9に列挙されるものを含む。

40

【0266】

当業者によって理解されるように、好適なS S T R 2結合ドメインは、配列表および図に示されるように6つのC D Rのセットを含み得、それらは下線が引かれてあるか、または、異なる番号付けスキームが、本明細書に説明され、表1に示されるように使用される場

50

合、図11に示されるもののvhおよびv1配列内で他のアラインメントを使用して識別されるCDRとしてのいずれかである。好適なABDはまた、scFvとしてまたはFabとして使用される、これらの配列および図に示されるように、vhおよびv1配列全体を含み得る。FvをSSTR2に含む本明細書の実施形態の多くにおいて、SSTR2に結合するのは、Fab単量体である。

【0267】

ABDをSSTR2に形成する図および配列表に開示される親CDRセットに加えて、本発明は、変異体CDRセットを提供する。一実施形態において、6つのCDRのセットは、SSTR2 ABDが依然として標的抗原に結合することができる限り、ビアコア(Biaacore)、表面プラズモン共鳴法(SPR)、および/またはBLI(バイオレイヤー干渉法、例えば、オクテット(Octet)アッセイ)アッセイのうちの少なくとも1つによって測定される場合、親CDRからの1、2、3、4、または5つのアミノ酸変化を有し得、BLIでは多くの実施形態において特定の用途を見出す。10

【0268】

ABDをSSTR2に形成する、本明細書に開示される親可変重および可変軽ドメインに加えて、本発明は、変異体vhおよびv1ドメインを提供する。一実施形態において、変異体vhおよびv1ドメインそれぞれは、ABDが依然として標的抗原に結合することができる限り、ビアコア(Biaacore)、表面プラズモン共鳴法(SPR)、および/またはBLI(バイオレイヤー干渉法、例えば、オクテット(Octet)アッセイ)アッセイのうちの少なくとも1つによって測定される場合、親vhおよびv1ドメインからの1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のアミノ酸変化を有し得、BLIでは多くの実施形態において特定の用途を見出す。別の実施形態において、変異体vhおよびv1は、ABDが依然として標的抗原に結合することができる限り、ビアコア(Biaacore)、表面プラズモン共鳴法(SPR)、および/またはBLI(バイオレイヤー干渉法、例えば、オクテット(Octet)アッセイ)アッセイのうちの少なくとも1つによって測定される場合、それぞれの親vhまたはv1と少なくとも90、95、97、98、または99%同一であり、BLIでは多くの実施形態において特定の用途を見出す。20

【0269】

特定の好ましい実施形態は、「Fab」として、図9の栓抜き形式骨格のうちのいずれかに含まれる、H1.143_L1.30 SSTR2抗原結合ドメインを含む。30

【0270】

CD3抗原結合ドメイン

いくつかの実施形態において、ABDのうちの1つは、CD3に結合する。6つのCDRならびに/またはvhおよびv1ドメイン、ならびにscFv配列の好適なセットは、図12および13、ならびに配列表に示される。特定の使用のうちのCD3結合ドメイン配列は、これらに限定されないが、抗CD3_H1.30_L1.47、抗CD3_H1.32_L1.47、抗CD3_H1.89_L1.47、抗CD3_H1.90_L1.47、抗CD3_H1.33_L1.47、および抗CD3_H1.31_L1.47、ならびに図12および13に示されるものを含む。40

【0271】

当業者によって理解されるように、好適なCD3結合ドメインは、配列表および図に示されるように6つのCDRのセットを含み得、それらは下線が引かれてあるか、または図11に示されるもののvhおよびv1配列内で他のアラインメントを使用して識別されるCDRとして、異なる番号付けスキームが、本明細書に説明され、表1に示されるように使用される場合においてのいずれかである。好適なABDはまた、scFvとしてまたはFabとして使用される、これらの配列および図に示されるように、vhおよびv1配列全体を含み得る。FvをCD3に含む本明細書の実施形態の多くにおいて、CD3に結合するのは、Fab単量体である。

【0272】

10

20

30

40

50

A B D を C D 3 に形成する図および配列表に開示される親 C D R セットに加えて、本発明は、変異体 C D R セットを提供する。一実施形態において、6つのC D R のセットは、C D 3 A B D が依然として標的抗原に結合することができる限り、ピアコア (B i a c o r e)、表面プラズモン共鳴法 (S P R)、および／またはB L I (バイオレイヤー干渉法、例えば、オクテット (O c t e t) アッセイ) アッセイのうちの少なくとも1つによって測定される場合、親 C D R からの1、2、3、4、または5つのアミノ酸変化を有し得、B L I では多くの実施形態において特定の用途を見出す。

【0273】

A B D を C D 3 に形成する、本明細書に開示される親可変重および可変軽ドメインに加えて、本発明は、変異体 v h および v l ドメインを提供する。一実施形態において、変異体 v h および v l ドメインそれぞれは、A B D が依然として標的抗原に結合することができる限り、ピアコア (B i a c o r e)、表面プラズモン共鳴法 (S P R)、および／またはB L I (バイオレイヤー干渉法、例えば、オクテット (O c t e t) アッセイ) アッセイのうちの少なくとも1つによって測定される場合、親 v h および v l ドメインからの1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のアミノ酸変化を有し得、B L I では多くの実施形態において特定の用途を見出す。別の実施形態において、変異体 v h および v l は、A B D が依然として標的抗原に結合することができる限り、ピアコア (B i a c o r e)、表面プラズモン共鳴法 (S P R)、および／またはB L I (バイオレイヤー干渉法、例えば、オクテット (O c t e t) アッセイ) アッセイのうちの少なくとも1つによって測定される場合、それぞれの親 v h または v l と少なくとも90、95、97、98、または99%同一であり、B L I では多くの実施形態において特定の用途を見出す。

10

【0274】

特定の好ましい実施形態は、「F a b」として、図9の栓抜き形式骨格のうちのいずれかに含まれる、H 1 . 3 0 _ L 1 . 4 7 C D 3 抗原結合ドメインを含む。

【0275】

J . 有用な実施形態

一実施形態において、本発明において用途を見出す歪曲変異体および p I 変異体の特定の組み合わせは、一方の単量体が、Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 8 1 D を含み、他方が、正に荷電された s c F v リンカーを含む（形式が s c F v ドメインを含むとき）、T 3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V : T 3 6 6 W (任意に、結合ジスルフィド、T 3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V / Y 3 4 9 C : T 3 6 6 W / S 3 5 4 C を含む)。当業者に理解されるように、「ノブインホール」変異体は、p I を変化させず、したがって、いずれかの単量体上で使用され得る。

30

【0276】

K . 本発明の核酸

本発明は、これらに限定されないが、抗 S S T R 2 × 抗 C D 3 二重特異性抗体および S S T R 2 単一特異性抗体を含む、本明細書に提供される抗 S S T R 2 抗体をコードする核酸組成物をさらに含む。

【0277】

当業者によって理解されるように、核酸組成物は、ヘテロ二量体タンパク質の形式および骨格に依存するであろう。したがって、例えば、形式が、三重 F 形式などのために3つのアミノ酸配列を必要とするとき（例えば、F c ドメインおよび s c F v を含む第1のアミノ酸単量体、重鎖および軽鎖を含む第2のアミノ酸単量体）、3つの核酸配列は、発現のための1つ以上の発現ベクターに組み込まれ得る。同様に、いくつかの形式（例えば、図1に開示されるものなどの二重 s c F v 形式）2つの核酸のみが必要とされ、さらに、それらは、1つまたは2つの発現ベクターに加えられ得る。

40

【0278】

当該技術分野で既知であるように、本発明の構成要素をコードする核酸は、本発明のヘテロ二量体抗体を產生するために使用される宿主細胞に依存して、当該技術分野で既知のような発現ベクターに組み込まれ得る。概して、核酸は、任意の数の制御要素（プロモータ

50

一、複製の起源、選択可能なマーカー、リボソーム結合部位、誘導物質など)に操作可能に連結される。発現ベクターは、外部染色体または組み込みベクターであり得る。

【0279】

本発明の核酸および/または発現ベクターは、次いで、哺乳類、細菌、酵母菌、昆虫、および/または真菌細胞を含む当該技術分野で周知のような任意の数の異なる型の宿主細胞に転換され、哺乳細胞(例えば、CHO細胞)は、多くの実施形態において用途を見出す。

【0280】

いくつかの実施形態において、形式に応じて適用可能であるように、各単量体をコードする核酸および軽鎖をコードする任意の核酸は、概して、異なるまたは同一のプロモーター制御下で、単一の発現ベクター内でそれぞれ含まれる。本発明の特定使用の実施形態では、これらの2つまたは3つの核酸のそれぞれは、異なる発現ベクター上に含有される。本明細書により本明細書によって組み込まれる第62/025, 931号に示されるように、異なるベクターの比は、ヘテロ二量体形成を誘起するために使用され得る。すなわち、驚くべきことに、タンパク質が、1:1:2の比で第1の単量体:第2の単量体:軽鎖(ヘテロ二量体抗体を含む3つのポリペプチドを有する本明細書の実施形態の多くの場合において)を含むが、これらは、最良の結果をもたらす比ではない。

10

【0281】

本発明のヘテロ二量体抗体は、当該技術分野において周知である発現ベクター(複数可)を含む宿主細胞を培養することによって作製される。一旦產生されると、イオン交換クロマトグラフィーステップを含む伝統的な抗体精製ステップが行われる。本明細書に論じられるように、2つの単量体のpIを少なくとも0.5異なるようにすることで、イオン交換クロマトグラフィーもしくは等電点電気泳動、または等電点感受性の他の方法によっての分離が可能にし得る。すなわち、各単量体の等電点(pI)を変化させるpI置換の包含は、そのため、各単量体が異なるpIを有し、ヘテロ二量体もまた異なるpIを有するように、したがって、「三重F」ヘテロ二量体の等電精製を容易にする(例えば、アニオニン性交換カラム、カチオン性交換カラム)。これらの置換はまた、任意の混入二重scFv-Fcホモ二量体およびmA bホモ二量体の、精製後の判定および監視においても役に立つ(例えば、IEFゲル、cIEF、および分析IEFカラム)。

20

【0282】

L. ヘテロ二量体チェックポイント抗体の生物学的および生化学的機能性

30

概して、本発明の二重特異性SSTR2 \times CD3抗体は、癌を有する患者に等投与され、本明細書に説明されるような多くの方法で、有効性が評価される。したがって、癌負荷、腫瘍のサイズ、転移の存在または範囲の評価など、有効性の標準アッセイが行われる一方で、癌免疫治療法もまた、免疫状態の評価に基づいて評価され得る。これは、インビトロおよびインビオアッセイの両方を含む多くの方法で行われ得る。例えば、腫瘍量、腫瘍サイズ、侵襲性、リンパ節転移、転移などの「旧式」の測定法に沿った免疫状態(例えば、i.p.i治療後のICOS+CD4+T細胞の存在)における変化の評価は、行われ得る。したがって、以下のうちのいずれかまたはすべては評価され得る: CD4+T細胞活性化もしくは増殖、CD8+T(CTL)細胞活性化もしくは増殖、CD8+T細胞媒介細胞傷害性活性、ならびに/またはCTL媒介細胞の欠乏、NK細胞活性およびNK媒介細胞の欠乏におけるチェックポイントの抑制性効果。

40

【0283】

いくつかの実施形態において、治療の評価は、例えば、CFSE希釈法、免疫エフェクター細胞のKi67細胞内染色、および3H-チミジン取り込み法を使用して、免疫細胞増殖を評価することによって行われる。

【0284】

いくつかの実施形態において、治療の評価は、CD25、CD69、CD137、ICOS、PD1、GITR、OX40のうちの1つ以上、およびCD107Aの表面発現によって測定される細胞脱顆粒を含む、遺伝子発現の増加または活性か関連マーカーのタンパク質レベルの増加を評価することによって行われる。

50

【0285】

概して、遺伝子発現アッセイは、当該技術分野において既知のとおりに行われる。

【0286】

概して、遺伝子発現測定はまた、当該技術分野において既知のとおりに同様に行われる。

【0287】

いくつかの実施形態において、治療の評価は、酵素活性（プロテアーゼ活性を含む）、細胞膜透過性、細胞接着、ATP産生、共酵素生成、およびヌクレオチド取り込み活性などの多数の細胞パラメータを推定することを介して、標的細胞生存率検出により測定される細胞傷害性活性を評価することによって行われる。これらのアッセイの特定の例には、これらに限定されないが、トリパンブルーまたはPI染色、51Crまたは35S放出方法、LDH活性、MTTおよび/またはWSTアッセイ、カルセインAMアッセイ、発光に基づくアッセイなどが挙げられる。

10

【0288】

いくつかの実施形態において、治療の評価は、周知の技術を使用して、これらに限定されないが、IFN、TNF、GM-CSF、IL2、IL6、IL4、IL5、IL10、IL13を含むサイトカインを使用して培養上清中に細胞内にいずれかを測定する、サイトカイン産生によって測定されるT細胞活性を評価することによって行われる。

【0289】

したがって、治療の評価は、以下、(i)免疫反応の増加、(ii)および/またはT細胞の活性化の増加、(iii)細胞傷害性T細胞活性の増加、(iv)NKおよび/またはNK T細胞活性の増加、(v)および/またはT細胞抑制の緩和、(vi)炎症誘発性サイトカイン分泌の増加、(vii)IL-2分泌の増加、(viii)インターフェロン

20

Y

産生の増加、(ix)Th1反応の増加、(x)Th2反応の減少、(xi)制御T細胞(Tregs)のうちの少なくとも1つの細胞数および/または活性の減少または除去のうちの1つ以上を評価するアッセイを使用して行われ得る。

【0290】

有効性を測定するためのアッセイ

30

いくつかの実施形態において、T細胞は、当該技術分野で既知のような混合リンパ球反応(MLR)アッセイを使用して評価される。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

【0291】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、異なる要因のリン酸化もしくは脱リン酸化による、または他の翻訳修飾後に測定することによる例のために測定されるように、免疫反応の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

【0292】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例としてサイトカイン分泌によって、または増殖によって、または例としてCD137、CD107a、PD1などの活性化マーカーの発現における変化によって測定されるようにおよび/またはT細胞の活性化の増加もしくは減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

40

【0293】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例として癌細胞などの標的細胞の直接殺傷によって、またはサイトカイン分泌によって、または増殖によって、または例としてCD137、CD107a、PD1などの活性化マーカーの発現における変化によって測定されるように、細胞傷害性T細胞の活性化の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

50

【 0 2 9 4 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例として癌細胞などの標的細胞の直接殺傷によって、またはサイトカイン分泌によって、または例として C D 1 0 7 a などの活性化マーカーの発現における変化によって測定されるように、N K および / または N K T 細胞活性の増加もしくは減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

【 0 2 9 5 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例としてサイトカイン分泌によって、または増殖によって、または例として C D 1 3 7 、 C D 1 0 7 a 、 P D 1 などの活性化マーカーの発現における変化によって測定されるように、 および / または T 細胞抑制の増加もしくは減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

10

【 0 2 9 6 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例えば、 E L I S A によって、またはルミネックスによって、または多重ビーズに基づく方法によって、または細胞内染色および F A C S 分析によって、または A l i s p o t などによって測定されるように、炎症誘発性サイトカイン分泌の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

【 0 2 9 7 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例えば、 E L I S A によって、またはルミネックスによって、または多重ビーズに基づく方法によって、または細胞内染色および F A C S 分析によって、または A l i s p o t などによって測定されるように、 I L - 2 分泌の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

20

【 0 2 9 8 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例えば、 E L I S A によって、またはルミネックスによって、または多重ビーズに基づく方法、または細胞内染色および F A C S 分析によって、または A l i s p o t などによって測定されるように、インターフェロン産生の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

30

【 0 2 9 9 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例としてサイトカイン分泌によって、または活性化マーカーの発現における変化によって測定されるように、 T h 1 反応の増加もしくは減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

【 0 3 0 0 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例としてサイトカイン分泌によって、または活性化マーカーの発現における変化によって測定されるように、 T h 2 反応の増加もしくは減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

40

【 0 3 0 1 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例えば、フローサイトメトリーによって、または I H C によって測定されるように、抑制 T 細胞 (T r e g) のうちの少なくとも 1 つの細胞数および / もしくは活性の増加または減少を測定する。反応の減少は、免疫刺激活性を示す。適切な減少は、以下に概説される、増加と同じである。

【 0 3 0 2 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例えば、フローサイトメトリーによって、または I H C によって測定されるように、 M 2 マクロファージ細胞数の増加または減少を測定する。反応の減少は、免疫刺激活性を示す。適切な減少は、以下に概説される、増加と同じである。

50

【 0 3 0 3 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例としてサイトカイン分泌によって、または活性化マーカーの発現における変化によって測定されるように、M 2 マクロファージ腫瘍形成促進活性の増加または減少を測定する。反応の減少は、免疫刺激活性を示す。適切な減少は、以下に概説される、増加と同じである。

【 0 3 0 4 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例えば、フローサイトメトリーによって、またはI H C によって測定されるように、N 2 好中球增加の増加または減少を測定する。反応の減少は、免疫刺激活性を示す。適切な減少は、以下に概説される、増加と同じである。

10

【 0 3 0 5 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例としてサイトカイン分泌によって、または活性化マーカーの発現における変化によって測定されるように、N 2 好中球腫瘍形成促進活性の増加または減少を測定する。反応の減少は、免疫刺激活性を示す。適切な減少は、以下に概説される、増加と同じである。

【 0 3 0 6 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例としてサイトカイン分泌によって、または増殖によって、または例としてC D 1 3 7、C D 1 0 7 a、P D 1などの活性化マーカーの発現における変化によって測定されるように、T 細胞活性化の抑制の増加もしくは減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

20

【 0 3 0 7 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例として癌細胞などの標的細胞の直接殺傷によって、またはサイトカイン分泌によって、または増殖によって、または例としてC D 1 3 7、C D 1 0 7 a、P D 1などの活性化マーカーの発現における変化によって測定されるように、C T L 活性化の抑制の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

【 0 3 0 8 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例として活性化マーカーの発現における変化によって測定されるように、および／もしくは T 細胞の疲弊の増加または減少を測定する。反応の減少は、免疫刺激活性を示す。適切な減少は、以下に概説される、増加と同じである。

30

【 0 3 0 9 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例としてサイトカイン分泌によって、または増殖によって、または例としてC D 1 3 7、C D 1 0 7 a、P D 1などの活性化マーカーの発現における変化によって測定されるように、および／または T 細胞反応の増加もしくは減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

【 0 3 1 0 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例としてサイトカイン分泌によって、または増殖によって、または例としてC D 4 5 R A、C C R 7などの活性化マーカーの発現における変化によって測定されるように、抗原特異性メモリー反応の刺激の増加もしくは減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

