

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2022-530442

(P2022-530442A)

(43)公表日 令和4年6月29日(2022.6.29)

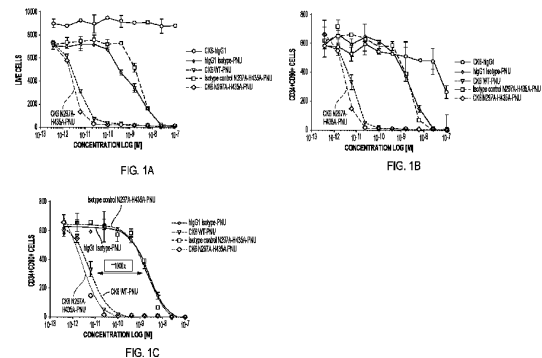
(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 16/30 (2006.01)	C 0 7 K 16/30	4 C 0 7 6
A 6 1 K 31/5383(2006.01)	A 6 1 K 31/5383	4 C 0 8 5
A 6 1 K 39/395(2006.01)	A 6 1 K 39/395	4 C 0 8 6
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	4 H 0 4 5
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 47/68	
審査請求 未請求	予備審査請求 未請求	(全75頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2021-563165(P2021-563165)	(71)出願人	518445159
(86)(22)出願日	令和2年4月23日(2020.4.23)		マジエンタ セラピューティクス インコ
(85)翻訳文提出日	令和3年12月20日(2021.12.20)		ーポレイテッド
(86)国際出願番号	PCT/US2020/029656		MAGENTA THERAPEUTI
(87)国際公開番号	WO2020/219774		C S, INC.
(87)国際公開日	令和2年10月29日(2020.10.29)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0
(31)優先権主張番号	62/838,267		2 1 3 9 ケンブリッジ テクノロジー
(32)優先日	平成31年4月24日(2019.4.24)		スクエア 1 0 0 フィフス フロア
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100147485
			弁理士 杉村 憲司
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(74)代理人	230118913
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(		弁護士 杉村 光嗣
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A	(74)代理人	100181847
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR		弁理士 大島 かおり
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,	(72)発明者	シャーロット フェントン マクドナー
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 アントラサイクリン抗体薬物複合体およびその使用

(57)【要約】

アントラサイクリンおよび抗CD117の抗体薬物コンジュゲート(ADC)、並びにこれを使用する組成物および方法が提供される。本明細書に提供される組成物および方法は、また、移植手順の前に内因性の造血幹細胞を選択的に枯渇させることによって、造血幹細胞移植治療のための患者を調整し、また、造血幹細胞移植の生着を改善するために使用することができる。種々の造血性疾患、代謝障害、癌、および自己免疫疾患の治療のための方法および組成物を提供する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

細胞毒素がリンカー(L)を介して細胞毒素(Ab)に共役される抗CD117(ADC)は、ヘビーチェーン(HC)-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3から成るヘビーチェーン(HC)-CDR1、およびHC-CDR3で構成されており、また、ライトチェーン(LC)-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3で構成されるヘビーチェーン(HC)-CDR1、およびHC-CDR3で構成されており、SEQ ID No:245に記載されているように、ヘビーチェーン(HC)-CDR1、およびHC-CDR3で構成される 各々246、247、軽鎖(LC) SEQ ID No:248、249、および250に記載されているアミノ酸配列を含む、LC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3。

10

【請求項 2】

細胞毒素がリンカー(L)を介して細胞毒素(Ab)に結合された薬物CD-drug 結合体(ADC)であり、細胞毒素がアントラサイクリンを含み、かつ、薬物CD117薬物原結合部が、SEQ ID NO: 9に示されたようなアミノ酸配列を含む可変領域と、SEQ ID NO: 10に示されたような可変領域を含む可変領域から成るライトチェーン、またはSEQ ID NO: 243に示されたようなアミノ酸配列を含む可変領域から成る重鎖から成る、細胞毒素がアントラサイクリンを含み、また、薬物CD117薬物原結合部を含む重鎖が、SEQ ID NO: 244に示されたように、アミノ酸配列を含む可変領域から成るライトチェーンを含む。

【請求項 3】

細胞毒素がリンカー(L)を介して細胞毒素(Ab)に結合された抗CD-drug 結合体(ADC)であり、細胞毒素がアントラサイクリンを含み、かつ、抗CD117抗原結合部が、SEQ ID NO: 109に記載されたアミノ酸と、SEQ ID NO: 110、111、112、113、または114に記載されたアミノ酸を含む軽鎖、またはSEQ ID NO: 284に記載されたアミノ酸を含む重鎖およびSEQ ID NO: 275、276、277または278に記載されたアミノ酸を含む軽鎖を含む、細胞毒素-ドラッグ結合体(ADC)である。

20

【請求項 4】

サイトトキシンがリンカー(L)を介したサイトトキシン結合部(Ab)を含む、HC-CDR1、Ab54、Ab57、Ab68、Ab67、Ab68、Ab85、Ab86、Ab87、Ab88、Ab89、Ab77、Ab81、Ab85、Ab85、Ab85、Ab89、Ab85、Ab85Ab55、Ab57、Ab58、Ab66、Ab67、Ab68、Ab68、Ab69、Ab86、Ab87、Ab89、Ab777のライトチェーン可変領域、SEQ ID NO: 147、164、168、172、176、178、185、189、195、197、192、201、202、206、202、210、212、216、210、222、224、226、238 または243の重鎖可変領域およびSEQ ID NO: 148、149、151、152、153、155、162、169、167、169、182、178、167、169、182、198、200、203、209、211、215、219、223、227、229、231、233、234、236、239、241、244

30

【請求項 5】

アントラサイクリンがPNU-159682である請求項1-4のいずれかのADC。

【請求項 6】

ADCが式(VI)又は(VII)で表される請求項1-4のいずれかのADC:

[化1]

Zは、反応性の代替物とその抗原結合フラグメントとのカップリング反応と、リンカー上の反応性の代替物とのカップリング反応によって形成される化学的な基である。

40

【請求項 7】

リンカーが、p、q、r、t、およびuの各々が、出現ごとに独立して選択される1~12の整数である、ペプチド、オリゴ糖、 $-(CH_2)_p-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_q-$ 、 $-(C=O)(CH_2)_r-$ 、 $-(C=O)(CH_2CH_2O)_t-$ 、 $-(NHCH_2CH_2)_u-$ 、-PAB、 $-(CH_2)_p-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_q-$ 、 $-(C=O)(CH_2)_r-$ 、 $-(または-N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)-)$ 、のうちの1つまたは複数を含む、請求項1~6のいずれかに記載のADC。

【請求項 8】

リンカーが、 $-(CH_2)_p-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_q-$ 、 $-(C=O)(CH_2)_r-$ 、 $-(C=O)(CH_2CH_2O)_t-$

50

-, -(NHCH₂ CH₂)_u-, Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、gly-gly、gly-gly-gly-gly-, -NHCH₂ CH₂NH-, -N(CH₃)CH₂ CH₂ NH-,、または-N(CH₃)CH₂CH₂ N(CH₃),のうちの1つ以上を含み、p、q、r、t、およびuのそれぞれが出現ごとに独立して選択される、1-12からの整数である、請求項1-6のいずれかに記載のADC。

【請求項9】

抗体またはその抗原結合部分がFcドメインを含み、抗体またはその抗原結合部分がFcドメイン中のシステイン残基を介してアントラサイクリンに結合している、上記請求項のいずれか1項に記載のADC。

【請求項10】

請求項9のADCで、システイン残基がFc領域のアミノ酸置換によって導入される。

10

【請求項11】

アミノ酸の置換がD265C (EUナンバリング)である請求項10のADC。

【請求項12】

ADCが1、2、3、4、5、6、7、又は8の麻薬/抗原薬比(DAR)を有する先行請求項のいずれかのADC。

【請求項13】

先行する請求項のいずれかのADCであって、D265C、H435A、L234AまたはL235Aからなるグループから選択された少なくとも1つの突然変異からなるFc領域(EU指数による)を含む。

【請求項14】

請求項1～12のいずれかのADCであって、その抗原結合フラグメントがD265C、H435A、L234AまたはL235A(EUインデックスによる)の突然変異を含むFc領域を含むもの。

20

【請求項15】

先行する請求項のいずれかのうち、AndCは、その抗原が無傷の抗原であること。

【請求項16】

AdcがIgG1またはIgG4である先行請求項のいずれかのADC。

【請求項17】

ヒトの被検者におけるCD117+細胞の個体数を減少させる方法であり、被検者に対する請求項1から16のいずれかのADCを管理する方法である。

【請求項18】

ヒト被検者の細胞移植のためのヒト被検者のコンディショニング法であり、ヒト被検者の内生幹または内生CD117+幹細胞が枯渇するように、ヒト被検者に請求項1～16のいずれかのADCを行使することを含んでいる。

30

【請求項19】

記載の方法で、CD117+細胞が血液細胞(HSC)であること。

【請求項20】

請求項19は、更に、ヒト被検者異性血幹又は異性血幹を管理する方法である。

【請求項21】

被検者にガンまたは自己感染症があることを主張する17～20のいずれかの方法。

【請求項22】

ガンが血液ガンであることを示す請求項21の方法。

40

【請求項23】

前記癌骨髄性白血病または骨髄異形成症候群が、請求項21に記載の方法。

【請求項24】

請求項1-16のいずれかのADC及び薬事上薬学的に許容可能な担体からなる医薬品組成。

【発明の詳細な説明】

【関連出願】

【0001】

この出願は、2019年4月24日に出願された米国仮出願第62 / 838,267号の優先権を主張し。優先権出願の内容は、参照により本明細書に組み込まれている。

50

【0002】

__配列エンスリスト

このインスタント塗布には、ASCII形式で電子的に提出され、ここにその全体として参考文献に組み込まれた配列リストが含まれる。2020年4月17日に作成されたASCIIコピーは、M103034_2140WO_SL.txtと記されており、サイズは317,476バイトであると述べている。

【0003】

分野

本開示は、抗CD117アンチボディ・ドラッグコンジュゲート(ADC)と、治療目的で同様を使用する方法に関するものである。

【背景技術】

【0004】

モノクロナル抗毒素(mAb)は、抗たん薬(ADC)を形成するために、治療剤に結合することができる。ADCは、非抱合抗体と比較して、高い有効性を示すことができる。薬物(例、細胞毒素)に対する抗菌剤の関連性は、リンカーを介して直接的または間接的になることがある。成功しているADCの重要な側面は、ADCが効果的であるだけでなく、十分に寛容であることである。細胞毒素はしばしば有効性と忍容性の両方に影響を及ぼす。

【0005】

ADCは、移植および幹細胞療法のために患者を準備するための治療レジメンとして提案されている。患者を細胞特異的ADCで調整することにより、幹細胞または免疫細胞を、患者の残存する免疫系を大部分無傷のままにしながら、選択的に枯渇させることができる。例えば、Palchaudhuri et al. (2016) Nat. バイオテクノル。34, 738-745 738-745は、抗CD45アニトボディがサポリン(SAP)に結合された抗CD45 ADCの単回投与の使用、および鎌状赤血球貧血モデルにおける治療のためのドナー細胞の生着を可能にするその能力を記載する。CD45-SAP ADCは、放射線照射とは異なり、好中球減少症および貧血を回避し、T細胞およびB細胞の迅速な回復をもたらし、全体的な毒性は最小限であったと報告された。しかし、効果的な細胞目標と、非ゲノム毒を対象としたADC調整に使用できる毒素を組み合わせる必要性は依然として残っている。

【発明の概要】

【0006】

本開示は、標的細胞への送達のために、アントラサイクリン、例えばPNUを含む抗CD117の薬物活用体(ADCs)を提供する。

1つの側面において、本開示は、細胞毒素(L)を介して細胞毒素(Ab)に共役する抗CD117(ADC)を提供し、かつ、細胞毒素は、ヘビーチェーン(HC)-CDR1、HC-CDR2、及びHC-CDR3からなるヘビーチェーン(HC)-CDR2、並びにシークエン(LC)-CDR1、及びLC-CDR3で構成されるヘビーチェーン(HC)-CDR1、HC-CDR2で構成される SEQ ID NO: 245, 246, 247、およびライトチェーンで示されているアミノ酸の配列 SEQ ID 番号: それぞれ248、249、および250に示されるアミノ酸配列からなるライトチェーン(LC)-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3からなる。