40

【 0 3 1 1 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例として、例えばM T T、C r 放出、カルセインA Mなどの細胞傷害性アッセイによって、または例としてC F S E 希釈もしくはヨウ化プロピジウム染色などのフローサイトメトリーに基づくアッセイによって測定されるように、癌細胞の細胞死もしくは溶解の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

50

【 0 3 1 2 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例として、例えばMTT、Cr放出、カルセインAMなどの細胞傷害性アッセイによって、または例としてCFSE希釈もしくはヨウ化プロピジウム染色などのフローサイトメトリーに基づくアッセイによって測定されるように、癌細胞への細胞傷害性もしくは細胞増殖抑止効果の刺激の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

【 0 3 1 3 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例として、例えばMTT、Cr放出、カルセインAMなどの細胞傷害性アッセイによって、または例としてCFSE希釈もしくはヨウ化プロピジウム染色などのフローサイトメトリーに基づくアッセイによって測定されるように、癌細胞の直接殺傷の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

10

【 0 3 1 4 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例としてサイトカイン分泌によって、または活性化マーカーの発現における変化によって測定されるように、Th17活性の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

【 0 3 1 5 】

一実施形態において、シグナル経路アッセイは、例として、例えばMTT、Cr放出、カルセインAMなどの細胞傷害性アッセイによって、または例としてCFSE希釈もしくはヨウ化プロピジウム染色などのフローサイトメトリーに基づくアッセイによって測定されるように、保体依存性細胞傷害性および／もしくは抗体依存性細胞媒介細胞傷害性の導入の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加は、以下に概説される。

20

【 0 3 1 6 】

一実施形態において、T細胞活性化は、例として、例えば癌細胞などの標的細胞の直接殺傷によって、またはサイトカイン分泌によって、または増殖によって、または例としてCD137、CD107a、PD1などの活性化マーカーの発現における変化によって測定される。T細胞について、増殖の増加、活性化の細胞表面マーカー（例えば、CD25、CD69、CD137、PD1）、細胞傷害性（標的細胞を殺傷する能力）、およびサイトカイン産生（例えば、IL-2、IL-4、IL-6、IFN、TNF-a、IL-10、IL-17A）は、癌細胞の高められた殺傷と一貫する免疫調節を示す。

30

【 0 3 1 7 】

一実施形態において、NK細胞活性化は、例えば、例として癌細胞などの標的細胞の直接殺傷によって、またはサイトカイン分泌によって、または例としてCD107aなどの活性化マーカーの発現における変化によって測定される。NK細胞について、増殖の増加、細胞傷害性（標的細胞を殺傷する能力、ならびにCD107a、グランザイム、およびパーフォリン発現を増加させる）、サイトカイン産生（例えば、IFN およびTNF）、および細胞表面受容体発現（例えば、CD25）は、癌細胞の高められた殺傷と一貫する免疫調節を示す。

40

【 0 3 1 8 】

一実施形態において、T細胞活性化は、例えば、サイトカイン分泌によって、または活性化マーカーの発現における変化によって測定される。

【 0 3 1 9 】

一実施形態において、Th1細胞活性化は、例えば、サイトカイン分泌によって、または活性化マーカーの発現における変化によって測定される。

【 0 3 2 0 】

活性または反応（または、上記に概説されるとおり適切であるような、減少）の適切な増加は、参照試料または制御試料のいずれか、例えば、本発明の抗体を含まない試験試料のシグナルにわたって、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80

50

%、90%、95%、または98~99%パーセントの増加である。同様に、少なくとも1、2、3、4、または5倍の増加は、参照もしくは制御試料と比較した場合に、有効性を示す。

【0321】

M. 治療

一旦作製されると、本発明の組成物は、多くの応用において用途を見出す。SSTR2は、神経内分泌腫瘍（NET、例えば、肺癌、胃腸癌、膵臓癌、下垂体癌、髓様癌、前立腺、膵臓肺カルチノイド、骨肉腫、気管支、胸腺）ならびに非NET（乳癌、肺癌、大腸癌、卵巣癌、子宮頸癌など）に高発現される。

【0322】

したがって、本発明のヘテロ二量体組成物は、そのようなSSTR2陽性癌の治療において用途を見出す。

【0323】

生体内投与用の抗体組成物

本発明に従って使用される抗体の製剤は、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で、任意の薬学的に許容可能な担体、賦形剤、または安定剤（Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. [1980]）と共に望ましい程度の純度を有する抗体を混合することによって保管のために調製される。許容可能な担体、賦形剤、または安定剤は、用いられる投与量および濃度で、レシピエントに対して非毒性であり、リン酸、クエン酸、および他の有機酸などの緩衝剤、アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化剤、保存剤（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド、ヘキサメトニウムクロリド、ベンザルコニウムクロリド、ベンゼトニウムクロリド、フェノール、ブチルアルコールもしくはベンジルアルコール、メチルパラベンもしくはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサンオール、3-ペンタノール、およびm-クレゾールなど）、低分子量（約10残基未満）ポリペプチド、血清アルブミン、ゼラチン、もしくはイムノグロブリンなどのタンパク質、ポリビニルピロリドンなどの親水性重合体、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、もしくはリジンなどのアミノ酸、单糖、二糖、およびブドウ糖、マンノース、もしくはデキストリンを含む他の糖質、EDTAなどのキレート物質、スクロース、マンニトール、トレハロース、もしくはソルビトールなどの糖、ナトリウムなどの塩形成対イオン、金属複合体（例えば、亜鉛-タンパク質複合体）、ならびに／またはTWEEN（商標）、PLURONICS（商標）、もしくはポリエチレングリコール（PEG）などの非イオン性界面活性剤が含まれる。

【0324】

投与様式

本発明の抗体および化学療法剤は、ボーラスとしてまたはある期間にわたる連続注入によって静脈内投与などの既知の方法に対象に従って投与される。

【0325】

治療様式

本発明の方法において、治療は、疾患または状態に関する有益な治療反応を提供するために使用される。「有益な治療反応」は、疾患もしくは状態における改善、および／または疾患もしくは状態と関連する症状における改善を意図する。例えば、有益な治療応答は、病気における下記の改善の1つまたは複数を指すことになる。（1）新生細胞数の減少、（2）新生細胞死の増加、（3）新生細胞の生存阻害、（5）腫瘍成長の阻害（例えば、ある程度の鈍化、好ましくは停止）、（6）患者生存率の増加、および（7）疾患または状態と関連する1つ以上の症状のいくらかの緩和。

【0326】

任意の所与の疾患または状態における有益な治療反応は、疾患または状態に特異的な標準化された反応の基準によって決定され得る。腫瘍反応は、磁気共鳴画像法（MRI）スキャン、X線画像法、コンピュータ断層撮影（CT）スキャン、骨スキャン画像法、内視鏡

10

20

30

40

50

検査、ならびに骨髄穿刺（BMA）および循環における腫瘍細胞の計数を含む腫瘍生検試料採取などの選別技術を使用して、腫瘍形態学（すなわち、全体的な腫瘍量、腫瘍サイズなど）における変化で評価され得る。

【0327】

これらの有益な治療反応に加えて、治療が進行中の対象は、疾患に関連する症状において改善の有利な効果を経験し得る。

【0328】

本発明による治療は、使用する薬剤の「治療有効量」を含む。「治療有効量」は、必要な投与量および期間で、望ましい治療結果を達成するために有効である量を指す。

【0329】

治療有効量は、個体の疾患の状況、年齢、性別、および体重などの要因、ならびに個体における、薬剤の望ましい反応を引き出す能力に応じて変化し得る。治療有効量は、抗体または抗体部分の治療上有利な効果が、任意の毒性作用または有害作用を上回る量でもある。

【0330】

腫瘍治療に向けた「治療有効量」は、病気の進行を安定化させる能力によって測定されてもよい。癌を抑制する化合物の能力を、ヒト腫瘍における有効性を予測する動物モデル系において評価してよい。

【0331】

代替的には、組成物のこの特性は、熟練実践者に既知であるインビトロアッセイによって、化合物が、細胞の成長を抑制する能力、またはアポトーシスを誘導する能力を試験することによって評価され得る。治療用化合物の治療有効量は、対象の腫瘍サイズを減少させ得、またはそうでなければ、対象の症状を回復させ得る。当業者であれば、対象のサイズ、対象の症状の重症度、および特定の組成物、または選択される投与経路などの要因に基づいてそのような量を決定することができるであろう。

【0332】

投与レジメンは、最適な望ましい反応を提供するように調整される（例えば、治療反応）。例えば、単回ボーラス投与をしてもよく、いくつかに分割された用量を、長時間にわたって投与してもよく、または治療状況の緊急性によって示されるように、比例的に用量を減少または増加してもよい。非経口組成物は、投与の容易化、および投与量の均一性のために投与量単位形態において製剤化され得る。本明細書で使用されるような投与量単位形態は、物理的には、治療される対象のために単位用量として適した離散単位を指し、各単位は、必要とされる治療担体に関連して、望ましい治療効果を生じるように計算された活性化合物の所定の量を含む。

【0333】

本発明の投与量単位形態の規格は、(a)活性化合物の特有の特性、および達成される特定の治療効果、ならびに(b)そのような活性化合物を、個体の感受性の治療に化合する技術分野での固有の制限、によって決定されると共に、直接的にそれらに応じて、決定される。

【0334】

本発明において使用される二重特異性抗体の効率的な投与量および投与レジメンは、治療される疾患または状態に依存し、当業者によって決定され得る。

【0335】

本発明において使用される二重特異性抗体の治療有効量の例示的な、非限定的範囲は、約0.1~100mg/kgである。

【0336】

すべての引用文献は、それらの全体において参照により本明細書に明確に組み込まれる。

【0337】

例示目的のために、本発明の特定の実施形態は、上記に説明されているが、詳細の数多くの変化が、添付の特許請求の範囲において説明される本発明から逸脱することなく行われ得ることが、当業者によって理解されるであろう。

10

20

30

40

50

【実施例】**【0338】**

実施例は、本発明を示すために以下に提供される。これらの実施例は、本発明を任意の特定の応用、または実施理論に限定しようと意図するものではない。本発明において論じられるすべての定常領域の位置について、番号付けは、Kabat (Kabat et al ., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., United States Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda。参照により全体が組み込まれる) にあるように、EUインデックスに従う。抗体技術分野の当業者であれば、この慣習が、イムノグロブリン配列の特定領域における、非連続的な番号付けからなっており、イムノグロブリンファミリーにおける保存位置への標準化された参照が可能になっていることを理解されるであろう。したがって、EUインデックスによって定義される、任意の所与の免疫グロブリンの位置は、その連続配列に必ずしも対応していないことになる。

10

【0339】

一般的かつ特定の科学技術は、米国公開第2015/0307629号、第2014/0288275号、およびWO2014/145806に概説され、これらはすべて、それらの全体において参照により明確に組み込まれ、特に、本明細書に概説される技術について組み込まれる。

20

【0340】

実施例1：抗SSTR2X抗CD3二重特異性抗体の世代

1A：抗SSTR2Fabアームの世代

抗SSTR2抗体の親可変領域を、本発明の抗SSTR2X抗CD3二重特異性抗体の組成物の使用のために操作した。マウスVHおよびVL領域のヒト化を、2010年2月2日に発行された米国特許第7,657,380号に以前に説明されているように行った。アミノ酸置換を、改善された特性を有する変異体を識別することを試みるために、Quick Change (Stratagene, Cedar Creek, TX) 変異原性を介して行った。

【0341】**1B：二重特異性抗体産生**

30

抗SSTR2X抗CD3二重特異性形式の風刺画概略図は、図に示される。例示的な抗体を、上記に説明されるように、かつ抗CD3 scFvアームとして操作された抗SSTR2抗体に由来する抗SSTR2X抗CD3Fabアームによって精製した。例示的な抗SSTR2X抗CD3栓抜き抗体XENP018087およびXENP018907は、それぞれ図14および15に示される。二重特異性発現へ必要とされる3つ鎖をコードするDNAを、遺伝子合成 (Blue Heron Biotechnology, Bothell, Wash) および発現ベクターpTET5技術への標準サブクローニングのいずれかによって、またはQuick Change変異原性によって生成した。DNAを、発現のためのHEK293E細胞にトランスフェクトし、得られたタンパク質を、タンパク質A親和性 (GE Healthcare) および陽イオン交換クロマトグラフィーを使用して上清から精製した。陽イオン交換クロマトグラフィー精製を、50mM MES、pH 6.0の洗浄/平衡化緩衝剤および50mM MES、pH 6.0 + 1M NaCl直線勾配の溶出緩衝剤と共にHiTrap SP HPカラム (GE Healthcare) を使用して行った。

40

【0342】**1C：抗SSTR2抗体二重特異的結合。**

抗SSTR2の細胞表面結合および例示的な抗SSTR2X抗CD3二重特異性抗体を、ヒトSSTR2トランスフェクトCHO細胞を使用して評価した。細胞を、氷上で45分間、示される試験物と共にインキュベートし、遠心分離した。細胞を、フィコエリトリン (PE) 標識二次抗体 (2 μg / mL、ヤギ抗ヒトIgG) を含む染色緩衝剤で再懸濁し

50

、次いで、氷上で45分間インキュベートした。細胞を、2回遠心分離し、次いで、染色緩衝剤で再懸濁した。結合を、フローサイトメトリーによって測定した(図17A~P)。

【0343】

実施例2：例示的な抗SSTR2×抗CD3二重特異性抗体の特徴付け

2A：例示的な抗SSTR2×抗CD3二重特異性抗体のインピボでの特徴付け

例示的な抗SSTR2×抗CD3Fab-scFv-Fc二重特異性を、SSTR2トランスフェクトCHO細胞(図18A~D)およびSSTR2陽性TT細胞(ヒト甲状腺髓様癌細胞株、図19A~C)上で再指示されたT細胞細胞傷害性(RTCC)についてインピトロで特徴付けした。RTCCを、乳酸脱水素酵素(LDH)レベルを測定することによって決定した。これらの図に示されるように、抗SSTR2×抗CD3Fab-scFv-Fc二重特異性は、対照と比較した場合に、SSTR2トランスフェクトCHO細胞、ならびにヒト癌細胞株においてRTCCの高い百分率を示した。

10

【0344】

2B：例示的な抗SSTR2×抗CD3二重特異性抗体のインピボでの特徴付け

第1の研究において、カニクイザル(n=3)に、0.03mg/kgのXENP18087または1mg/kgのXENP18088のいずれかの2つ(0で、3週間)の静脈内(i.v.)投与量を投与した。CD69発現(図20A)、ならびにCD4⁺およびCD8⁺T細胞分布(図20B)によって示されるCD4⁺およびCD8⁺T細胞活性化へのこれらの抗SSTR2×抗CD3二重特異性抗体の効果を、その後に評価した。

20

【0345】

第2の研究において、カニクイザル(n=3)に、抗SSTR2×抗CD3二重特異性抗体：0.06mg/kgのXENP18087、0.1mg/kgのXENP18907、0.5mg/kgのXENP18907、または2mg/kgのXENP18907の単回静脈内(i.v.)投与量を投与した。CD4⁺およびCD8⁺T細胞活性化(CD69上方調節、図21A)、ならびにCD4⁺およびCD8⁺T細胞分布(細胞数、図21B)へのこれらの抗SSTR2×抗CD3二重特異性抗体の効果を評価した。さらに、ブドウ糖負荷試験(GTT)を行い(図21Cおよび21D)、試験された対象の能力を評価し、ブドウ糖を分解した。GTTについて、血液試料を、8つの異なる時間点：前投与、デキストロース投与後の5、10、20、30、40、60、および90分で収集した。これらの研究において示されるように、CD4⁺およびCD8⁺を、投与後のその後の回復および正常化を伴う各治療の間に血液から素早く再分布した(図21B)。T細胞を、投与する際に直ちに活性化し(図21A)、次いで、T細胞再分布と一致して、低下させた。

30

【0346】

第3の研究において、カニクイザル(n=3)に、0.001または0.01mg/kgのXENP18087のいずれかの2つ(0で、1週間)の静脈内(i.v.)投与量を投与した。CD4⁺およびCD8⁺T細胞活性化(図22A~B)、ならびにCD4⁺およびCD8⁺T細胞分布(図22C~D)へのこれらの抗SSTR2×抗CD3二重特異性抗体の効果を、CD69発現、T細胞活性化のマーカーを使用して、その後に評価した。これらのサルから、血清IL-6およびTNFレベルを評価した(図22E~F)。これらの研究において示されるように、CD4⁺およびCD8⁺を、投与後のその後の回復および正常化を伴う各治療の間に血液から素早く再分布した。T細胞を、用量依存的様式において各投与の際に直ちに活性化し、次いで、T細胞再分布と一致して、その後に低下させた。IL-6およびTNFサイトカイン放出は、T細胞活性化と相関があった。

40

【0347】

実施例3：XmAb18087の評価

3A：ヒトおよびカニクイザルSSTR2へのXmAb18087の特異的結合

XmAb18087の細胞表面結合および制御抗RSV×抗CD3二重特異性抗体(XENP13245)を、ヒトSSTR2トランスフェクトCHO細胞およびカニクイザルSSTR2トランスフェクトCHO細胞を使用して評価した。細胞表面結合をまた、対照と

50

して親CHO細胞を使用して評価した。結合を、実施例1Cに概して説明されるとおり、フィコエリトリン(PE)標識二次抗体を使用してフローサイトメトリーによって測定した。

【0348】

制御抗RSVX×抗CD3二重特異性抗体XENP13245が、ヒトSSTR2またはカニクイザルSSTR2トランスフェクトCHO細胞のいずれかに結合しなかった一方で、mAb18087は、細胞表面ヒトSSTR2(図23A)に結合しただけでなく、カニクイザルSSTR2(図23B)と交差反応性でもあった。データは、XmAb18087が、XmAb18087の特異性を示す非トランスフェクト親CHO細胞(図23C)に結合しなかったことをさらに示す。

10

【0349】

3B:XmAb18087による再指示されたT細胞細胞傷害性

XmAb18087を、SSTR2トランスフェクトCHO細胞(図24A)、SSTR2陽性TT細胞(甲状腺髄様癌細胞株、図24Bおよび25)、A549細胞(肺腺癌細胞株、図24Cおよび25)、および対照として非トランスフェクト親CHO細胞(図24A)の再指示されたT細胞細胞傷害性(RTCC)についてインビトロで特徴付けした。抗RSVX抗CD3二重特異性抗体(XENP13245)および2価抗SSTR2mAbを対照として含んだ(図24D)。

【0350】

標的細胞およびヒトPBMを、10または20:1のE:T比で24時間、XmAb18087またはXENP13245と共にインキュベートした。RTCCを、乳酸脱水素酵素(LDH)レベルを測定することによって決定した。