【0007】

別の態様では、本開示は、リンカー(L)を介して細胞毒素(Cy)に結合した抗CD117抗体またはその抗原結合部分(Ab)を含む抗体-薬物結合体(ADC)を提供し、ここで、細胞毒素はアントラサイクリンを含み、抗CD117抗体またはその抗原結合部分は、配列番号9に記載のアミノ酸配列を含む可変領域を含む重鎖と、配列番号10に記載のアミノ酸配列を含む可変領域を含むL鎖と、配列番号243に記載のアミノ酸配列を含む可変領域を含む重鎖と、配列番号244に記載のアミノ酸配列を含む可変領域を含むL鎖とを含む。

【0008】

別の側面において、本開示は、細胞毒素(L)を介して細胞毒素(Ab)に共役され、かつ、細胞毒素がアントラサイクリンを含み、かつ、薬物CD117の薬物たん結合部が、SEQ ID NO: 109に記載されたアミノ酸を含む重鎖、及びSEQ ID NO: 110、111、112、11

10

20

30

40

50

3又は114に記載されたアミノ酸を含む軽鎖、又はSEQ ID NO: 284に記載されたアミノ酸を含む重鎖を含む、薬物CD117のコンジュート(ADC)を提供する。また、SEQ ID NO: 275、276、277又は278に記載されたアミノ酸を含む軽鎖を提供する。

【0009】

別の側面において、本開示は、サイトトキシンがリンカー(L)を介して結合する抗CD117(Ab)を含む、HC-CDR1、Ab54、Ab57、Ab68、Ab67、Ab68、Ab85、Ab86、Ab87、Ab89、Ab89、Ab79、Ab85、Ab85Ab55、Ab57、Ab58、Ab61、Ab66、Ab67、Ab85、Ab85、Ab866、Ab86のライトチェーン可変領域、Ab87、Ab88、Ab79、Ab85、HC-CDR1、HC-CDR3、HC-CDR1、HC-CDR3、Ab85、HC-CDR1、HC-連鎖可変領域: 147, 166, 170, 172, 176, 180, 185, 193, 197, 192, 206, 212, 216, 222, 226, 238, 243、およびLC-CDR1、およびSEQ ID NO: 148, 149, 150, 152, 153, 165, 167, 162, 177, 169, 182, 198, 198, 200, 205, 209, 211, 215, 219, 223, 227, 228, 229, 231, 233, 234, 236, 237, 240, 244

10

【0010】

いくつかの実施形態において、アントラサイクリンはPNU-159682である。

いくつかの実施形態において、ADCは、式(VI)又は(VII)で表される。

[化1]

Zは、反応性の代替物とその抗原結合フラグメントとのカップリング反応と、リンカー上の反応性の代替物とのカップリング反応によって形成される化学的な基である。

いくつかの実施例において、リンカは、各々の事象に対して独立に選抜された1-12の整数体であるp、q、r、t、uの各々を含むペプチド、オリゴ糖類OBC=(CH₂ CH₂ O)_t -, -(NHCH₂CH₂)_u -, -PAB, -(CH₂)_p -, -(CH₂CH₂ O)_q -, -(C=O)(CH₂)_r -, -(又は-N(CH₃)CH₂ CH₂ N(CH₃)-,の1つ以上を構成する。

20

【0011】

いくつかの実施形態において、リンカは、p、q、r、t、uの各々が1~12から整数となるような、-(CH₂)_p -, -(CH₂ CH₂ O)_q -, -(C=O)(CH₂)_r -, -(C=O)(CH₂ CH₂ O)_t -, -(NHCH₂ CH₂)_u -, Val-Ala-Cit-PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-Gli、gly、gly-gly、-N(CH₃)CH₂CH₂ N(CH₃),の1つ以上から構成されており、それぞれの発生に応じて選択される。

【0012】

いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合部分は、Fcドメインを含み、抗体またはその抗原結合部分は、Fcドメイン中のシステイン残基を介してアントラサイクリンに結合される。ある実施例では、システイン残基はFc領域におけるアミノ酸置換によって導入される。いくつかの実施例において、アミノ酸置換物はD265C (EUナンバリング)である。

30

【0013】

いくつかの実施形態において、ADCは、1、2、3、4、5、6、7、または8の麻薬/抗原薬比(DAR)を有する。

【0014】

いくつかの実施例では、抗CD117の、又はその抗原結合断片は、D265C、H435A、L234A、又はL235Aからなるグループから選ばれた少なくとも1つの突然変異を含むFc領域を含む(EU指数による)。

40

いくつかの実施例では、抗CD117の、又はその抗原結合断片は、D265C、H435A、L234A、又はL235A(EUインデックスによる)の突然変異を含むFc領域を含む。

いくつかの実施形態において、抗CD117抗体は、インタクト抗体である。

【0015】

幾つかの実施例において、抗CD117の検出法は、IgG1又はIgG4である。

別の側面において、本開示は、人間の被検者におけるCD117+細胞の集団を枯渇させる方法を提供する。この方法は、本被検者に記載されているADCのいずれかを管理することからなる。

50

別の側面において、本開示は、ヒトの被検者に記載されているADCのいずれかを管理することにより、ヒト被検者の内生幹または内生CD117+幹細胞が枯渇するように、細胞移植のための人間の被検者を調整する方法を提供する。

【0016】

幾つかの実施例において、CD117+細胞は、血液細胞(HSCs)である。

いくつかの実施形態において、本手法は、さらに、ヒト被検者異性幹細胞又は異性幹細胞を管理することを含む。

【0017】

いくつかの実施態様において、被検者はガンまたは自治病を有する。ある種の実施態様において、ガンは血液ガンである。いくつかの実施形態において、がんは骨髄性白血病または骨髄異形成症候群である。

別の側面において、本開示は、ここに記載されたADCのいずれかを含む医薬品組成と、薬事上薬学的に許容可能な担体を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図1】図1A~1Cは、ヒトCD34+骨髄細胞の生存性に対する各示されたADCの用量依存的効果を示すin vitro細胞殺傷アッセイの結果をグラフで示す。ADCまたは制御濃度(x軸)の機能としての防CD117(CK6) PNUコンジゲートまたはコントロール(hIgG1 Iso type-PNU)の存在下での総生セルカウント(図1A)または生存可能CD34+CD90セルカウント(図1Bおよび1C) (y軸)を示した。図1Cによれば、同種ADCには1000倍の殺人画面がある。