20

【0351】

これらの図に示されるように、XmAb18087は、制御抗CD3二重特異性抗体XENP13245および制御2価抗SSTR2mAb(図25)と比較した場合に、SSTR2トランスフェクトCHO細胞(図24A)、ならびにヒト癌細胞株(図28B~Cおよび24D)におけるRTCCの高百分率を示した。さらに、データは、XmAb18087が、非トランスフェクト親CHO細胞においてRTCCを示さなかったことを示した(図24A)。

30

【0352】

XmAb18087によるT細胞活性化をまた、フローサイトメトリーによってCD8⁺およびCD4⁺T細胞上のCD69の表面発現(図26A~B)を評価することによって、SSTR2トランスフェクトCHO細胞およびTT細胞を伴う実験において調査した。図に示されるように、XmAb18087は、CD8⁺およびCD4⁺T細胞を、制御抗CD3二重特異性抗体XENP13245よりもはるかに高いレベルに活性化する。これは、XmAb18087が、T細胞活性化を誘導することによってSSTR2⁺標的細胞を除去することを示す。

【0353】

3C:XmAb18087は、A549肺癌細胞およびヒトPBMを生着されたNSGマウスにおける抗腫瘍活性を示す。

40

25匹のNOD scidガンマ(NSG)マウスにそれぞれ、-7日目に1×10⁶A549-RedFluc腫瘍細胞(0.1mL容量皮下注射)を生着した。0日目に、マウスに、10×10⁶ヒトPBMを腹腔内に生着した。0日目のPBM生着の後、XmAb18087を、3.0mg/kgで腹腔内注射によって毎週(0、7、および14日目)投与した(対照マウスにはPBSを投与した)。研究設計は、図27にさらに要約される。腫瘍成長を、インビトロ画像システム(IVIS(登録商標)Lumina II)を使用して、マウス毎に合計溶剤を測定することによって監視した。図28および29に示されるように、3mg/kgのXmAb18087での治療は、実質的には、PBSでの治療と比較して、A549局所腫瘍成長を抑制する。

【0354】

50

3 D : カニクイザルにおける X m A b 1 8 0 8 7 の特徴付け

さらなる研究において、カニクイザル (n = 3) に、X m A b 1 8 0 8 7 または制御抗 R S V x 抗 C D 3 二重特異性抗体 (X E N P 1 3 2 4 5) の単回静脈内 (i. v.) 容量を投与した。C D 4⁺ および C D 8⁺ T 細胞活性化 (C D 6 9 上方調節、図 3 1 A ~ B)、ならびにサイトカイン (I L - 6 および T N F) 放出 (図 3 2 A ~ B) へのこれらの二重特異性抗体の効果を評価した。

【 0 3 5 5 】

図に示されるように、C D 4⁺ および C D 8⁺ T 細胞を、投与後のその後の回復および正常化を伴う X m A b 1 8 0 8 7 での治療 (図 3 0 A および B、X E N P 1 3 2 4 5 での治療と比較した場合) の後に血液から素早く再分布した。T 細胞を、X m A b 1 8 0 8 7 と共に投与する際に直ちに活性化し (X E N P 1 3 2 4 5 と共に投与と比較した場合)、次いで、T 細胞再分布と一致して、低下させた。さらに、I L - 6 および T N F サイトカイン放出は、T 細胞活性化と相関があった (図 3 2 A ~ B)。

10

【 0 3 5 6 】

3 E : NSG マウスにおける X m A b 1 8 0 8 7 の特徴付け

投与反応を調査するための別の研究において、60 匹の NSG マウスに、-7 日目に 1 × 1 0 6 A 5 4 9 - R e d F L u c 腫瘍細胞 (0.1 mL 容積皮下注射) を生着した。0 日目に、マウスを合計溶剤に基づいて分類し、マウスに 1 0 × 1 0 6 ヒト P B M C を生着し、示された濃度 (各濃度に 12 匹のマウス) で、試験物の投与量 # 1 を投与した。投与量 # 2 および # 3 を、8 日目および 15 日目に投与した。上記のとおり、腫瘍成長を、図 3 3 に示されるように 1 週間に 2 ~ 3 回、インビトロ画像システムを使用してマウス毎に合計溶剤を測定することによって監視した。さらに、腫瘍体積を、投与量 # 1 後 18 日目および 22 日目について、図 X に示されるように 1 週間に 1 ~ 2 回キャリパーによって測定した。

20

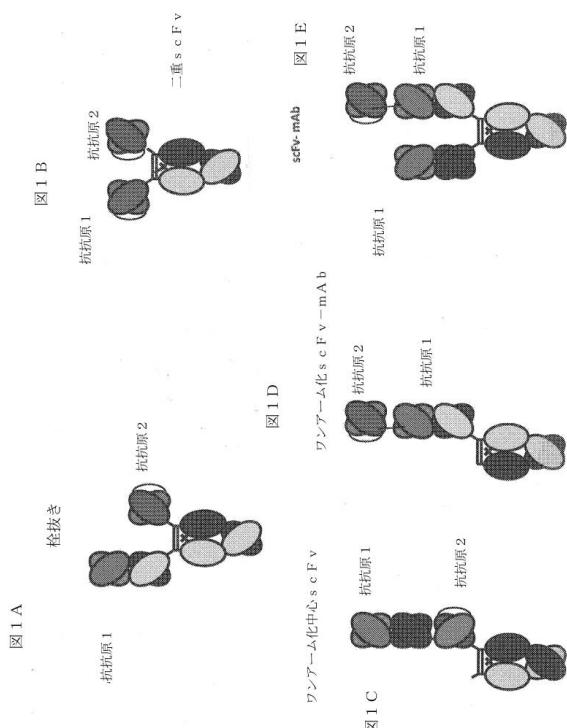
30

40

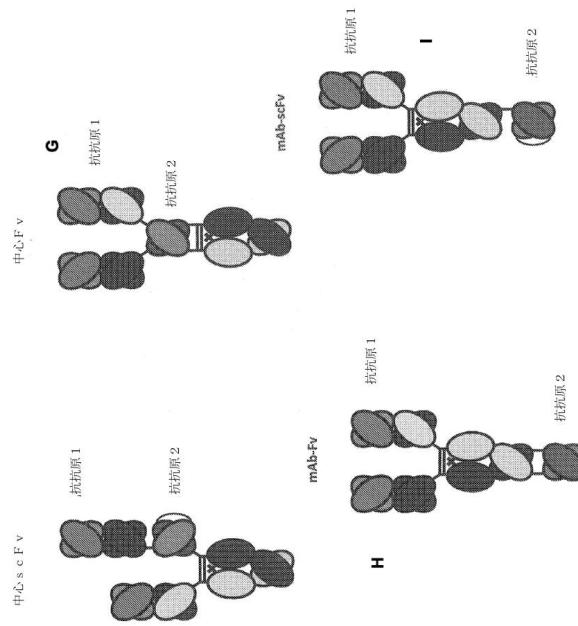
50

【図面】

【図 1 A - 1 E】



【図 1 F - 1 I】



【図 2】

ヒト S S T R 2 配列

>sp|P30874 (配列番号 8 0 7)
MDMADEPLNGSHTWLSPFDLNGSVVSTNTSNQTEPYYDLSNAVLTFIYFVVCIIGLCGNTL
VIVVILRYAKMKTITNIYILNLIADELFMLGLPFLAMQVALVHWPFGKAICRVMVTVDGINQ
FTSIFCLTVMSIDRYLAVVHPPIKSAKWRPRATAKMITMAVVGVSLLVILPIMIYAGLRSNQW
GRSSCTINWPGESEGAWYTFGFIYTFILGFLVPLTICLCYLFIIVKVKSIGIRVGSKKRKSEKKVTR
MVSIVVAVFIFCWLPFYIFNVSSVSMAISPTPALKGMDFVVVLTYANSCANPILYAFLSDNFK
KSFQNVLCLVKVSGTDDGERSDSKQDKSRLNETETQRTLLNGDLQTSI

カニクイザル S S T R 2 配列

>gi|544501377 (配列番号 8 0 8)
MDMVDPKPLNGSHTWLSPFDLNGSVVSTNTSNQTEPYYDLSNAVLTFIYFVVCIIGLCGNTL
VIVVILRYAKMKTITNIYILNLIADELFMLGLPFLAMQVALVHWPFGKAICRVMVTVDGINQ
FTSIFCLTVMSIDRYLAVVHPPIKSAKWRPRATAKMITMAVVGVSLLVILPIMIYAGLRSNQW
GRSSCTINWPGESEGAWYTFGFIYTFILGFLVPLTICLCYLFIIVKVKSIGIRVGSKKRKSEKKVTR
MVSIVVAVFIFCWLPFYIFNVSSVSMAISPTPALKGMDFVVVLTYANSCANPILYAFLSDNFK
KSFQNVLCLVKVSGTDDGERSDSKQDKSRLNETETQRTLLNGDLQTSI

【図 3 A】

单量体 1	单量体 2
F405A	T394F
S364D	Y349K
S364E	L368K
S364E	Y349K
S364F	K370G
S364H	Y349K
S364H	Y349T
S364Y	K370G
T411K	K370E
V397S/F405A	T394F
K370R/T411K	K370E/T411E
L351E/S364D	Y349K/L351K
L351E/S364E	Y349K/L351K
L351E/T366D	L351K/T366K
P395T/V397S/F405A	T394F
S364D/K370G	S364Y/K370R
S364D/T394F	Y349K/F405A
S364E/F405A	Y349K/T394F
S364E/F405S	Y349K/T394Y
S364E/T411E	Y349K/D401K
S364H/D401K	Y349T/T411E
S364H/F405A	Y349T/T394F
S364H/T394F	Y349T/F405A
Y349C/S364E	Y349K/S354C
L351E/S364D/F405A	Y349K/L351K/T394F
L351K/S364H/D401K	Y349T/L351E/T411E
S364E/T411E/F405A	Y349K/T394F/D401K
S364H/D401K/F405A	Y349T/T394F/T411E
S364H/F405A/T411E	Y349T/T394F/D401K

【図 3 B】

単量体1	単量体2
K370E/T411D	T411K
L368E/K409E	L368K
Y349T/T394F/S354C	S364H/F405A/Y349C
T411E	D401K
T411E	D401R/T411R
Q347E/K360E	Q347R
L368E	S364K
L368E/K370S	S364K
L368E/K370T	S364K
L368E/D401R	S364K
L368E/D401N	S364K
L368E	E357S/S364K
L368E	S364K/K409E
L368E	S364K/Q409V
L368D	S364K
L368D/K370S	S364K
L368D/K370S	S364K/E357L
L368D/K370S	S364K/E357Q
T411E/K360E/Q362E	D401K
K370S	S364K
L368E/K370S	S364K/E357Q
K370S	S364K/E357Q
T411E/K360D	D401K
T411E/K360E	D401K
T411E/Q362E	D401K
T411E/N390D	D401K
T411E	D401K/Q347K
T411E	D401K/Q347R
T411E/K360D/Q362E	D401K

【図 3 C】

単量体1	単量体2
K392D/K409D	E356K/D399K
K370D/K392D/K409D	E356K/E357K/D399K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
N384S/K392N/V397M/Q419E	N276K
D221E/P228E/L368E	D221R/P228R/K409R
C220E/P228E/L368E	C220R/E224R/P228R/K409R
F405L	K409R
T366I/K392M/T394W	F405A/Y407V
T366V/K409F	L351Y/Y407A
T366A/K392E/K409F/T411E	D399R/S400R/Y407A
L351K	L351E
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447	
N208D Q295E N384D Q418E N421D	
N208D Q295E Q418E N421D	
Q196K I199T P217R P228R N276K	
Q196K I199T N276K	
E269Q E272Q E283Q E357Q	
E269Q E272Q E283Q	
E269Q E272Q	
E269Q E283Q	
E272Q E283Q	
E269Q	

10

20

【図 3 D】

単量体1	単量体2
T411E/K360E/N390D	D401K
T411E/Q362E/N390D	D401K
T411E/Q347R	D401K/K360D
T411E/Q347R	D401K/K360E
T411E/K360	D401K/Q347K
T411E/K360D	D401K/Q347R
T411E/K360E	D401K/Q347K
T411E/K360E	D401K/Q347R
T411E/S364K	D401K/K370S
T411E/K370S	D401K/S364K
Q347E	E357Q
Q347E	E357Q/Q362K
K360D/Q362E	Q347R
K360D/Q362E	D401K
K360D/Q362E	Q347R/D401K
K360E/Q362E	Q347R
K360E/Q362E	D401K
K360E/Q362E	Q347R/D401K
Q362E/N390D	D401K
Q347E/K360D	D401N
K360D	Q347R/N390K
K360D	N390K/D401N
K360E	Y349H
K370S/Q347E	S364K
K370S/E357L	S364K
K370S/E357Q	S364K
K370S/Q347E/E357L	S364K
K370S/Q347E/E357Q	S364K

30

40

【図 3 E】

単量体1	単量体2
L368D/K370S/Q347E	S364K
L368D/K370S/E357L	S364K
L368D/K370S/E357Q	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E	S364K
L368E/K370S/E357L	S364K
L368E/K370S/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E	S364K
L368D/K370T/E357L	S364K
L368D/K370T/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E	S364K
L368E/K370T/E357L	S364K
L368E/K370T/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357Q	S364K
T411E/Q362E	D401K/T411K
T411E/N390D	D401K/T411K
T411E/Q362E	D401R/T411R
T411E/N390D	D401R/T411R
Y407T	T366Y
F405A	T394W
T366Y/F405A	T394W/Y407T
Y407A	T366W
T366S/L368A/Y407V	T366W

50

【図 3 F】

単量体 1	単量体 2
T3665/L368A/Y407V/Y349C	T366W/S354C
K392D/K409D	E356K/D399K
K370D/K392D/K409D	E356K/E357K/D399K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
N384S/K392N/V397M/Q419E	N276K
D221E/P228E/L368E	D221R/P228R/K409R
C220E/P228E/L368E	C220R/E224R/P228R/K409R
F405L	K409R
T366I/K392M/T394W	F405A/Y407V
T366V/K409F	L351Y/Y407A
T366A/K392E/K409F/T411E	D399R/S400R/Y407A
L351K	L351E
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
I199T/N203D/K274Q/R355Q/N384S K392N V397M Q419E DEL447	
N208D Q295E N384D Q418E N421D	
Q295E N384D Q418E N421D	
N208D Q295E Q418E N421D	
Q295E Q418E N421D	
Q196K I199T P217R P228R N276K	
Q196K I199T N276K	
E269Q E272Q E283Q E357Q	
E269Q E272Q E283Q	
E269Q E272Q	
E269Q E283Q	
E272Q E283Q	
E269Q	

【図 4】

P I 变異体	
変異体定常領域	重換
pI_ISO(-)	I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447
pI_(-) 等比体積_A	N208D Q295E N384D Q418E N421D
pI_(-) 等比体積_A-F c の pI_(-) 等比体積_B	Q295E N384D Q418E N421D
pI_(-) 等比体積_B	N208D Q295E Q418E N421D
pI_(-) 等比体積_B-F c のpI_(-) 等比体積_B-F c	Q295E Q418E N421D
pI_ISO(+RR)	Q196K I199T P217R P228R N276K
pI_ISO(+)	Q196K I199T N276K
pI (+) 等比体積_A	E269Q E272Q E283Q E357Q
pI (+) 等比体積_B	E269Q E272Q E283Q
pI (+) 等比体積_E 2 6 9 Q / E 2 7 2 Q	E269Q E272Q
pI (+) 等比体積_E 2 6 9 Q / E 2 8 3 Q	E269Q E283Q
pI (+) 等比体積_E 2 7 2 Q / E 2 8 3 Q	E272Q E283Q
pI (+) 等比体積_E 2 6 9 Q	E269Q

10

20

【図 5】

消去変異体	
変異体	変異体（複数可）、含有
G236R	P329K
S239G	A330L
S239K	A330S/P331S
S239Q	I332K
S239R	I332R
V266D	V266D/A327Q
S267K	V266D/P329K
S267R	S267R/A327Q
H268K	S267R/P329K
E269R	G236R/L328R
299R	E233P/L234V/L235A/G236del/S239K
299K	E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
K322A	E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G
A327G	E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G
A327L	E233P/L234V/L235A/G236del
A327N	S239K/S267K
A327Q	267K/P329K
L328E	
L328R	
P329A	
P329H	

【図 6】

s c F v 单量体 (+)	F a b 单量体 (-)
ヘテロ二量体 pI 变異体 S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q	ヘテロ二量体化 pI 变異体 L 3 6 8 D / K 3 7 0 S
これらに限定されないが、(G K P G S)₄ (配列番号 5 5) を含む任意の s c F v 荷電リソルバー	等比体積 pI 重換 N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D
FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K	FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
F c R n ~の+ 4 2 8 L / 4 3 4 S	F c R n ~の+ 4 2 8 L / 4 3 4 S
抗CD3のs c F v	抗SSTR2へのF v 配列

30

s c F v 单量体	F a b 单量体
ヘテロ二量体 pI 变異体 S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q	ヘテロ二量体化 pI 变異体 L 3 6 8 D / K 3 7 0 S
これらに限定されないが、(G K P G S)₄ (配列番号 5 5) を含む任意の s c F v 荷電リソルバー	等比体積 pI 重換 N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D
FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K	FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
F c R n (任意) への± 4 2 8 L / 4 3 4 S	F c R n (任意) への± 4 2 8 L / 4 3 4 S
抗CD3のs c F v	抗SSTR2のs c F v

40

50

【 义 1 1 A 】

		配列番号
XENOPH19583	EVQVEGGGLVQPGGSLRSCAAGFSTPSDQYMWFRQPGGLEWFSNLGSIYADSSGCRFTSRDNA KNSLYMMNSRAEDTAVVYCARPDYDQDFEDMDMAGGTUTV	958
vICDR1	DYGAAG	959
vICDR2	FISNLGSYVADSGV	960
vICDR3	APODYSFDMV	961
可変解 (v)	DNWTGTCPSDLSAIGERATINSSSOSLINSRERTRNLLAWYQCPKQDOSPKLUWVAASTREESGVIPDRISSESSGTD	962
vICDR1	FTLTSQSLNDRNIVYCKSTFWIHFGGTKVEK	963
vICDR2	KSSQSLNDRNIVYCKSTFWIHFGGTKVEK	964
vICDR3	WASTRES	965
	KOSYIWT	

【図11B】

【図11C】

	配列番号
XENPOB037 E5T1R2L1N1_07_1_1..108 可変領域 (v h)	990
EVOVLEGGGLVOPGGSLRLSAAAGITPSDQWGAWFROAQPKGPWESFISNLAYSTVYADSYGRFTSRDNA KNSLYQMSLRREDATVYCARAIDYDSEMDMWDGDTLVTS	991
VHCDR1	992
DYVMA	993
FISNLAYSYYADSYKG	994
VHCDR2	995
AIPDODSDNDV	996
DWMMTQSPDLASVIGERATINCSQDLSIINRNRSHLAWYQDKPDSQPLUNIASTRASGVPDRFSSGSGTDF TILSSLQDIAVYKQDCSYLWVTTGGGTKEK	997
VHCDR3	998
KSSQSLQNNKRSYLA	999
YASTRA5	1000
KOYKLUWT	1001
WICDR2	1002
WICDR3	1003

【図11D】

品目番号	品目名	規格
1006	EVOLVESGGGLVOPGGSLISCAASGFITSDFKGMAMWFRQAPKGPEWSEISNLAYSIYASVKGKFRFLSDNA	XENPO18039
1007	KNS Y QMMSI BAENTAVYCARADPVDYDSDPMWYQGGLVTVSS	YHCDR1
1008	DIGMA	VHCDR2
1009	FISHLAYSYSYDWSYKG	VHCDR3
1010	DIVMTOSFPLAISVGRATINCESSOSSLNSRNRSYHAWYQKDPSKLIMVASTASGVDRSGSSGSGTDF	WCDR1
1011	KSSDLNSNINRNSYIA	WCDR2
1012	YASTRAS	WCDR3
1013	KSSDLNSNINRNSYIA	YCDR1

10

20

30

40

50

【図 1 1 E】

配列		配列番号	配列番号
可変重 (v h)	マイナス	XENP018043 EQLVSEGGLYQPGSLRLSCAAGFTSDYGNMWAERQPKGPEWISLISLGSIYADSVKGRFTSRDNA KNSYLQNSLNRAEDTAVYCARAPDZDFSPMDWYQGQTLTVSS	1054
VHCDR1	DIGMA		1055
VHCDR2	FISNLGSIYADSVKG		1056
VHCDR3	APYDOSPDMDY		1057
可変軽 (v 1)	マイナス	DVMTQSPDAVLSGERATINCSSSLLNSRNRYLAWYQCPDQSPKLUYASTASGVPRDFSGSGSTDF TUTSISQEDAVYVGCGSYLWIFGGTKEIK	1058
VHCDR1	KSSOISLNRSRNRYLA		1059
VHCDR2	YASTRAS		1060
VHCDR3	KOSYIWT		1061

【図 1 1 F】

配列		配列番号	配列番号
可変重 (v h)	マイナス	EQLVSEGGLYQPGSLRLSCAAGFTSDYGNMWAERQPKGPEWISLISLGSIYADSVKGRFTSRDNA KNSYLQNSLNRAEDTAVYCARAPDZDFSPMDWYQGQTLTVSS	1062
VHCDR1	DIGMA		1063
VHCDR2	FISNLGSIYADSVKG		1064
VHCDR3	APYDOSPDMDY		1065
可変軽 (v 1)	マイナス	DVMTQSPDAVLSGERATINCSSSLLNSRNRYLAWYQCPDQSPKLUYASTASGVPRDFSGSGSTDF TUTSISQEDAVYVGCGSYLWIFGGTKEIK	1066
VHCDR1	KSSOISLNRSRNRYLA		1067
VHCDR2	YASTRAS		1068
VHCDR3	KOSYIWT		1069

【図 1 1 G】

配列		配列番号	配列番号
可変軽 (v h)	マイナス	EQLVSEGGLYQPGSLRLSCAAGFTSDYGNMWAERQPKGPEWISLISLGSIYADSVKGRFTSRDNA KNSYLQNSLNRAEDTAVYCARAPDZDFSPMDWYQGQTLTVSS	1062
VHCDR1	DIGMA		1063
VHCDR2	FISNLGSIYADSVKG		1064
VHCDR3	APYDOSPDMDY		1065
可変軽 (v 1)	マイナス	DVMTQSPDAVLSGERATINCSSSLLNSRNRYLAWYQCPDQSPKLUYASTASGVPRDFSGSGSTDF TUTSISQEDAVYVGCGSYLWIFGGTKEIK	1066
VHCDR1	KSSOISLNRSRNRYLA		1067
VHCDR2	YASTRAS		1068
VHCDR3	KOSYIWT		1069

【図 1 2 A】

配列		配列番号	配列番号
可変重 (v h)	マイナス	XENP018041 EQLVSEGGLYQPGSLRLSCAAGFTSDYGNMWAERQPKGPEWISLISLGSIYADSVKGRFTSRDNLYL LOMNSLNRAEDTAVYCARAPDZDFSPMDWYQGQTLTVSS	1
VHCDR1	TYANN		2
VHCDR2	HIRSKYNNATYADSVKG		3
VHCDR3	HGNFGDSVSWFAY		4
可変軽 (v 1)	マイナス	QAVYTOEPSTVSRGQTIVTCGSSITGAVTTSNYANWQCPGKSPRGUIGGTNKRDPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPE DEADYCALWYSNHWFFGGTKEIK	5
VHCDR1	GSTGAVITSNYAN		6
VHCDR2	GTNKRAP		7
VHCDR3	ALWYSRHWV		8
s F v (荷電リ ンガー-全結合)	EVOLVESGGGLYQPGSLRLSCAAGFTSDYGNMWAERQPKGPEWISLISLGSIYADSVKGRFTSRDNLYL LOMNSLNRAEDTAVYCARAPDZDFSPMDWYQGQTLTVSS	9	
	VILTCGSSITGAVTTSNYANWQCPGKSPRGUIGGTNKRDPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPE DEADYCALWYSNHWFFGGTKEIK		1053

【図12D】

構造物	配列	配列番号
可変重（v h） メイシ	EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTAYMNWVRQAPGKGLEWYGRISKNNNATYADSVKGRFTISRDSKNTLY LOMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFEDPSVMAFWGQGTLYVSS	28
vhCDR1	TYAMIN	29
vhCDR2	RIRSKNNNATYADSVKG	30
vhCDR3	HGNFGDSVSWFAY 可変軽（v 1） メイシ	31
vICDR1	GSSTGAVITSNYAN	32
vICDR2	GTNKRAP	33
vICDR3	ALWYSNNHW	34
s c F v ンカーを含む	EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTAYMNWVRQAPGKGLEWYGRISKNNNATYADSVKGRFTISRDSKNTLY LOMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFEDPSVMAFWGQGTLYVSSKGKPSGSKPSGSQAVVQEFSLTVSPGT VILTCGSSTGAVITSNYANWVQPKGSPRGLUGTNKRAPGVPARFSGSLLGKAALTSGAQPEADYCALWYSNHW ＼FGGGTKLTVL	35

【図12E】

構造物	配列	配列番号
可変重（v h） メイシ	EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTAYMNWVRQAPGKGLEWYGRISKNNNATYADSVKGRFTISRDSKNTLY LOMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFEDPSVMAFWGQGTLYVSS	37
vhCDR1	TYAMIN	38
vhCDR2	RIRSKNNNATYADSVKG	39
vhCDR3	HGNFGDSVSWFAY 可変軽（v 1） メイシ	40
vICDR1	GSSTGAVITSNYAN	41
vICDR2	GTNKRAP	42
vICDR3	ALWYSNNHW	43
s c F v ンカーを含む	EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTAYMNWVRQAPGKGLEWYGRISKNNNATYADSVKGRFTISRDSKNTLY LOMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFEDPSVMAFWGQGTLYVSSKGKPSGSKPSGSQAVVQEFSLTVSPGT VILTCGSSTGAVITSNYANWVQPKGSPRGLUGTNKRAPGVPARFSGSLLGKAALTSGAQPEADYCALWYSNHW ＼FGGGTKLTVL	44

【図12B】

構造物	配列	配列番号
可変重（v h） メイシ	EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTAYMNWVRQAPGKGLEWYGRISKNNNATYADSVKGRFTISRDSKNTLY LOMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFEDPSVMAFWGQGTLYVSS	10
vhCDR1	TYAMIN	11
vhCDR2	RIRSKNNNATYADSVKG	12
vhCDR3	HGNFGDSVSWFAY 可変軽（v 1） メイシ	13
vICDR1	GAVVTEPSITVSPGGLVITLGCGSTGAVITSNYANWVQPKGSPRGLUGTNKRAPGVPARFSGSLLGKAALTSGAQPE DEADYCALWYSNHW＼FGGGTKLTVL	14
vICDR2	GSSTGAVITSNYAN	15
vICDR3	GTNKRAP	16
s c F v ンカーを含む	EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTAYMNWVRQAPGKGLEWYGRISKNNNATYADSVKGRFTISRDSKNTLY LOMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFEDPSVMAFWGQGTLYVSSKGKPSGSKPSGSQAVVQEFSLTVSPGT VILTCGSSTGAVITSNYANWVQPKGSPRGLUGTNKRAPGVPARFSGSLLGKAALTSGAQPEADYCALWYSNHW ＼FGGGTKLTVL	17

【図12C】

構造物	配列	配列番号
可変重（v h） メイシ	EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTAYMNWVRQAPGKGLEWYGRISKNNNATYADSVKGRFTISRDSKNTLY LOMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFEDPSVMAFWGQGTLYVSS	10
vhCDR1	TYAMIN	11
vhCDR2	RIRSKNNNATYADSVKG	12
vhCDR3	HGNFGDSVSWFAY 可変軽（v 1） メイシ	13
vICDR1	GAVVTEPSITVSPGGLVITLGCGSTGAVITSNYANWVQPKGSPRGLUGTNKRAPGVPARFSGSLLGKAALTSGAQPE DEADYCALWYSNHW＼FGGGTKLTVL	14
vICDR2	GSSTGAVITSNYAN	15
vICDR3	GTNKRAP	16
s c F v ンカーを含む	EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTAYMNWVRQAPGKGLEWYGRISKNNNATYADSVKGRFTISRDSKNTLY LOMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFEDPSVMAFWGQGTLYVSSKGKPSGSKPSGSQAVVQEFSLTVSPGT VILTCGSSTGAVITSNYANWVQPKGSPRGLUGTNKRAPGVPARFSGSLLGKAALTSGAQPEADYCALWYSNHW ＼FGGGTKLTVL	17

【図 1 2 F】

構成物	配列	配列番号
可変域 (v h) s	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS ^{YNNY} ATYYADSVKGRTFISRDDS QMNLQNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGT ^{LTV} TSSGKPGSKPGSGKPGSKPGSQAVVTQE PSLTVPSPGGTVTLTCGSSTGA ^{VITSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE}	46
vhCDR1	TYAMS	47
vhCDR2	RIRSKYNNYATYADSVKG	48
vhCDR3	HGNFGDSYVSWEAY	49
可変域 (v l) s	DAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGA ^{VITSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE}	50
vLCDR1	GSTGAVFTSNYAN	51
vLCDR2	GTNKRAP	52
vLCDR3	ALWYSHHW	53
s c v (荷電リ ンカーサー含む)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS ^{YNNY} ATYYADSVKGRTFISRDDS QMNLQNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGT ^{LTV} TSSGKPGSKPGSGKPGSKPGSQAVVTQE PSLTVPSPGGTVTLTCGSSTGA ^{VITSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE}	54

【図 1 3 B】

H1.30_L1.47

配列番号 8 3 9

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{YNNY}ATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGT^{LTV}TSSGKPGSKPGSGKPGSKPGSQAVVTQE
PSLTVPSPGGTVTLTCGSSTGA^{VITSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE}

配列番号 8 4 0

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{YNNY}ATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGT^{LTV}TSSGKPGSKPGSGKPGSKPGSQAVVTQE
PSLTVPSPGGTVTLTCGSSTGA^{VITSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE}

配列番号 8 4 1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{YNNY}ATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGT^{LTV}TSSGKPGSKPGSGKPGSKPGSQAVVTQE

配列番号 8 4 2

QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGA^{VITSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE}
ADYYCALWYSNHWWVFGGGTKLTVL

【図 1 3 A】

抗CD 3 配列

H1_L1.4

配列番号 8 3 5

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{YNNY}ATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGT^{LTV}TSSGKPGSKPGSGKPGSKPGSQAVVTQE
PSLTVPSPGGTVTLTCGSSTGA^{VITSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE}

配列番号 8 3 6

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{YNNY}ATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGT^{LTV}TSSGKPGSKPGSGKPGSKPGSQAVVTQE
PSLTVPSPGGTVTLTCGSSTGA^{VITSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE}

10

配列番号 8 3 7

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{YNNY}ATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGT^{LTV}TSSGKPGSKPGSGKPGSKPGSQAVVTQE

配列番号 8 3 8

QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGA^{VITSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE}
ADYYCALWYSNHWWVFGGGTKLTVL

20

【図 1 3 C】

H1.33_L1.47

配列番号 8 4 3

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{YNNY}ATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGT^{LTV}TSSGKPGSKPGSGKPGSKPGSQAVVTQE
PSLTVPSPGGTVTLTCGSSTGA^{VITSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE}

30

配列番号 8 4 4

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{YNNY}ATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGT^{LTV}TSSGKPGSKPGSGKPGSKPGSQAVVTQE
PSLTVPSPGGTVTLTCGSSTGA^{VITSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE}

配列番号 8 4 5

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{YNNY}ATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGT^{LTV}TSSGKPGSKPGSGKPGSKPGSQAVVTQE

配列番号 8 4 6

QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGA^{VITSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE}
ADYYCALWYSNHWWVFGGGTKLTVL

40

50

【図 1 3 D】

H1.31_L1.47

配列番号 8 4 7

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGTLTIVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPED
ADYYCALWYSNHWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 4 8

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGTLTIVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPED
ADYYCALWYSNHWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 4 9

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGTLTIVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE

配列番号 8 5 0

QAVVTQEPSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
GAQPEDADYYCALWYSNHWFGGGTKLTVL

【図 1 3 E】

H1.32_L1.47

配列番号 8 5 1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGTLTIVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPED
ADYYCALWYSNHWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 5 2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGTLTIVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPED
ADYYCALWYSNHWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 5 3

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGTLTIVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE

配列番号 8 5 4

QAVVTQEPSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
GAQPEDADYYCALWYSNHWFGGGTKLTVL

10

【図 1 3 F】

H1.88_L1.47

配列番号 8 5 5

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGTLTIVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPED
ADYYCALWYSNHWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 5 6

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGTLTIVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPED
ADYYCALWYSNHWFGGGTKLTVL

配列番号 8 5 7

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWEAYWGQGTLTIVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE

配列番号 8 5 8

QAVVTQEPSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
GAQPEDADYYCALWYSNHWFGGGTKLTVL

【図 1 3 G】

H1.89_L1.47

配列番号 8 5 9

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWEAYWGQGTLTIVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPED
ADYYCALWYSNHWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 6 0

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWEAYWGQGTLTIVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPED
ADYYCALWYSNHWFGGGTKLTVL

配列番号 8 6 1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRTFISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWEAYWGQGTLTIVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE

配列番号 8 6 2

QAVVTQEPSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
GAQPEDADYYCALWYSNHWFGGGTKLTVL

20

30

40

50

【図13H】

H1.90_L1.47

配列番号 8 6 3

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{KNNYATYYADSVKG}RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGD^{PYVSWFAY}WGGT^{LTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE}
 PSLTVPGGTVTLTCG^{SSTGA}V^{TTSNYAN}WVQQKPGKSPRGLIGGT^{NKR}APGV^{PARFSGS}LLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVF^{GGGT}KLTVLGSHHHHH

配列番号 8 6 4

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{KNNYATYYADSVKG}RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGD^{PYVSWFAY}WGGT^{LTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE}
 PSLTVPGGTVTLTCG^{SSTGA}V^{TTSNYAN}WVQQKPGKSPRGLIGGT^{NKR}APGV^{PARFSGS}LLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVF^{GGGT}KLTVLGSHHHHH

配列番号 8 6 5

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{KNNYATYYADSVKG}RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGD^{PYVSWFAY}WGGT^{LTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE}

配列番号 8 6 6

QAVVTQEP^{SLTVSPGGTVTLTCG}^{SSTGA}V^{TTSNYAN}WVQQKPGKSPRGLIGGT^{NKR}APGV^{PARFSGS}LLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVF^{GGGT}KLTVLGSHHHHH

【図13I】

H1.91_L1.47

配列番号 8 6 7

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{KNNYATYYADSVKG}RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGD^{SYSWFAY}WGGT^{LTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE}
 PSLTVPGGTVTLTCG^{SSTGA}V^{TTSNYAN}WVQQKPGKSPRGLIGGT^{NKR}APGV^{PARFSGS}LLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVF^{GGGT}KLTVLGSHHHHH

配列番号 8 6 8

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{KNNYATYYADSVKG}RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGD^{SYSWFAY}WGGT^{LTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE}
 PSLTVPGGTVTLTCG^{SSTGA}V^{TTSNYAN}WVQQKPGKSPRGLIGGT^{NKR}APGV^{PARFSGS}LLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVF^{GGGT}KLTVLGSHHHHH

配列番号 8 6 9

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{KNNYATYYADSVKG}RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGD^{SYSWFAY}WGGT^{LTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE}

配列番号 8 7 0

QAVVTQEP^{SLTVSPGGTVTLTCG}^{SSTGA}V^{TTSNYAN}WVQQKPGKSPRGLIGGT^{NKR}APGV^{PARFSGS}LLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVF^{GGGT}KLTVLGSHHHHH

10

【図13J】

H1.92_L1.47

配列番号 8 7 1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{KNNYATYYADSVKG}RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGD^{SYSWFAY}WGGT^{LTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE}
 PSLTVPGGTVTLTCG^{SSTGA}V^{TTSNYAN}WVQQKPGKSPRGLIGGT^{NKR}APGV^{PARFSGS}LLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVF^{GGGT}KLTVLGSHHHHH

配列番号 8 7 2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{KNNYATYYADSVKG}RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGD^{SYSWFAY}WGGT^{LTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE}
 PSLTVPGGTVTLTCG^{SSTGA}V^{TTSNYAN}WVQQKPGKSPRGLIGGT^{NKR}APGV^{PARFSGS}LLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVF^{GGGT}KLTVLGSHHHHH

配列番号 8 7 3

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{KNNYATYYADSVKG}RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGD^{SYSWFAY}WGGT^{LTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE}

配列番号 8 7 4

QAVVTQEP^{SLTVSPGGTVTLTCG}^{SSTGA}V^{TTSNYAN}WVQQKPGKSPRGLIGGT^{NKR}APGV^{PARFSGS}LLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVF^{GGGT}KLTVLGSHHHHH

20

【図13K】

H1.93_L1.47

配列番号 8 7 5

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{KNNYATYYADSVKG}RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGD^{ESYSWFAY}WGGT^{LTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE}
 PSLTVPGGTVTLTCG^{SSTGA}V^{TTSNYAN}WVQQKPGKSPRGLIGGT^{NKR}APGV^{PARFSGS}LLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVF^{GGGT}KLTVLGSHHHHH