【図2】図2A-2Cは、抗CD117-PNU、抗CD117-DM (デュオカルマイシン)、抗CD117カリチケアミシン(D4)の抗CD117-PNUの抗CD117-PBDに対する霞-1セルまたは一次ヒト幹細胞(図2C)の両方におけるインビトロセルキリングアッセイの結果を図示している。イチジク。2Aと2Bは、Kasumi-1細胞生存性(図2A)またはCD117(-)霞-1細胞生存性(図2B)を示すCelltiter Gloによる発光(RLU)で測定した結果を、示したADC濃度の機能としてグラフィックに描写する。図2Cは、生存CD34+CD90+細胞数(y軸)に基づくヒトCD34+骨髄細胞の生存性に対する各示されたADCの用量依存性効果を示すin vitro細胞殺傷アッセイの結果をグラフで示す。

【図3】図3A-3Cは、PNU、PBD、D4(カリケアマイシン)、またはDM1(デュオカルマイシン)に結合した抗CD117のhNSGマウスにおける生体内HSC減少アッセイの結果をグラフィックに描写する。図3Aは、示された抗CD117 ADCおよび投与7日、14日、または21日後の投薬で処置されたマウスにおいてベースラインに対して正常化されたhCD33細胞の割合を図示する。図3Bは、hCD34+細胞の割合を図で表し、図3Cは、指摘された防CD117-ADCおよび施術後21日後の量を施術したマウスの雌1頭あたりのhCD34+カウントを図で示している。

【発明を実施するための形態】

【0019】

なお、本開示の明瞭性については、限定ではなく、本開示の詳細については、以下のサブセクションに分けて説明する。

【0020】

定義

特に記載のない限り、本書で使用する以下の用語およびフレーズは、以下の意味を持つことを意図している。

本明細書で使用される「アシル」という語は、-C(=O)Rを指し、ここで、Rは、本明細書で定義されるように、H(「アルデヒド」、C₁-C₁₂アルケニール、C₂-C₁₂アルキニール、C₂-C₁₂アルキニール、C₃-C₇カルボサイクリル、C₆-C₂₀アリール、5-10メンバーヘテロアリール、または5-10メンバーヘテロサイクリルである。無制限の実施例としては、フォルミル、アセチル、プロパノイル、ベンゾイル、およびアクリロイルが挙げられる。

10

20

30

40

50

【0021】

ここで使用する「C₁-C₁₂アルキル」という用語は、1から12の炭素原子を持つ、直鎖または枝分かれした、飽和炭化水素を意味する。代表的なC₁-C₁₂のアルキル群には、-methyl、-ethyl、-n-propyl、-n-butyl、-n-pentyl、および-n-hexylが含まれるが、これらに限定されない分岐C₁-C₁₂のアルキルには、-isopyl、-sec-butyl、-isobutyl、-tert-butyl、-isopentyl、および2-methylbutylが含まれるが、これらに限定されない。C₁-C₁₂のアルキル基は、置換されないか、または置換されることができる。

【0022】

ここで使用する「アルケニール」という用語は、非飽和性の少なくとも1つの部位、すなわち、炭素-炭素、sp²二重結合を持つ、通常、二次、または三次炭素を含むC₂-C₁₂炭化水素を指す。例としては、エチレン又はビニル、-アリル、-1-ブテニル、-2-ブテニル、-イソブチレニル、-1-ペンテニル、-2-ペンテニル、-3-メチル-1-ブテニル、-2-メチル-2-ブテニル、-2,3-ジメチル-2-ブテニル等が挙げられるが、これらに限定されない。アルケニール基は置換されないか、あるいは置換されることができる。

10

【0023】

ここで使用する「アルキニール」は、非飽和性の少なくとも1つの部位、すなわち、炭素-炭素、sp³トリプル結合を持つ、通常、二次、または三次炭素原子を含むC₂-C₁₂炭化水素を指す。例としては、アセチレン及びプロパルギルが含まれるが、これらに限定されない。アルキニール基は、非置換または置換されていてもよい。

20

「アリール」は、本明細書中で使用される場合、C₆-C₂₀炭素環芳香族基を指す。アリール基の例には、フェニル基、ナフチル及びアントラセニールが含まれるが、これらに限定されない。アリール基は代替することも、代替することもできる。

【0024】

ここで使用する「アリラルキル」は、炭素原子に結合した水素原子の1つ、典型的には端子またはsp³炭素アトムが、アリールの急進的なものに置き換えられる、非環状アルキル基を意味する。代表的なアリールアルキル基としては、ベンジル、2-フェニルエタン-1-イル、2-フェニルエテン-1-イル、ナフチルメチル、2-ナフチルエタン-1-イル、2-ナフチルエテン-1-イル、ナフトベンジル、2-ナフトフェニルエタン-1-イルなどが挙げられるが、これらに限定はされない。アリールアルキル基は6~20個の炭素原子を含み、例えばアリールアルキル基のアルカニル、アルケニルまたはアルキニル基を含むアルキル部分は1~6個の炭素原子であり、アリール部分は5~14個の炭素原子である。アルカリ基は置換されないか、あるいは置換されることができる。

30

【0025】

本稿で使用する「シクロアルキル」とは、1つまたは自転車であるかもしれない、飽和した炭素環状ラジカルを指す。シクロアルキル基には、二環式として3~7個の炭素原子を持つ環、または7~12個の炭素原子を持つ環が含まれる。単環式シクロアルキル基の実施例には、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、およびシクロオクチルが含まれる。Cycloalkyl基は代替することもできない。

【0026】

「シクロアルケニル」とは、本明細書中で使用される場合、不飽和炭素環ラジカルをいい、これは、単環または二環であってもよい。シクロアルケニール基には、自転車として3~6個の炭素原子を持つ環、または7~12個の炭素原子を含む。単環式シクロアルケニル基の実施例には、1-シクロペント-1-エニル、1-シクロペント-2-エニル、1-シクロペント-3-エニル、1-シクロヘキサ-1-エニル、1-シクロヘキサ-2-エニル、および1-シクロヘキサ-3-エニルが含まれる。シクロアルケニル基は代替または代替することができる。

40

【0027】

ここで使用する「ヘテロアリールキール」とは、炭素原子に結合した水素原子の1つ、典型的には端子またはsp³炭素原子がヘテロアリールラジカルに置き換えられる非環状アルキル基を指す。典型的なヘテロアリールアルキル基は、限定されるものではないが、2-

50

ベンズイミダゾリルメチル、2-フリルエチル等を含む。ヘテロアリアルアルキル基は、6～20個の炭素原子、例えば、ヘテロアリアルアルキル基のアルカニル、アルケニルまたはアルキニル基を含むアルキル部分が1～6個の炭素原子であり、ヘテロアリアル部分が5～14個の炭素原子およびN、O、P、およびSから選択される1～3個のヘテロ原子を含み、ヘテロアリアルアルキル基のヘテロアリアル部分は、3～7個のリング部材(2～6個の炭素原子、または7～10個のリング部材(4～9個の炭素原子およびN、O、P、およびSから選択される1～3個のヘテロ原子)を有する単環、例えば、ビシクロ[4,5]、[5,5]、[5,6]、または[6,6]システムであり得る。

【0028】

ここで使用する「ヘテロアリアル」および「ヘテロシクロアルキル」は、それぞれ、1つ以上の環原子がヘテロ原子、例えば、窒素、酸素および硫黄である芳香性または非芳香性の環系を指す。ヘテロアリアルまたはヘテロシクロアルキルラジカルは、N、O、P、Sから選ばれた2～20の炭素原子と1～3のヘテロ原子からなる。ヘテロシクロアルキルまたはヘテロシクロアルキルは、3～7のリング部材(N、O、P、Sから選ばれた2～6の炭素原子と1～3のヘテロ原子)を持つ単環であってもよいし、7～10のリング部材(N、O、P、Sから選ばれた4～9の炭素原子と、N、O、P、Sから選ばれた1～3のヘテロ原子)を持つ二環式であってもよい。例えば、二環式[4,5]、[5,5]、[5,ヘテロアリアルとヘテロシクロアルキルは、置換することができないか、または置換することができる。

【0029】

ヘテロアリアルおよびヘテロシクロアルキル基は、Paquette, Leo A.; 「現代のヘテロ環状化学の原理」(W. A. Benjamin, New York, 1968)、特に第1章、3章、4章、6章、7および9; 「複素環化合物の化学、A一連のモノグラフ」(John Wiley & Sons, New York, 1950年から現在まで)、特に巻13, 14, 16, 19および28; およびJ. Amに記載されている。化学協会(1960) 82:5566。

【0030】

ヘテロアリアル基の実施例としては、ピリジル、チアゾリル基、ピリミジル、ピリミジン、イミダリル、ピリソリル、インドリル、イソリジニール、イソリジニール、ピリダジニール、3H-インドリル、1H-インドリル、プリニル、4H-キノリル、フタジニール、ナフチリジニール、キノザリニール、キノリニル、シニジニール、4aH-カルバリジニール、アクリジニール、ピリミジニール、フェナントロリニール、フェノチアジニール、フラザニール、イソクロマニール、イミダゾリジニール、ピラゾリジニール、ベンゾトリアゾリル、イザチノイル

ヘテロシクロアルキルの実施例としては、実施例として、ジヒドロピリジル、テトラヒドロピリジル(ピペリジル)、テトラヒドロチオフエニル、ピペリジニル、4-ピペリドニル、ピロリジニル、2-ピロリドニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、ビス-テトラヒドロピラニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、デカヒドロキノリニル、オクタヒドロイソキノリニル、ピペラジニル、キヌクリジニル及びモルホリニルが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【0031】

例として、限定ではなく、炭素結合ヘテロアリアルとヘテロシクロアルキルはピリジンの2、3、4、5、6番目、ピリジンの2番目、4番目、5番目、6番目、ピリミジンの2番目、5番目、5番目、6番目、ピラジンの3番目、5番目、または6番目、ピラジンの2番目、3番目、5番目、4番目、または4番目、または4番目、または4番目のアゼチジンの4番目、3番目、4番目、5番目、または4番目のアゼチジンの4番目、5番目、5番目、または5番目のアゼチジンの4番目、または8杯のイソキノリン。更に典型的には、炭素結合ヘテロシクロアルキルは2-ピリジル、3-ピリジル、4-ピリジル、5-ピリジル、6-ピリジル、3-ピリダジニル、4-ピリダジニル、5-ピリダジニル、6-ピリダジニル、2-ピリミジニル、4-ピリミジニル、5-ピリミジニル、6-ピリミジニル、2-ピラジニル、3-ピラジニル、5-ピラジニル、6-ピラジニル、2-チアゾリル、4-チアゾリル、又は5-チアゾリルを包含する。

【0032】

限定ではなく例として、窒素結合ヘテロアリアルおよびヘテロシクロアルキルは、アジリジン、アゼチジン、ピロール、ピロリジン、2-ピロリン、3-ピロリン、イミダゾール、イミダゾリジン、2-イミダゾリン、3-イミダゾリン、ピラゾール、ピラゾリン、2-ピラゾリン、3-ピラゾリン、ピペリジン、ピペリジン、インドール、インドール、1H-インダゾール、イソインドールの位置2、モルホリンの位置4、およびカルバゾール、またはベータ-カルボリンの位置9で結合される。更に典型的には、窒素結合ヘテロシクリルは1-アジリジル、1-アゼチジル、1-ピロリル、1-イミダゾリル、1-ピラゾリル、及び1-ピペリジニルを含む。