配列番号 8 7 6

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{KNNYATYYADSVKG}RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGD^{ESYSWFAY}WGGT^{LTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE}
 PSLTVPGGTVTLTCG^{SSTGA}V^{TTSNYAN}WVQQKPGKSPRGLIGGT^{NKR}APGV^{PARFSGS}LLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVF^{GGGT}KLTVLGSHHHHH

配列番号 8 7 7

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIKS^{KNNYATYYADSVKG}RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGD^{ESYSWFAY}WGGT^{LTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE}

配列番号 8 7 8

QAVVTQEP^{SLTVSPGGTVTLTCG}^{SSTGA}V^{TTSNYAN}WVQQKPGKSPRGLIGGT^{NKR}APGV^{PARFSGS}LLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVF^{GGGT}KLTVLGSHHHHH

30

40

50

【図13L】

H1.94_L1.47

配列番号 8 7 9

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFAYWGQGTIVTSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 8 0

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFAYWGQGTIVTSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 8 1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFAYWGQGTIVTSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 8 2

QAVVTQEPSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

【図13M】

H1.96_L1.47

配列番号 8 8 3

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDNYSWFAYWGQGTIVTSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 8 4

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDNYSWFAYWGQGTIVTSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 8 5

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDNYSWFAYWGQGTIVTSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 8 6

QAVVTQEPSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

10

【図13N】

H1.97_L1.47

配列番号 8 8 7

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDQYVSWFAYWGQGTIVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 8 8

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDQYVSWFAYWGQGTIVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 8 9

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDQYVSWFAYWGQGTIVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 9 0

QAVVTQEPSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

【図13O】

H1.98_L1.47

配列番号 8 9 1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTIVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 9 2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTIVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 9 3

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKLEWVGIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTIVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

配列番号 8 9 4

QAVVTQEPSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWWFGGGTKLTVLGSHHHHHH

20

30

40

50

【図 1 3 T】

H1.103_L1.47

配列番号 9 1 1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGFDNYVSWFYWGQGTLTVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

配列番号 9 1 2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGFDNYVSWFYWGQGTLTVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

配列番号 9 1 3

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGFDNYVSWFYWGQGTLTVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

配列番号 9 1 4

QAVVTQEPSTVSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

【図 1 3 U】

H1.104_L1.47

配列番号 9 1 5

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGDPYVSWFYWGQGTLTVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

配列番号 9 1 6

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGDPYVSWFYWGQGTLTVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

配列番号 9 1 7

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGDPYVSWFYWGQGTLTVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

【図 1 3 V】

H1.105_L1.47

配列番号 9 1 9

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGDQYVSWFYWGQGTLTVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

配列番号 9 2 0

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGDQYVSWFYWGQGTLTVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

配列番号 9 2 1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGDQYVSWFYWGQGTLTVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

配列番号 9 2 2

QAVVTQEPSTVSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

【図 1 3 W】

H1.106_L1.47

配列番号 9 2 3

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGD5YVSWFAYWGQGTLTVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
EPSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
EADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

配列番号 9 2 4

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGD5YVSWFAYWGQGTLTVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
EPSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
EADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

配列番号 9 2 5

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGD5YVSWFAYWGQGTLTVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
EPSLTSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
EADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

配列番号 9 2 6

QAVVTQEPSTVSPGGTVLTCGSSTGAUTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

10

20

30

40

50

(83)

【図 14B】

【図 15A】

> XENPO180807 航 SSTR2 (H1.. 1.43..1.. 30) xRCD3 (H1.. 32..1.. 47) CD3 sc Fv v hCDR3 配列番号 10.9
 EVOLVESEGGSUCLASSFESTAMMWRDAGGLEWVOMISRAVANAYADICGTRDRDKSNTLQMSIRADTAETVYHNGQOTLVYKPGPS
 GRPSGRPSGS/DAUTVTSNSGKQHSDLSSTAWWOPQRSPKGSSVNSMHEANGQOTLVYKPGPS
 KTHCPDPAPPAPEPHPKMRSFCKTWDVPEVNRHQAENHAKTCPTWDVYDWSQWQGUNSKALPAPEKTSKAGQHEDQVTPPSK
 QMTWQDNLKLGPHQDADWEVWQDNPKWYPTDSDSUSQWQGUNSKALPAPEKTSKAGQHEDQVTPPSK
 > XEP0180807 航 SSTR2 (H1.. 1.43..1.. 30) xRCD3 (H1.. 30..1.. 47) CD3 sc Fv v hCDR3 配列番号 10.8
 ;
 > XEP0180807 航 SSTR2 (H1.. 1.43..1.. 30) xRCD3 (H1.. 30..1.. 47) CD3 sc Fv v hCDR3 配列番号 10.8
 EVOLVESEGGSUCLASSFESTAMMWRDAGGLEWVOMISRAVANAYADICGTRDRDKSNTLQMSIRADTAETVYHNGQOTLVYKPGPS
 GRPSGRPSGS/DAUTVTSNSGKQHSDLSSTAWWOPQRSPKGSSVNSMHEANGQOTLVYKPGPS
 TAWN
 > XEP0180807 航 SSTR2 (H1.. 1.43..1.. 30) xRCD3 (H1.. 30..1.. 47) CD3 sc Fv v hCDR3 配列番号 10.8
 ;
 BESKONKLATADSUS
 > XEP0180807 航 SSTR2 (H1.. 1.43..1.. 30) xRCD3 (H1.. 30..1.. 47) CD3 sc Fv v hCDR3 配列番号 10.8
 ;
 HSHESHTYMAV
 > XEP0180807 航 SSTR2 (H1.. 1.43..1.. 30) xRCD3 (H1.. 30..1.. 47) CD3 sc Fv v hCDR3 配列番号 10.8
 QAVTVEPSPVSPVGLTGSTEGATTTSYAWWOPQRSPKGSSVNSMHEANGQOTLVYKPGPS
 ;
 > XEP0180807 航 SSTR2 (H1.. 1.43..1.. 30) xRCD3 (H1.. 30..1.. 47) CD3 sc Fv v hCDR3 配列番号 10.8
 GSSGATZTMVAN
 > XEP0180807 航 SSTR2 (H1.. 1.43..1.. 30) xRCD3 (H1.. 30..1.. 47) CD3 sc Fv v hCDR3 配列番号 10.8
 ;
 GTHMAP
 > XEP0180807 航 SSTR2 (H1.. 1.43..1.. 30) xRCD3 (H1.. 30..1.. 47) CD3 sc Fv v hCDR3 配列番号 10.8
 ;
 ALAYSWMM
 > XEP0180807 航 SSTR2 (H1.. 1.43..1.. 30) xRCD3 (H1.. 30..1.. 47) CD3 sc Fv v hCDR3 配列番号 10.7
 ;
 DTHKSAZ
 > XEP0180807 航 SSTR2 (H1.. 1.43..1.. 30) xRCD3 (H1.. 30..1.. 47) CD3 sc Fv v hCDR3 配列番号 10.6
 ;

【図16B】

【図16C】

高CD 3	高中側# 1 CD 3	高中側# 2 CD 3	高中側# 3 CD 3	中側 C D 3	低CD 3
低CD 3	低CD 3	低CD 3	低CD 3	低CD 3	低CD 3
H1.30_L1.47	H1.32_L1.47	H1.39_L1.47	H1.90_L1.47	H1.33_L1.47	H1.31_L1.47
抗SS TR 2	A, B, C, D, E, F				
H1.125_L1.30					
抗SS TR 2	A, B, C, D, E, F				
H1.125_L1.67					
抗SS TR 2	A, B, C, D, E, F				
H1.125_L1.108					
抗SS TR 2	A, B, C, D, E, F				
H1.125_L1.111					
抗SS TR 2	A, B, C, D, E, F				
H1.125_L1.114					
抗SS TR 2	A, B, C, D, E, F				
H1.125_L1.102					
抗SS TR 2	A, B, C, D, E, F				
H1.125_L1.110					

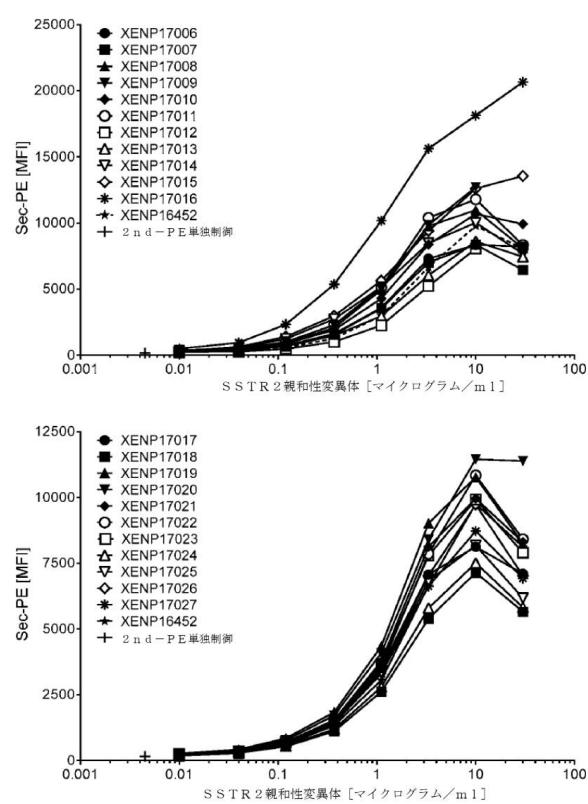
【図16D】

【図16E】

【図 16 F】

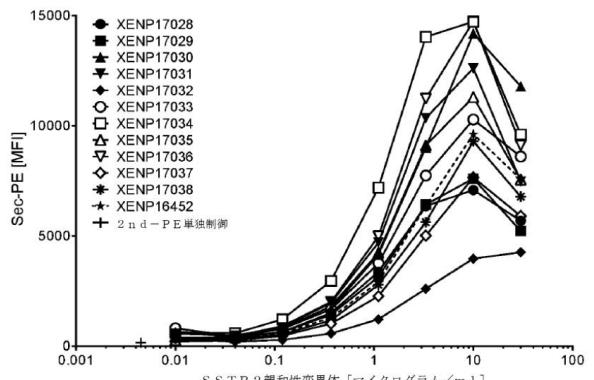
	高CD3	高CD3 # 1 3	CD	高CD3 # 2 CD3	高CD3 # 3 CD3	中間# 3 CD3	中間# 3 CD3	低CD3	低CD3
抗CD3	抗CD3	抗CD3	A, B, C, D	A, B, C, D	A, B, C, D	A, B, C, D	A, B, C, D	A, B, C, D	A, B, C, D
H1.30_L1.47	H1.32_L1.47	H1.39_L1.47	H1.30_L1.47	H1.32_L1.47	H1.39_L1.47	H1.33_L1.47	H1.33_L1.47	H1.31_L1.47	H1.31_L1.47
抗SSTR2	抗SSTR2	抗SSTR2	A, B, C, D	A, B, C, D	A, B, C, D	A, B, C, D	A, B, C, D	A, B, C, D	A, B, C, D
H1.125_L1.30	H1.125_L1.67	H1.125_L1.108	H1.125_L1.111	H1.125_L1.114	H1.125_L1.102	H1.125_L1.110	H1.125_L1.102	H1.125_L1.110	H1.125_L1.110

【図 17 A】



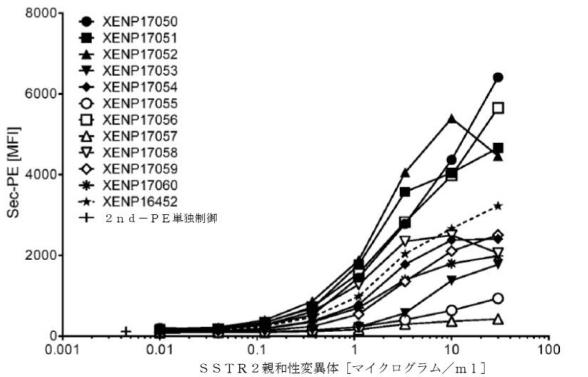
10

【図 17 B】

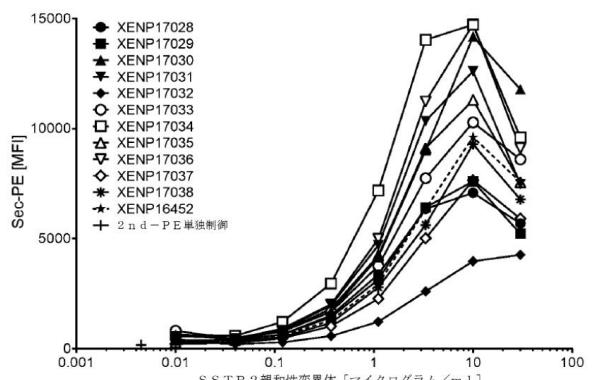


20

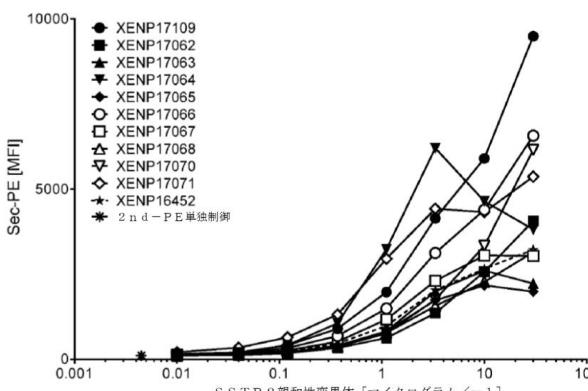
【図 17 C】



30

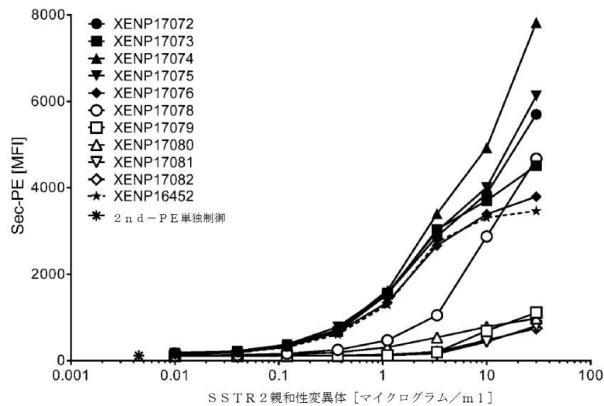


40

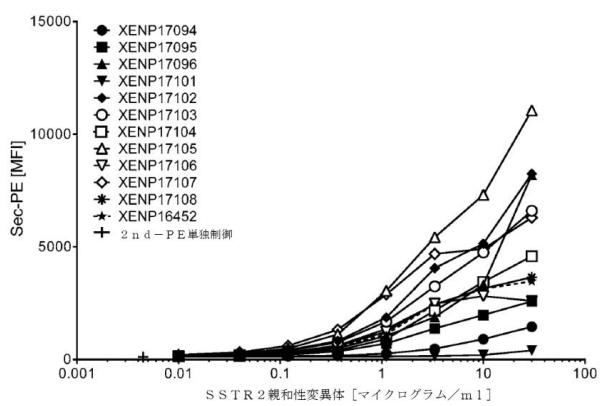


50

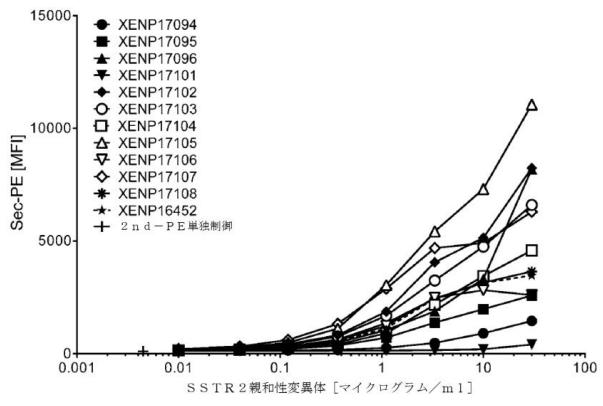
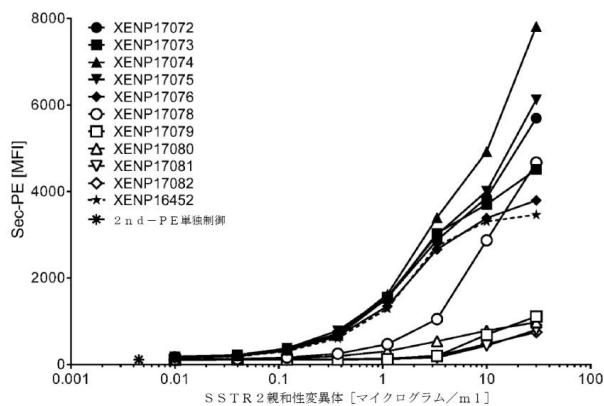
【図 17 D】



【図 17 E】

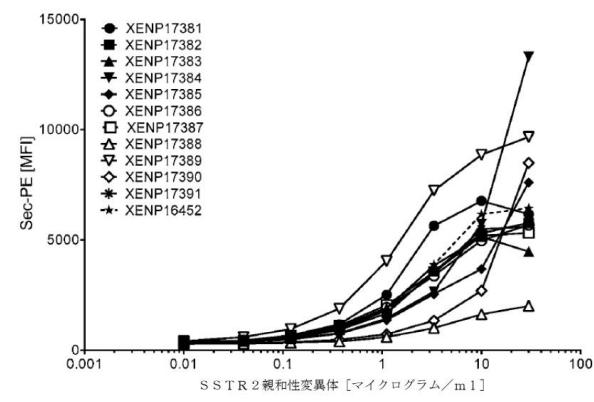


10

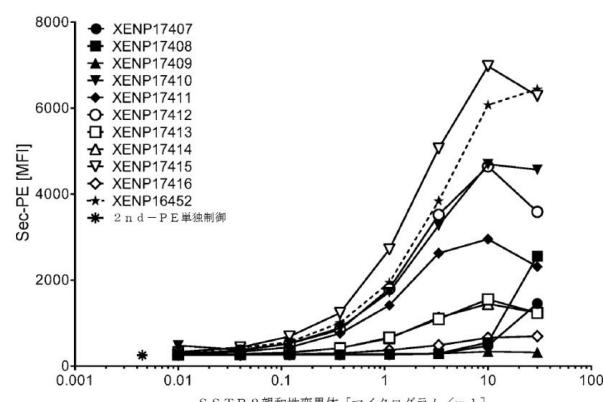


20

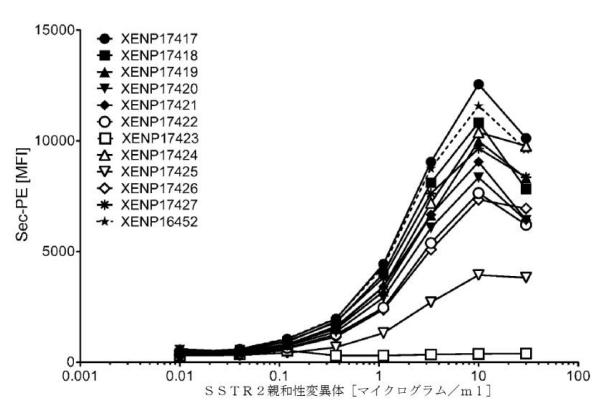
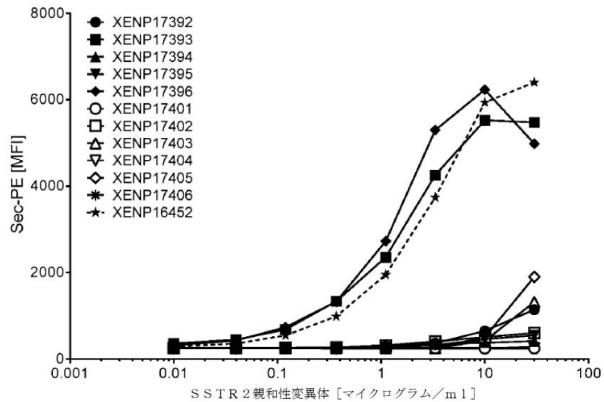
【図 17 F】