【0033】

本項で使用し、また上記のアルキル、アルキン、アリアル、アルキニール、ハルキン、ヘテロシクリル、その他に適用した「置換」とは、1つ以上の水素原子が、それぞれ別個に置き換えられることを意味する。上述の「アルキル」、「アルキレン」、「アルキレン」、「アルキン」、「アルキンキン」、「アルキンキン」、「シクロアルキレン」、「ヘテロシクロアルキレン」、「ヘテロシクロアルキレン」、「アリアル」、「アリレン」、「ヘテロアリアル」、「ヘテロアリーレン」グループは、任意に置き換えることができる。典型的な置換剤は、 $-XOBR)_3$ 、 $-CX_3$ 、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NCO$ 、 $-NCS$ 、 $-OOaH$ 、 $-NC(=O)R$ 、 $-C(=O)H$ 、 $-C(=O)R$ 、 $-C(=O)_2$ 、 $-SO_3^-$ 、 $-SO_3H$ 、 $-S(=O)_2R$ 、 $-OS(=O)FR)_2$ 、 $-S(=O)R$ 、 $-OP(=O)(OH)_2$ 、 $-OP(=O)(OR)_2$ 、 $-P(=O)(OR)OONN(R)_2$ 、 $-C(=O)SR$ 、 $-C(=S)SR$ 、 $-C(=O)NH_2$ 、 $-C(=O)OJS$ 、 $-R$ 、 $-OH$ 、 $-OR$ 、 $-SH$ 、 $-SR$ 、 NH_2 、 $-NHR$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-N^+()_2$ 、 $-C(=NH)NH_2$ 、 $-C(=O)N$ (および $-C(=NR)N(R)_2$ を含むが、これらに限定されない。ここで、各々のXは、F、Cl、Br、およびIからのそれぞれのオカレンスに対して独立して選択され、各々のRは、 $2OR$ 、 $-S(=O)_2NH_2$ 、 $-S(=O)_2N$ (のアルキル、 C_6-C_{20} のアリアル、 $-C(=S)R$ 、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R$ 、 $-CO_2^-$ 、 $-C(=S)OR$ 、 $-C(=O)$ のヘテロシクロアルクまたはヘテロアリアルからのオカレンス、保護群およびプロダクトモティーからのそれぞれのオカレンスに対して独立して選択される。群が「任意に置換」と記述される場所では、どこであれ、その群は、個々の場合とは独立に、上記置換体のうちの1つ以上で置換することができる。置換は、隣接する置換基が閉環を受けて、例えば、ラクタム、ラクトン、環状無水物、アセタール、ヘミアセタール、チオアセタール、アミナール、およびヘミアミナールを形成し、例えば、保護基を与えるために閉環によって形成される、隣接する官能性置換基の閉環などの状況を含み得る。

【0034】

特定のラジカル命名規則には、状況に応じて、モノラル・ラディカルまたはディ・ラディカルのどちらかが含まれることがあることを理解する必要があります。たとえば、置換基が分子の残りの部分に2つの付着点を必要とする場合、その置換基はジラジカルであることがわかる。例えば、2結合点を必要とする「アルキ」として識別される代替物は、 $-CH_2^-$ 、 $-CH_2CH_2^-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)CH_2^-$ 、等のような「ジラジカル」を含む。他の根本的な命名規則は、この急進的なものが、「アルキレン」、「アルケニレン」、「アリーレン」、「ヘテロシクロアルキレン」などのディ・ラジカルであることを明確に示している。

【0035】

代替体がディラジカル(すなわち、分子の他の部分に2つの付着点を持つ)として描写される場合、他に示されない限り、代替体はどんな方向にも付着することができることを理解する必要がある。

【0036】

「イソメリズム」とは、同一の分子式をもっているが、その原子の結合の順序や空間における原子の配列が異なっている化合物をいう。空間における原子の配置が異なっているイソマーを「立体異性体」と呼び、互いに鏡映しない立体異性体を「ジアステレオ異性体」と呼び、重ね合わせることができない鏡像体を「エナンチウム」、あるいは「光学異性体」と呼ぶこともある。

【0037】

4つの非同一の置換基に結合した炭素原子は「キラル中心」と呼ばれ、「キラルイソマー」は少なくとも1つのキラル中心を持つ複合体を意味し、複数のキラル中心を持つ複合体は、個々のジアステレオマーとして存在するか、「ジアステレオマー混合物」と呼ばれるジアステレオマーの混合物として存在することがある。一つのキラル中心が存在するとき、立体体はそのキラル中心の絶対的な配置(RまたはS)によって特徴づけられる。絶対配置とは、キラル中心に付着した置換基の空間における配置をいう。検討中のキラル中心に付着した置換基は、Cahn, Ingold, Prelogの配列規則に従ってランク付けされた。(Cahn et al., *Angew. Chem. Inter. Edit.* 1966, 5, 385; errata 511; Cahn et al., *Angew. Chem.* 1966, 78, 413; Cahn and Ingold, *J. Chem. Soc.* 1951 (London), 612; Cahn et al., *Experientia* 1956, 12, 81; Cahn, *J. Chem. Educ.* 1964, 41, 116). 正反対のキラリティの個々のエナンチメリック形成を等量含む混合物を「ラセミック混合物」と呼ぶ。

10

【0038】

この説明及びクレームにおいて開示される化合物は、1つ以上の非対称中心を含み、また、各化合物の異なるジアステレオマー及び/又は鏡像異性体が存在することがある。この説明及びクレームのどれかの化合物の記述は、特に記載のない限り、すべての鏡像異性体、ジアステレオマー、及びそれらの混合物を含むことを意図している。加えて、この説明及びクレームのどれかの化合物の記述は、別に記載されていない限り、鏡像異性体の、個々の鏡像異性体、並びに、ラセミック、その他の混合物の両方を含むことを意図したものである。複合物の構造が、特定のエンベンチマーとして描写される場合、本出願の開示は、その特定のエンベンチマーに限定されないことを理解する必要がある。したがって、本開示の構造式の各々の鏡像異性体、光学異性体、およびジアステレオマーが、本明細書中で企図される。本明細書では、複合物の構造式は、便宜上、ある種の異性体を表しているが、本明細書には、幾何学的異性体、非対称炭素に基づく光学異性体、立体異性体、トートマー等の全ての異性体が含まれており、全ての異性体が同じ活動レベルを持つとは限らないことが理解されている。化合物は、異なる互変異性体形態で生じ得る。本開示による化合物は、特に記載のない限り、すべての同性体形成を含むことを意図している。複合物の構造が特定のトートマーとして描写される場合、本出願の開示は、特定のトートマーに限定されないことを理解する必要がある。

20

30

【0039】

本明細書に記載される任意の式の化合物は、化合物自体、ならびにそれらの塩、および該当する場合にはそれらの溶媒和物を含む。例えば、塩は、開示の複合体上のアニオンと正電荷を帯びた群(例えば、アミノ)の間で形成することができる。適切なアニオンとしては、塩化物、臭化物、ヨウ化物、硫酸塩、重硫酸塩、スルファミン、硝酸塩、リン酸塩、クエン酸塩、メタンスルホン酸、トリフルオロ酢酸塩、グルタメート、グルクロネート、グルクロネート、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、トシレート、サリチル酸エステル、乳酸塩、ナフタレンスルホン酸塩、および酢酸塩(例えば、トリフルオロ酢酸塩)が挙げられる。「薬学的に許容されるアニオン」という用語は、薬学的に許容される塩を形成するのに適したアニオンを意味する。同様に、開示の複合体上で、カチオンと負電荷を帯びたグループ(例えばカルボキシレート)の間で塩を形成することもできる。適当なイオンには、ナトリウムイオン、カリウムイオン、マグネシウムイオン、カルシウムイオン、およびテトラエチランモニウムイオンのようなアンモニウムイオンが含まれる。いくつかの適切な置換アンモニウムイオンの実施例は、エチルアミン、ジエチルアミン、ジシクロヘキシルアミン、トリエチルアミン、ブチルアミン、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジン、ベンジルアミン、フェニルベンジルアミン、コリン、メグルミン、およびトロメタミン、ならびにアミノ酸、実施例例えばリジンおよびアルギニンから誘導されるものである。開示される化合物にはまた、第四紀窒素原子を含むそれらの塩も含まれる。

40

【0040】

50

適当な無機アニオンの実施例としては、以下の無機酸から誘導されるものが挙げられるが、これらに限定されない:塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硫酸、亜硫酸、硝酸、亜硝酸、リン酸、およびリン。適切な有機アニオンの実施例としては、以下の有機酸が含まれるが、これらに限定されないが、以下の有機アニオンの実施例には以下が含まれる: 2-アセチ安息香、コルビック、安息香、安息香、スルフォニック、ケティック、クエン酸、エタンスルフォニック、エタンスルフォニック、エタンスルフォニック、フマリック、グルプトニック、グルトニック、グルタミン、グルティック、グリコリック、ハイキシマレイク、ハイドロキシマレインカルボキシリック、チオン酸、乳酸、乳酸、ラクトビック、ラウリック、マレイク、マリック、メタネルフォニック、ムカリック、オキサリック、パルミチック、パモアチック、パトセニック、パ適当なポリマー有機アニオンの実施例には、以下のポリマー酸から得られたものが含まれるが、これらに限定されない:タンニン酸、カルボキシミルセルロース。加えて、本開示の化合物の化合物、例えば、は、水分補給または水分補給されていない(無水)形態で存在することもあれば、他の溶媒分子と共にソルベートとして存在することもある。ハイドレートの無限の実施例には、単非、ジハイドレートなどがある。溶媒和物の非限定的な例としては、エタノール溶媒和物、アセトン溶媒和物などが挙げられ、「溶媒和物」とは、化学量論的または非化学量論的な量の溶媒を含有する溶媒付加形態を意味する。いくつかの化合物は、結晶性固体状態において溶媒分子の固定されたモル比を捕捉し、したがって溶媒和物を形成する傾向を有する。溶媒が水の場合、生成する溶媒和物は水和物であり、溶媒がアルコールの場合、生成する溶媒和物はアルコールである。水化物は、水が H_2O ・A・ハイドレートと同様に、水がその分子を保持している物質の1分子と、1つ以上の水分子との組合せによって形成される。水化物とは、例えば、一水位体、二水位体、三水位体などを指す。

10

20

【0041】

加えて、本明細書に開示される公式により表される化合物またはそれらの塩に対して結晶多型が存在することができる。本開示の範囲には、水晶形成、結晶形成、混合物、無水物化合物またはそのハイドレートが含まれることに注意されたい。

【0042】

本明細書で使用される「約」という用語は、記載される値よりも10%上または下の値を指し、例えば、「約5 nM」という用語は、4.5 nM~5.5 nMの範囲を示す。ここで用いられるように、「抗菌」という用語は、特定の抗原に特別に結合するか、あるいは、特定の抗原に対して反応性である、イムグロブリン分子を意味する。抗体としては、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体(例えば、二重特異性抗体)、遺伝子操作された、および他に修飾された形態の抗体が挙げられ、これらに限定されないが、例えば、脱免疫抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヘテロコンジュゲート抗体(例えば、ビトリおよびクアッド特異的抗体、ジアボディ、トリアボディ、およびテトラボディ)、および抗体フラグメント(すなわち、抗体の抗原結合フラグメント)(例えば、Fab'、F(ab')₂、Fab、Fv、rlgG、およびscFvフラグメントを含み、これらが所望の抗原結合活性を示す限り)が挙げられる。

30

【0043】

ここで用いられる「モノクローナル・アブ」という用語は、当該技術で利用可能な、又は知られているどんな方法でも、真核、原核、又はファージ・クローンを含む、単一クローンに由来するものであり、ハイブリドマ・テクノロジーを通して生産される抗物質に限定されない。本開示で有用なモノクローナル・アブドウは、ハイブリドマ、再結合、及びファージ・ディスプレイ技術の使用、又はそれらの組み合わせを含む、本技術で知られている広範な技術を用いて調製することができる。「モノクローナル・アブドウ」という用語は、目的タンパク質に特に結合することが可能な、無傷の分子及び(例えば、Fab及びF(ab')₂の断片を含む)の両方を含むことを意図したものである。本項で使用するように、Fab及びF(ab')₂断片は、無傷の抗菌のFc断片を欠いている抗菌断片を指す。これらの断片の実施例は本稿に記載されている。

40

【0044】

50

本開示の抗生物質は、通常、分離されているか、組換えされている。ここでいう「分離」とは、「分離」とは、ポリペプチド、例えば、それが表現された細胞又は細胞培養分離又は回収された、又は/又は回収された、又はそのような「分離」を指す。通常、分離された「単離」とは、少なくとも1つの精製工程によって準備される。従って、「分離された」とは、異なる抗原性を有する他の抗生物質を実質的にフリーとなる「単離された」ことを意味する。たとえば、CD117に特別に結合する単離された抗生物質には、CD117以外の抗原を特別に結合する抗物質は実質的に含まれていない。