【図 17 G】



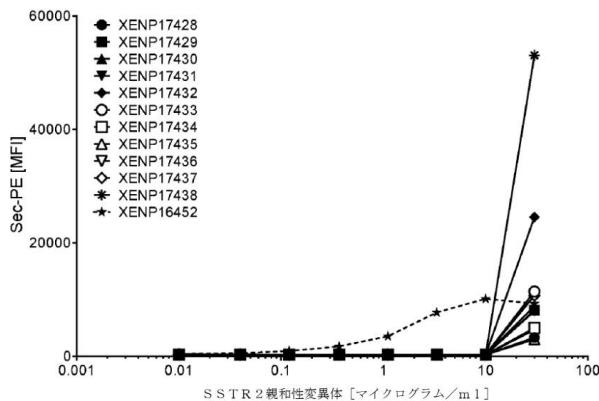
30



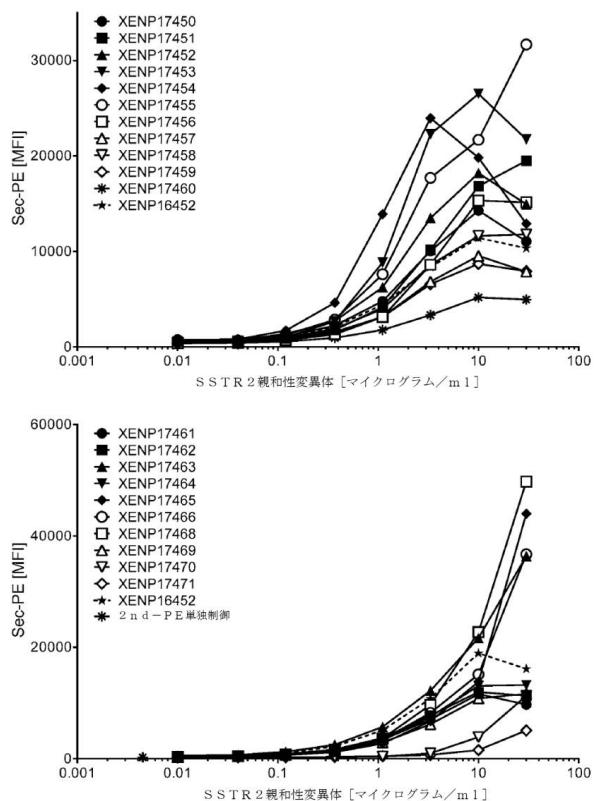
40

50

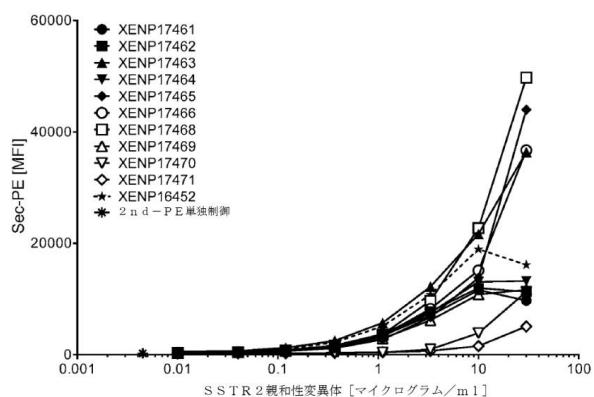
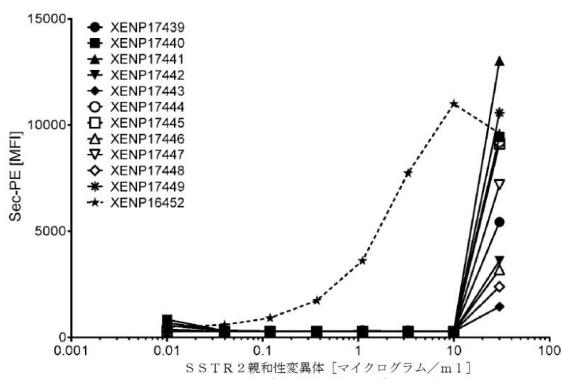
【図 17 H】



【図 17 I】

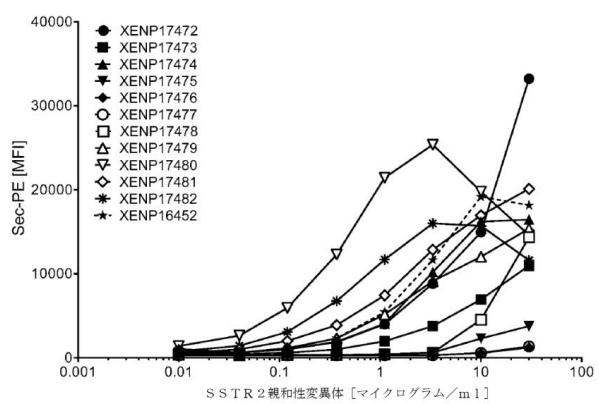


10

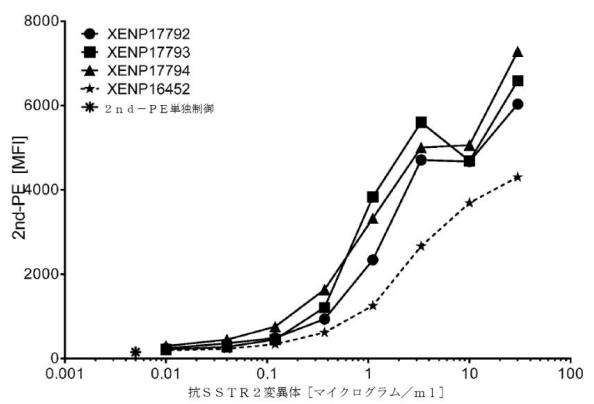


20

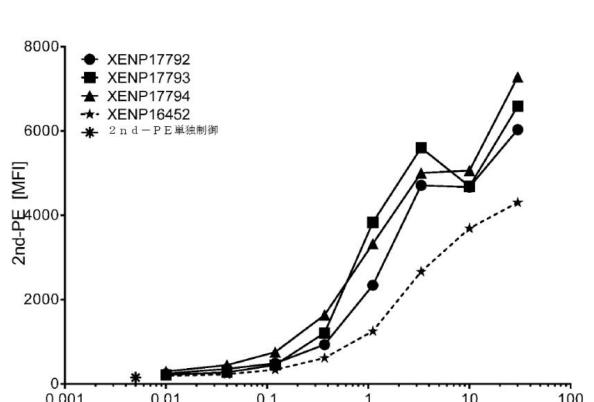
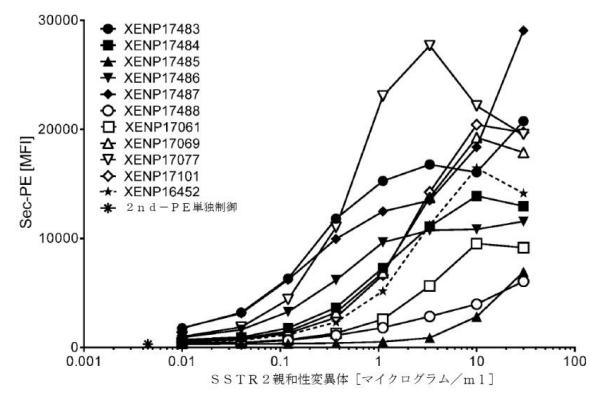
【図 17 J】



【図 17 K】



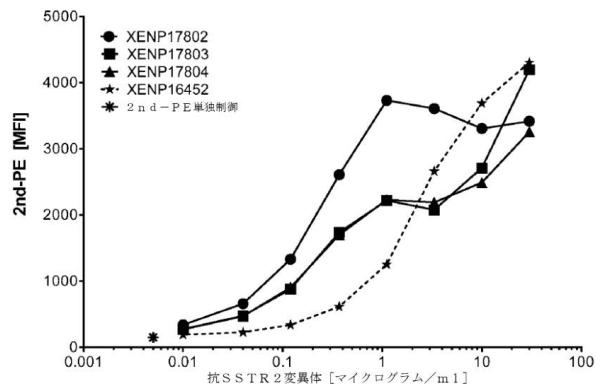
30



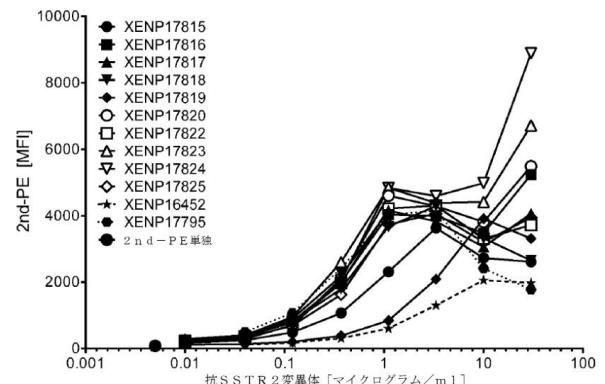
40

50

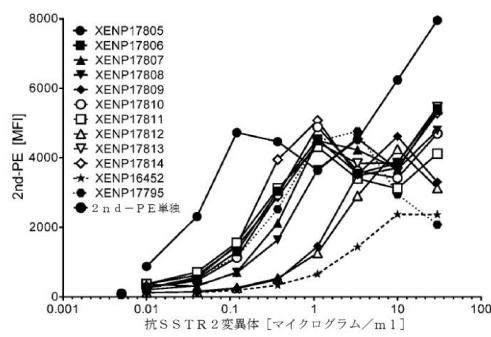
【図 17 L】



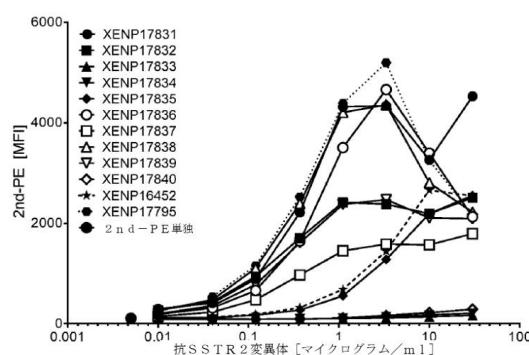
【図 17 M】



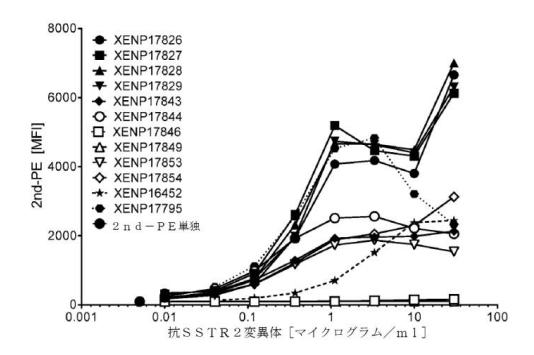
10



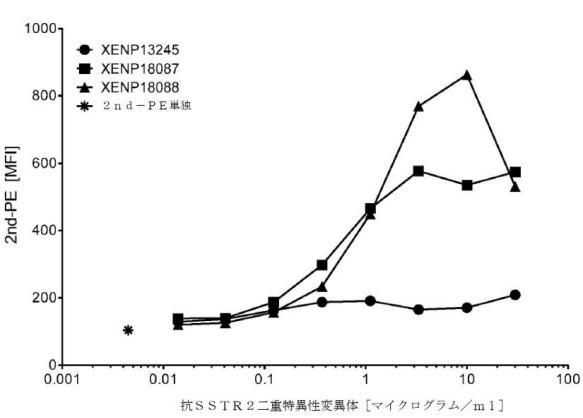
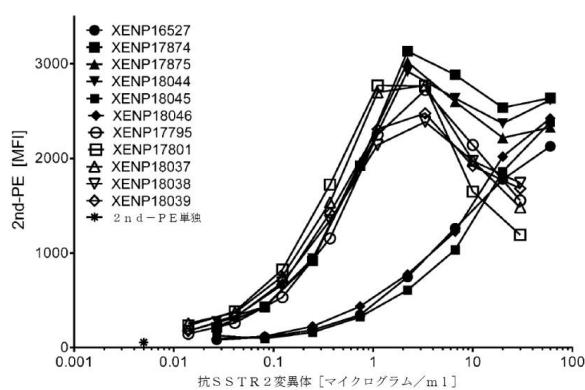
20



30

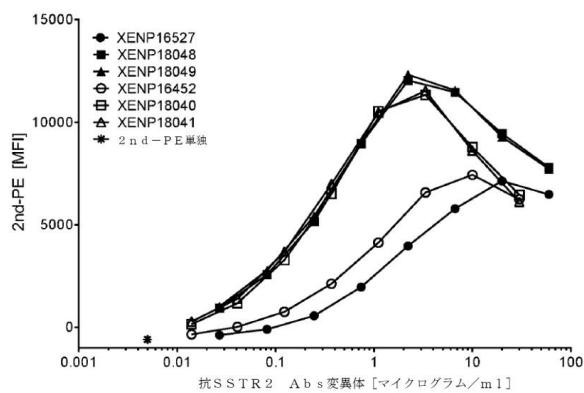


40

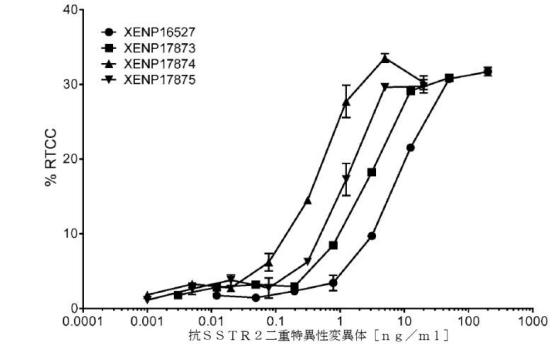


50

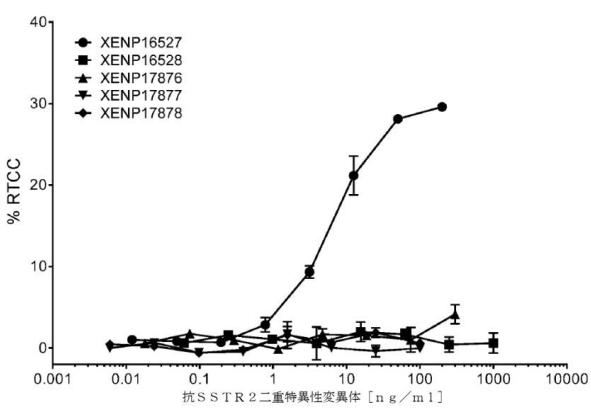
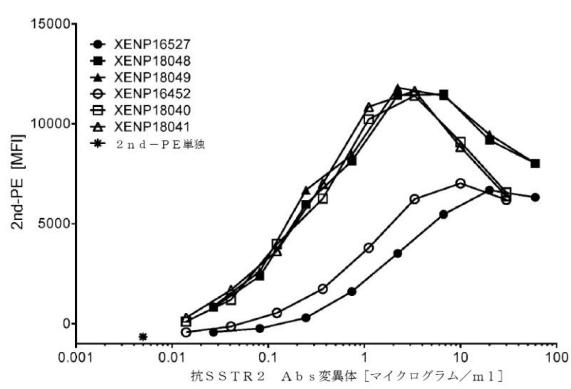
【図 17 P】



【図 18 A】

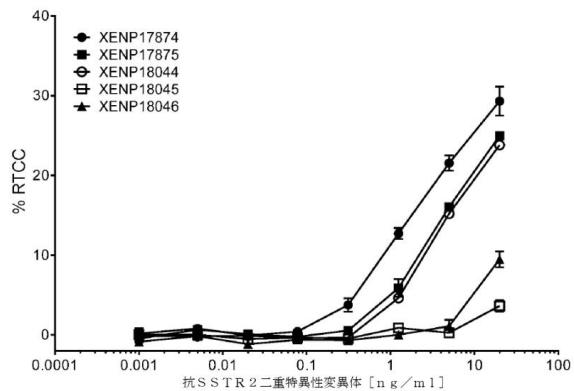


10

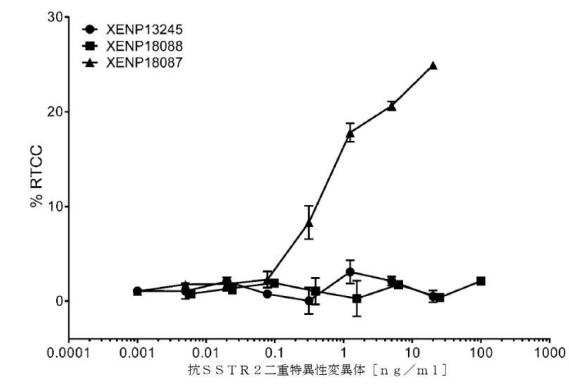


20

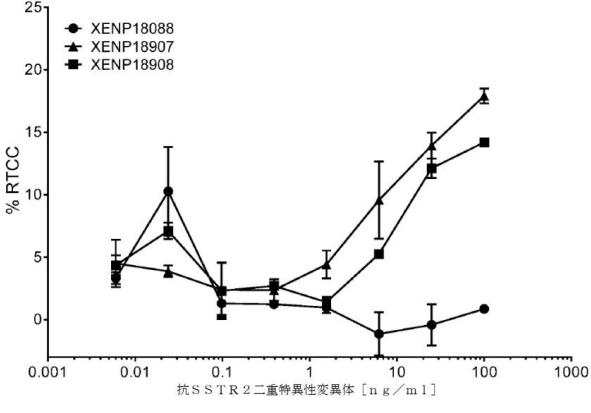
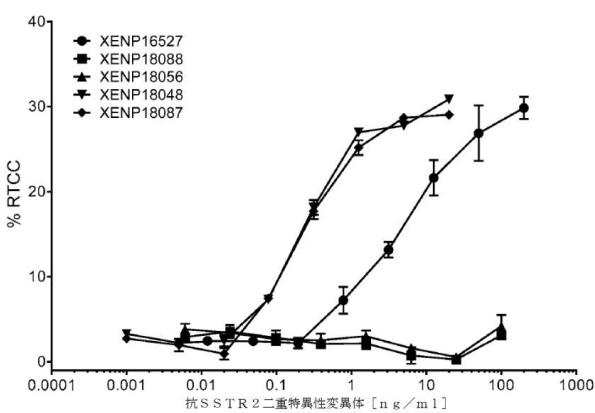
【図 18 B】



【図 18 C】



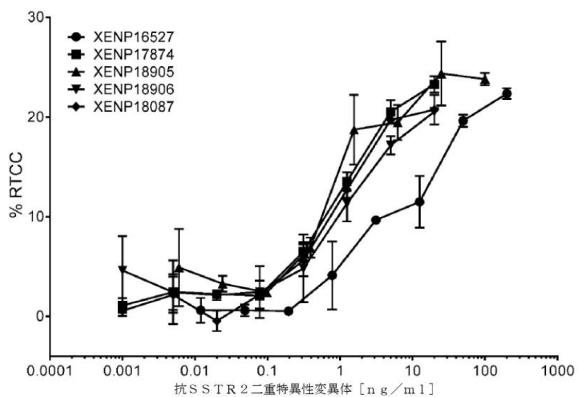
30



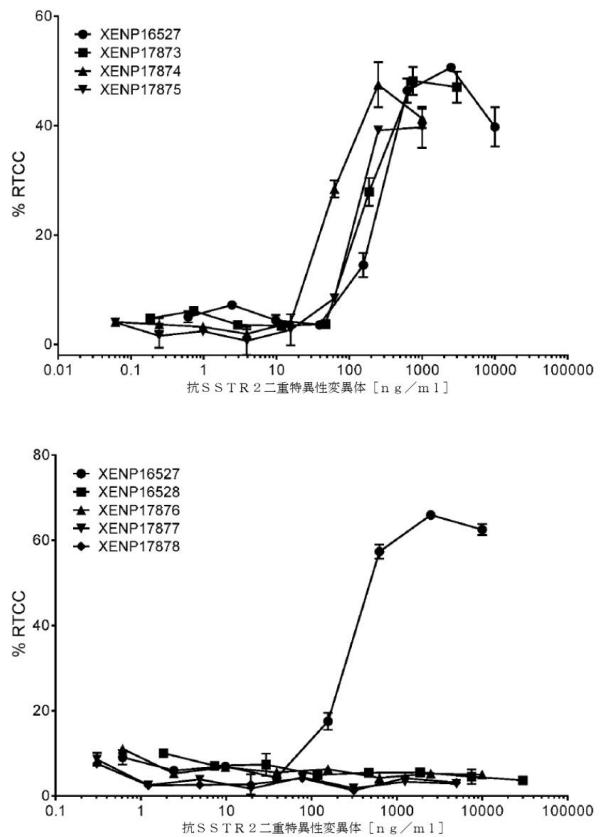
40

50

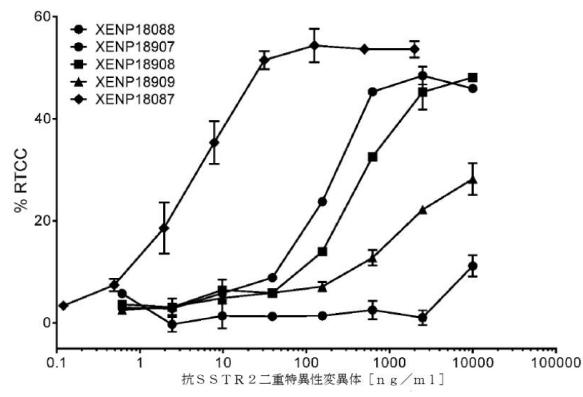
【図 1 8 D】



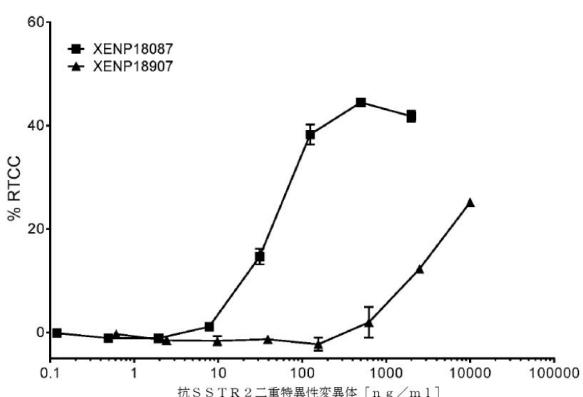
【図 1 9 A】



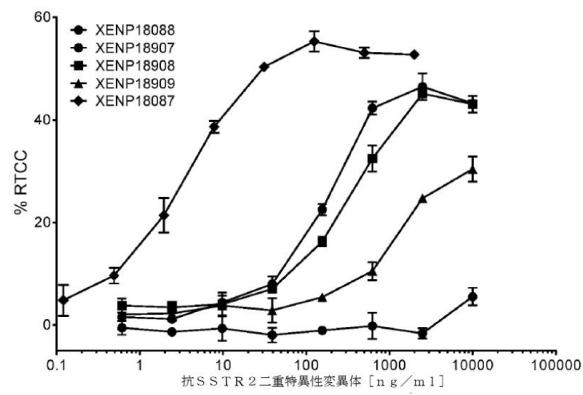
【図 1 9 B】



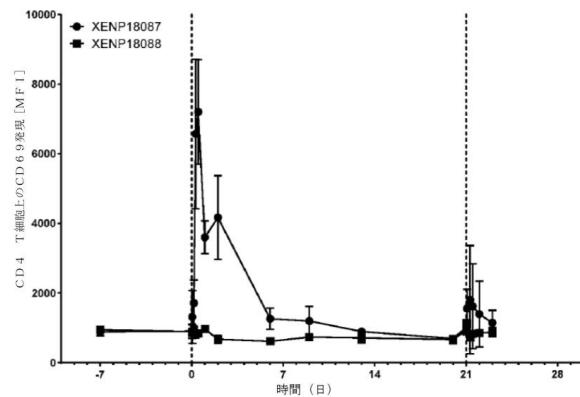
【図 1 9 C】



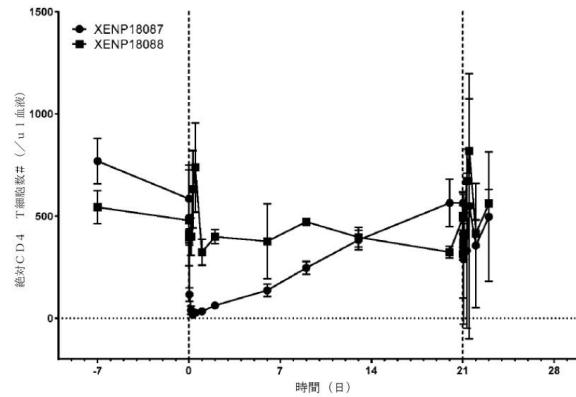
【図 1 9 D】



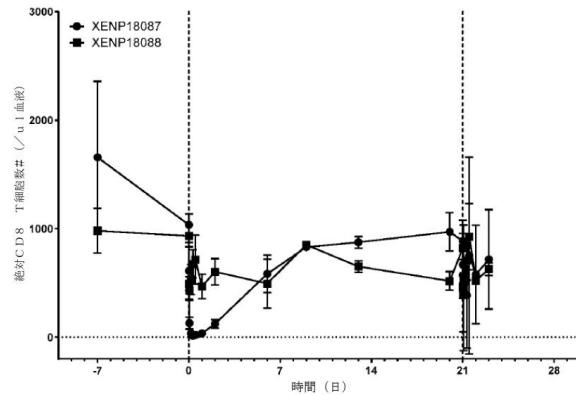
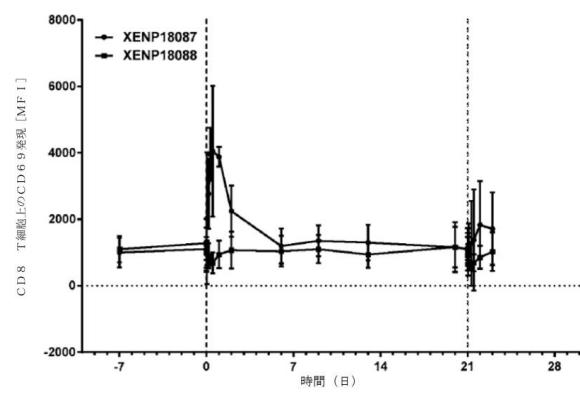
【図 20 A】



【図 20 B】

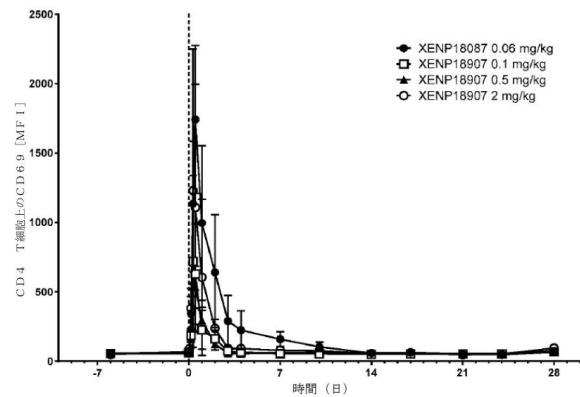


10

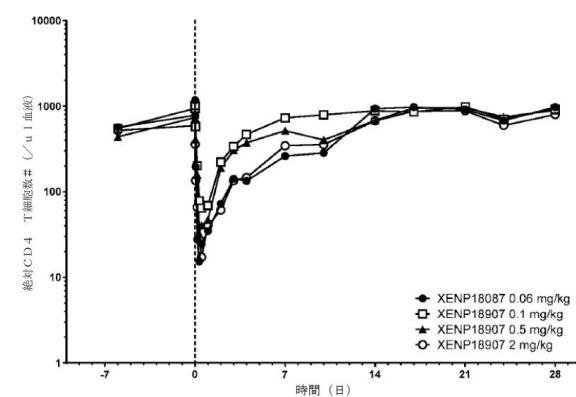


20

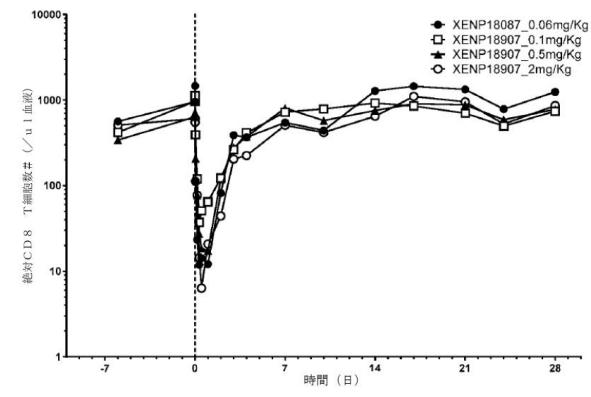
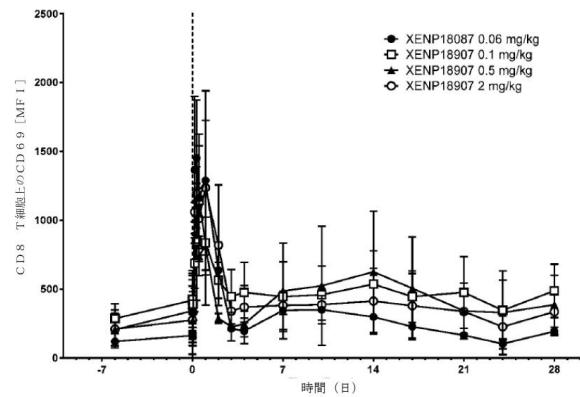
【図 21 A】



【図 21 B】



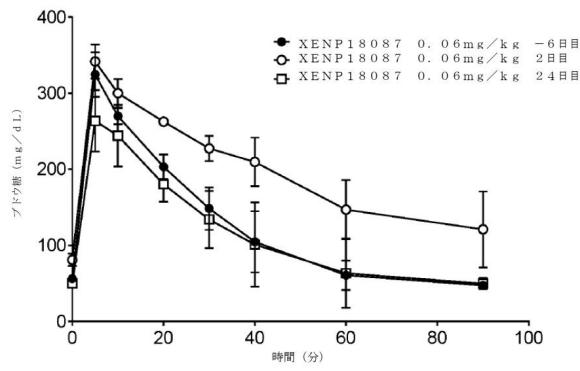
30



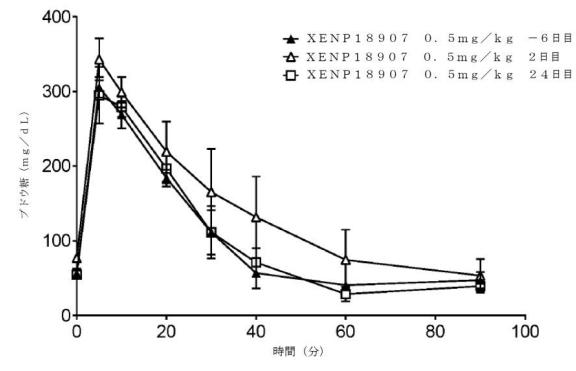
40

50

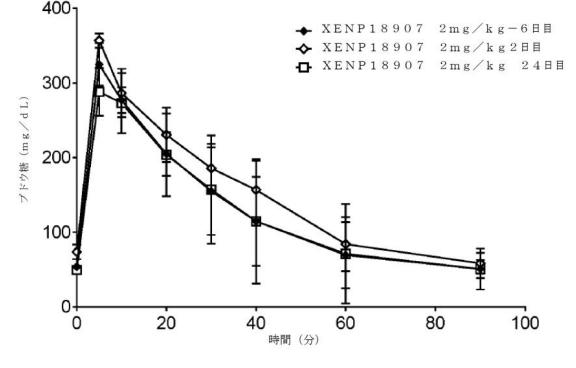
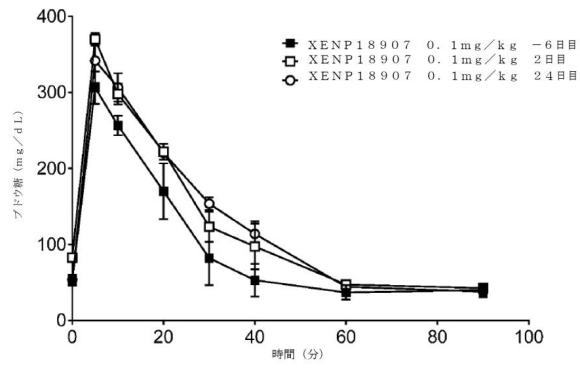
【図 2 1 C】



【図 2 1 D】

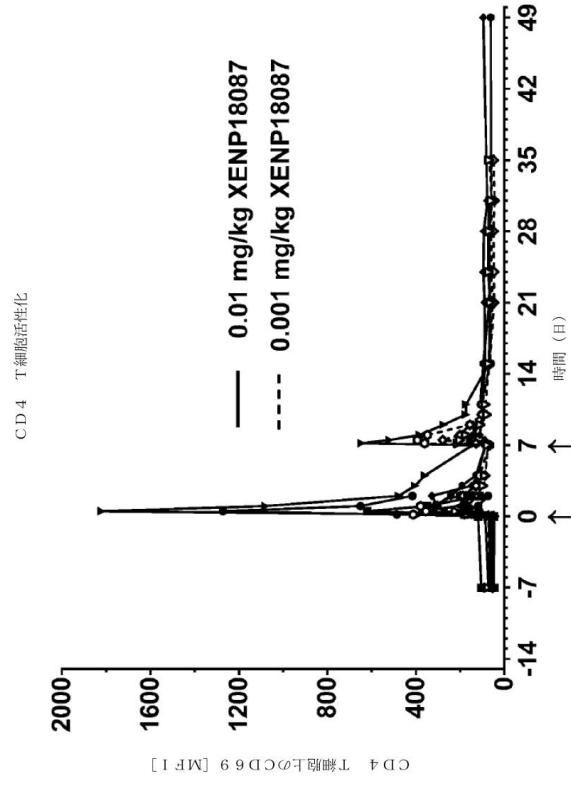


10

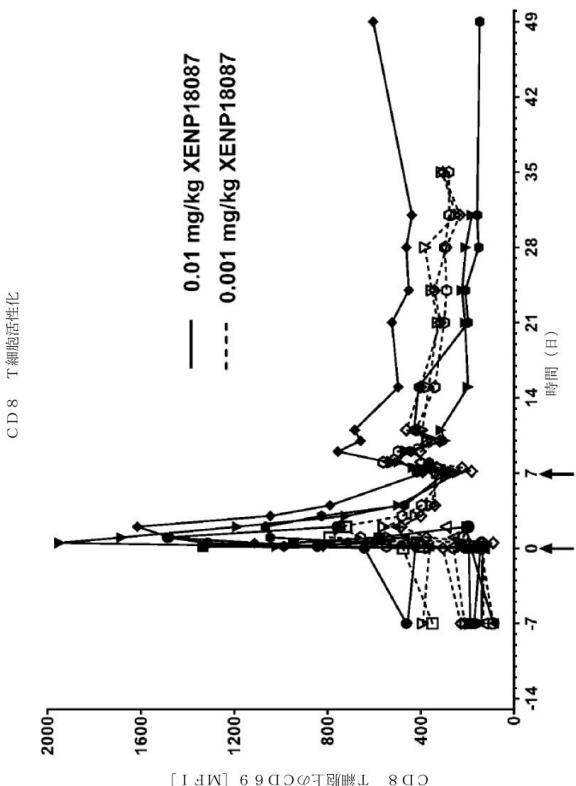


20

【図 2 2 A】



【図 2 2 B】

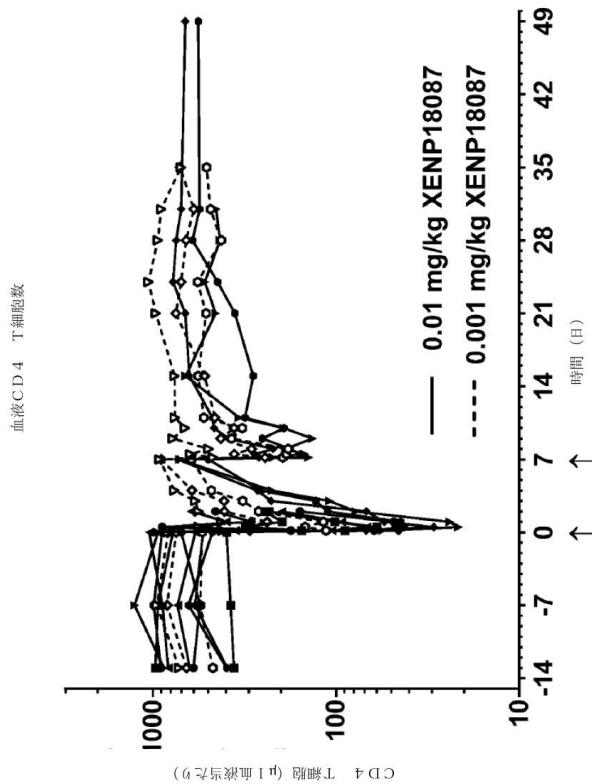


30

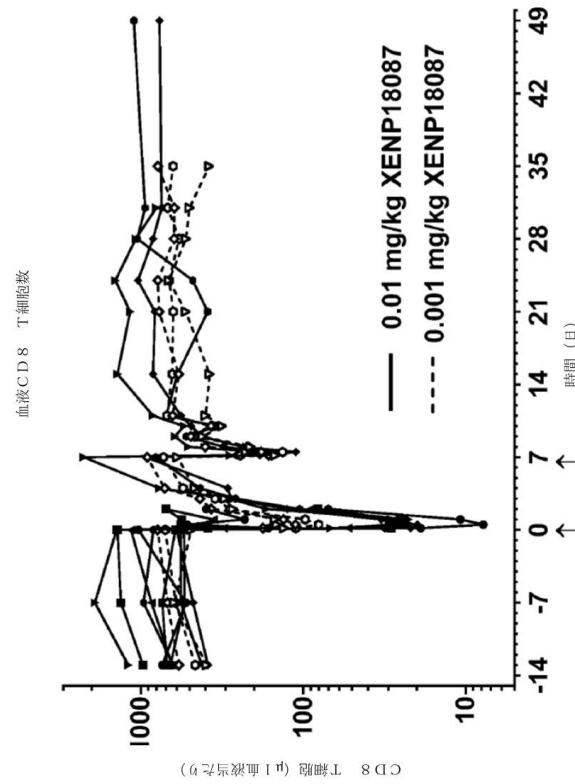
40

50

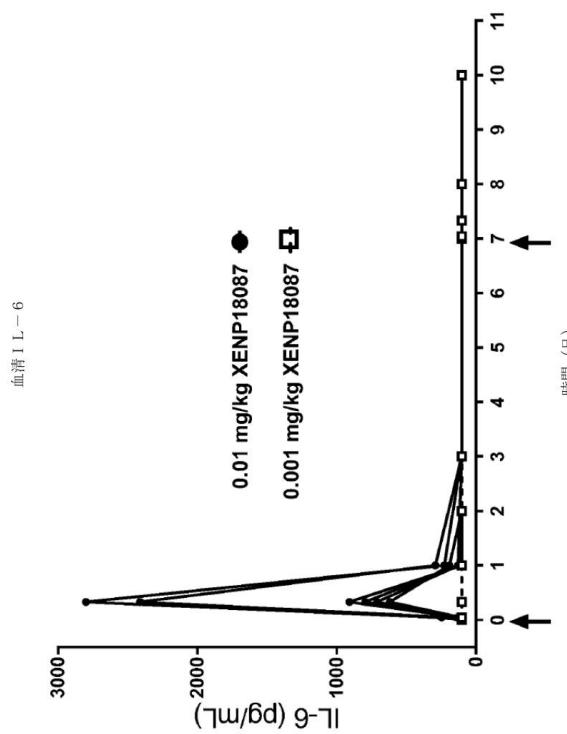
【図 2 2 C】



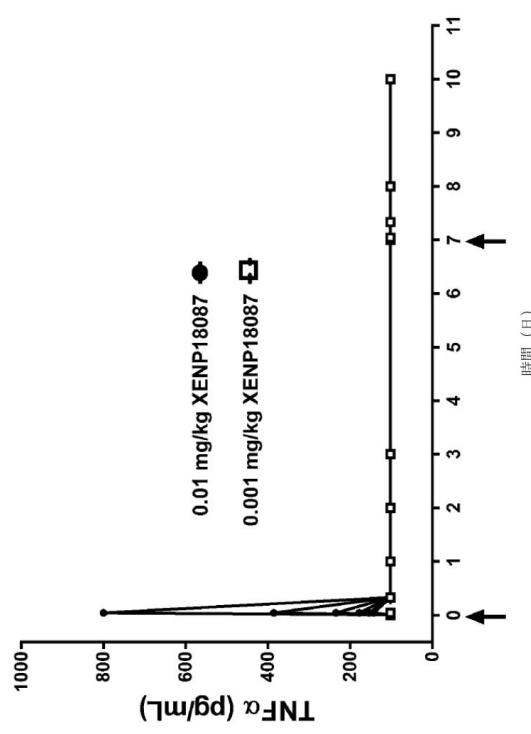
【図 2 2 D】



【図 2 2 E】



【図 2 2 F】



10

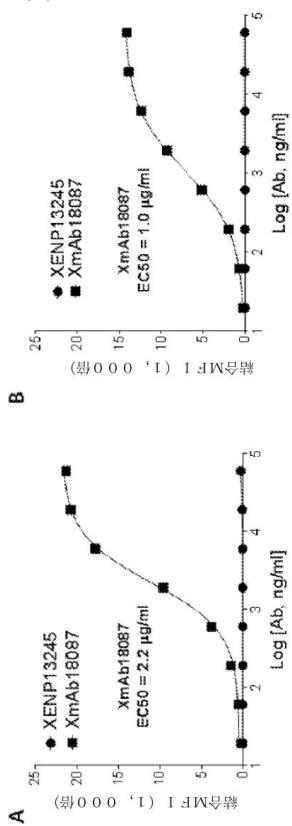
20

30

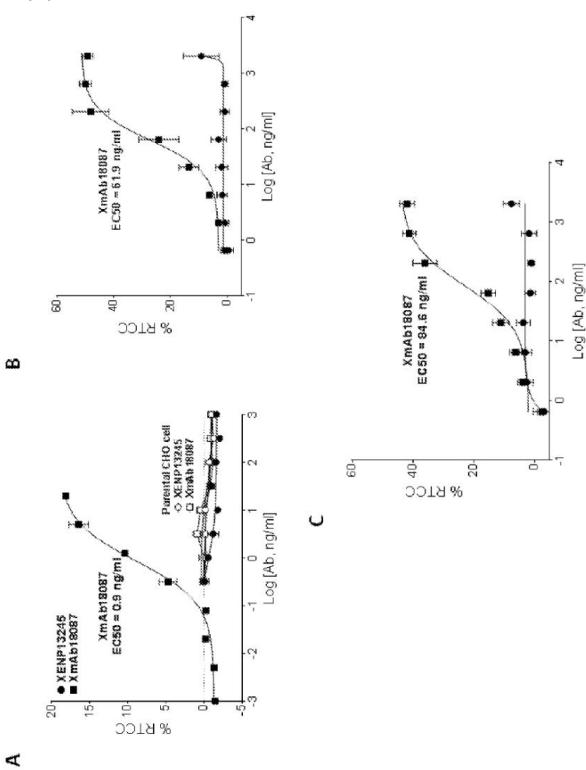
40

50

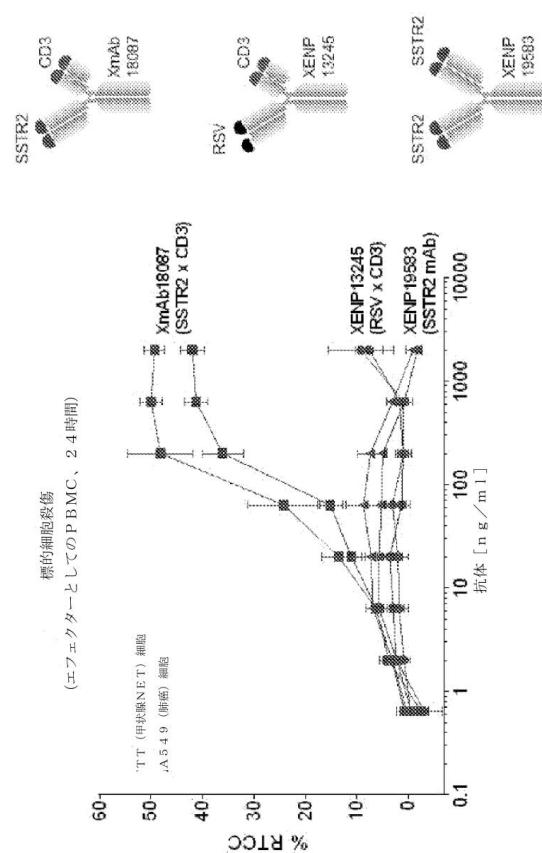
【図 2 3】



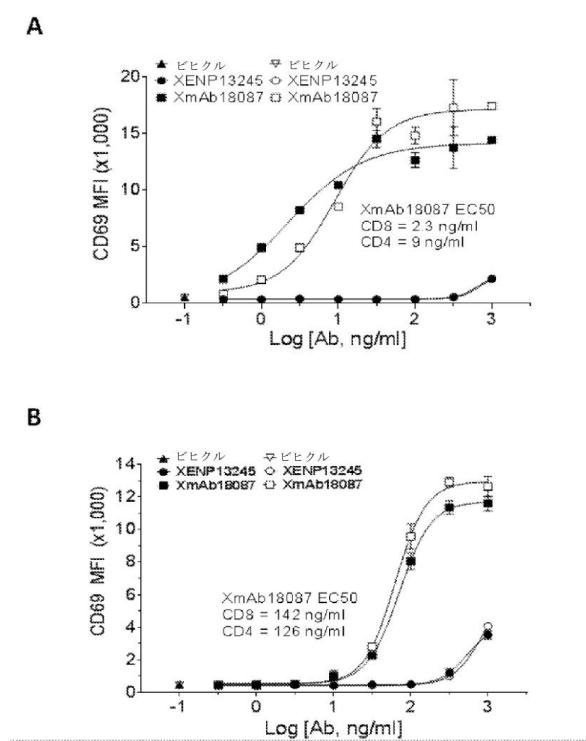
【図 2 4】



【図 2 5】



【図 2 6】



10

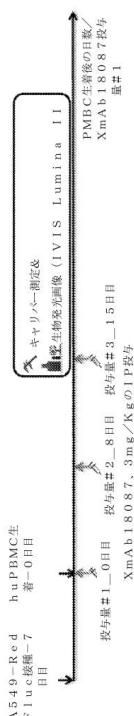
20

30

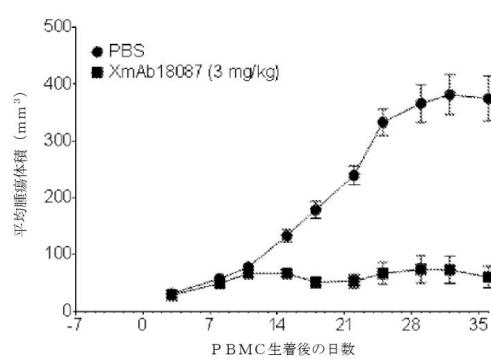
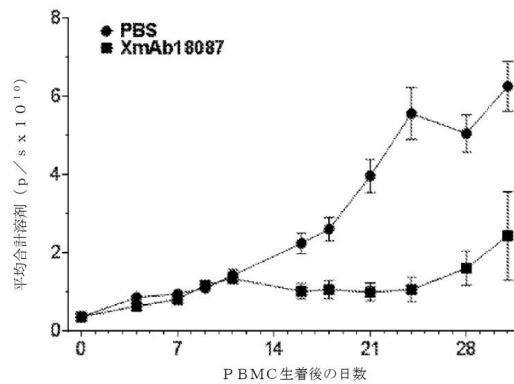
40

50

【図 27】



【図 28】

A**B**

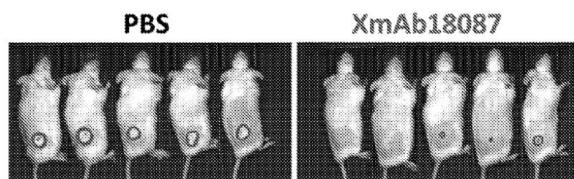
10

20

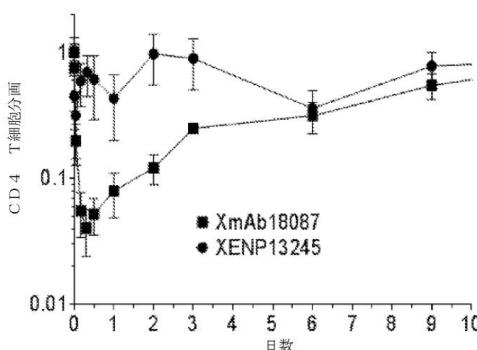
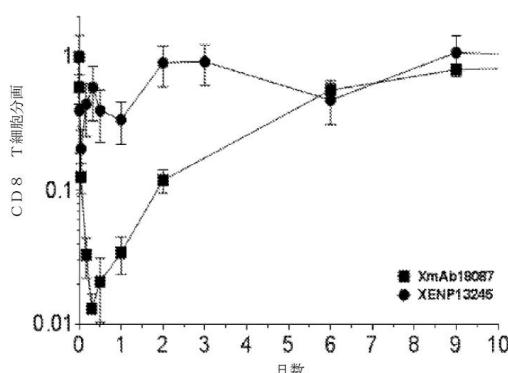
30

40

【図 29】

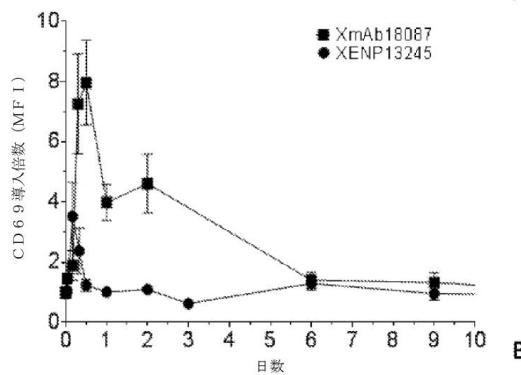
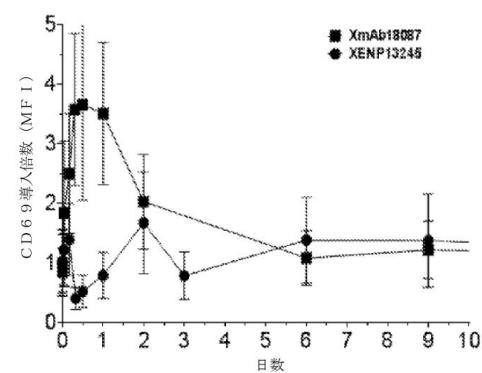


【図 30】

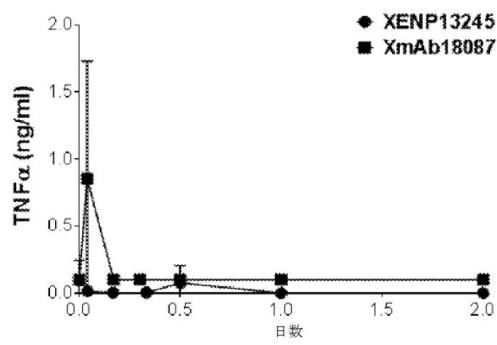
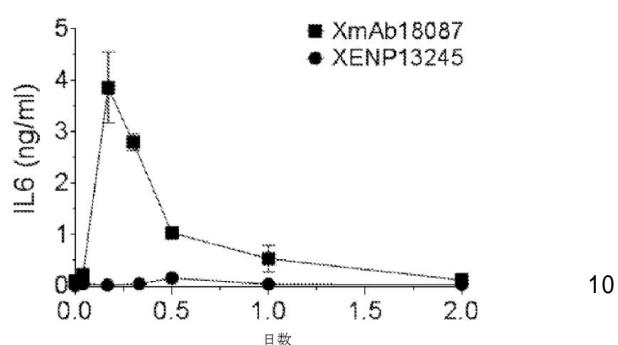
A**B**

50

【図 3 1】

A**B**

【図 3 2】

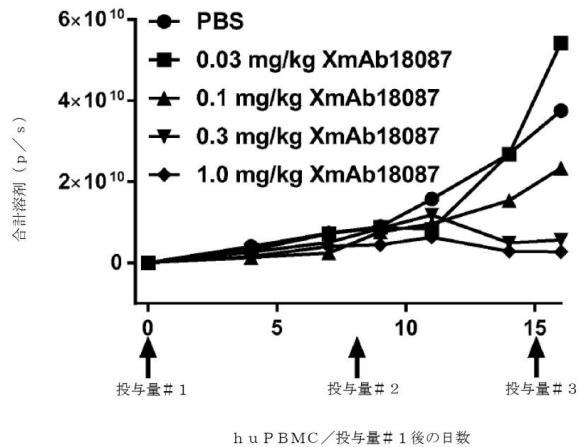
A

10

20

30

【図 3 3】



【配列表】

0007021127000001.app

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

	F	I			
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	C 1 2 P	21/08	
C 1 2 N	1/15	(2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	(2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
			A 6 1 K	39/395	H

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/355,821

(32)優先日 平成28年6月28日(2016.6.28)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/355,820

(32)優先日 平成28年6月28日(2016.6.28)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

1 0 1 6 , モンロビア , ウエスト レモン アベニュー 1 1 1 , ゼンコア インコーポレイテッド内

(72)発明者 ラシッド , ルマナ

アメリカ合衆国 , カリフォルニア州 9 1 0 1 6 , モンロビア , ウエスト レモン アベニュー 1
1 1 , ゼンコア インコーポレイテッド内

(72)発明者 リー , サン - ヒュン

アメリカ合衆国 , カリフォルニア州 9 1 0 1 6 , モンロビア , ウエスト レモン アベニュー 1
1 1 , ゼンコア インコーポレイテッド内

(72)発明者 フォスター , ポール

アメリカ合衆国 , カリフォルニア州 9 1 0 1 6 , モンロビア , ウエスト レモン アベニュー 1
1 1 , ゼンコア インコーポレイテッド内

審査官 福澤 洋光

(56)参考文献 特表 2 0 0 0 - 5 1 2 1 3 0 (J P , A)

国際公開第 2 0 1 5 / 1 4 9 0 7 7 (WO , A 1)

国際公開第 2 0 1 6 / 0 8 6 1 8 6 (WO , A 2)

国際公開第 2 0 1 6 / 0 8 6 1 8 9 (WO , A 1)

Cancer Cell International , 2013年 , Vol.13:93 , pp.1-13

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B名)

C 1 2 N 1 / 0 0 - 1 5 / 9 0

C 0 7 K 1 / 0 0 - 1 9 / 0 0

C 1 2 P 1 / 0 0 - 4 1 / 0 0

C A / M E D L I N E / B I O S I S (S T N)

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

U n i P r o t / G e n e S e q

P u b M e d