【0045】

ここで用いられている「抗原結合断片」という用語は、標的抗原に特定の結合する能力を持つ1つ以上の部分を指し、抗体の抗原結合機能は、たとえば、Fab, F(ab')₂, scFv, diabody, aptamer, aptamer、あるいは抗体によって実行できる。抗体の「抗原結合断片」という用語を包含する例としては、(i) V_L, V_H, C_LとC_H 1ドメインから成る単価断片、(ii) ヒンジ領域でディスフル化橋によって結ばれる2価なFab断片、(iii) V_HとC_H 1ドメインから成るFv断片、(iv) 一つの部門から成るFv断片(vi) V_H領域からなるdAb断片(例えば、V_H, V_L領域を含むdAb、(vi) Ward et al., Nature 341:544-546, 1989を参照)、(vii) V_Hまたは2 領域からなるdAb、(viii) 孤立補完決定領域(CDR)、(ix) 2つ以上の結合(例えば、2、3、4、5、6)合成リンカーによって任意に結合されるかもしれない2つ以上の単独CDRの組合せ。さらに、Fvフラグメントの2つの領域、V_LとV_Hは別個の遺伝子によってコード化されているが、それらは再結合法を用いて結合することができる。それはリンカーであり、V_LとV_H領域が一価分子(scFvとして知られている)を形成するための単一のタンパク質チェーンとして作られることを可能にする。たとえば、Bird et al., Science 242:423-426, 1988, and Huston et al., Proc Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883, 1988). これらの抗体フラグメントは、当業者に公知の従来の技術を使用して得ることができ、断片は、無傷の抗体と同じ様式で有用性についてスクリーニングすることができる。アンチゲン抗原結合フラグメントは、組換えDNA技術、無傷のイムノ免疫グロブリンのエンザイマティックまたは化学的な切断、または、ある場合には、当業者に知られている化学ペプチド合成手順によって作り出すことができる。

【0046】

ここで用いられるように、「抗CD117」又は「CD117に結合する抗菌」という用語は、CD117、例えばヒトCD117に結合する能力があり、十分な親和性を有し、上記抗菌がCD117を標的にする際の診断及び/又は治療剤として有用であることを示す。ヒトCD117の2つの主要な同位体のアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 145(同質体1)とSEQ ID NO: 146(同質体2)に示されている。

【0047】

本明細書中で使用される用語「二重特異性抗体」は、抗体、例えばモノクローナル、例えば、同一または種々の抗原上にあり得る2つの異なるエピトープを結合することができる、非免疫化、ヒトまたはヒト化抗体を指す。たとえば、結合特異性の1つは、CD117(例:GNK+ CD117)のような血液細胞表面抗原上のエピトープに上記られることができ、もう1つは、細胞成長を強力にするシグナル変換経路に関与するレセプターまたはレセプターサブユニットのような、異なる血液細胞表面抗原または他の細胞表面タンパク質上でエピトープを特別に結合することができる。いくつかの実施形態において、結合特殊性は、同じ標的抗原上のユニークで重複していないエピトープ(すなわち、バイパラトピック・ビーズ・ビー・アフィンチ)に向けることができる。

【0048】

ここで用いられるように、「相補性決定領域」(CDR)とは、液体の軽鎖および重鎖の両方に見いだされる超可変領域を指す。様々なドメインのより高度に保存された部分は、フレームワーク領域(FRs)と呼ばれます。超可変領域を描写するアミノ酸位置は、当該技術における既知の文脈及び種々の定義に応じて変化し得る。可変ドメイン内のいくつかの位置は、異なる一連の基準の下では超可変ドメイン外であるとみなされる一方で、これらの

位置は1組の基準の下で超可変ドメイン内であるとみなすことができる、というハイブリッド超可変位置とみなすことができる。これらの位置のうちの1つ以上は、拡大超可変領域にも見いだすことができる。ここに記載されている抗生物質は、これらのハイブリッド・ハイパーバリアブル・ポジションの変化を含んでいる可能性がある。固有の重鎖とL鎖の可変ドメインは、それぞれ4つの骨格領域を含んでおり、主に3つのCDRで結ばれたベータシート構造を採用しており、それらは接続ループを形成し、場合によってはベータシート構造の一部を形成している。各チェーンのCDRは、FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4の骨格領域によって密接に結びついており、また、他の抗生物質チェーンからのCDRと共に、抗物質の標的結合サイトの形成に寄与する(Kabatら、参照、国立健康研究所、Bethesda、MD、1987)。特定の実施形態では、別途記載のない限り、カバトラの(IMGT及びチョチアに限定されないが、いずれかの抗菌番号づけスキームを使用することができるが)、イムグロブリンアミノ酸残基物の番号づけが、イムグロブリンアミノ酸残基物番号づけシステムに従って行われる。

10

20

30

40

50

【0049】

ここで使用される「非予防接種」または「非予防接種」という用語は、当該野生型構築物(または親の抗菌)を、ヒトにおいて非予防接種であるか、あるいはより弱い予防接種であるようにすることによる、元の野生型構築物(または親の抗菌)の改変に関するものである。非ヒト起源のフレームワーク領域および/またはCDRを含む。本稿で使用するように、「非予防接種型」という用語は、被検者の耐性を作動させないように、突然接種によって非予防接種されたものを意味する(例えば、Nanusら、J. Urology 170: S84-S89, 2003; W098/52976; W000/34317)。

【0050】

ここで使用する「条件」および「条件付け」という用語は、患者が移植を受け取るために準備される過程を指す。例えば、血液細胞を含む移植である。このような手順は、血液細胞移植を促進する(例えば、コンディショニング手順の後に患者から分離された血液サンプル中の生存可能な血液細胞の量の持続的増加から推測されるように、患者は、CD117(例えば、GNK+ CD117)のような、血液細胞によって表現される抗原を結合することができる、ADC、抗原結合フラグメントの患者への投与により、血液細胞移植治療のために条件付けされることができる。ここに記載されているように、抗原薬の活用(ADC)を形成するために、この抗原薬はサイトトキシンと同価に結合することができる。血液細胞移植治療を必要とする患者に前記の抗原の1つ以上を結合することができるADC、自己、又は抗原結合フラグメントを投与することは、例えば、内生の血液細胞を選択的に枯渇させることによって、血液細胞移植の接木を促進することができ、それによって外生の血液細胞移植によって埋め尽くされる空白を作り出すことができる。

【0051】

本明細書で使用される用語「コンジュゲート」または「抗体薬物コンジュゲート」または「ADC」は、細胞毒素に連結された抗体を指す。ADCは、ある分子の反応性のある機能群、例えば、抗原結合フラグメントと、ここに述べた細胞毒素のような別の分子の適切に反応性のある機能群との間の化学的結合によって形成される。共役には、例えば、抗菌と細胞毒素の間のように、互いに結合した2つの分子間のリンカーが含まれることがある。接合体の形成に使用できるリンカーの実施例には、ペプチドを含むリンカー、実施例例えば、上記に起きている、あるいはD-アミノ酸のような非自然に起きているアミノ酸を含むリンカーが含まれる。リンカーは、本技術に記載され、かつ本技術に知られている様々な戦略を用いて調製することができる。その中の反応性成分に応じて、リンカーは、例えば、加水分解、加水分解、酸性条件下の加水分解、基礎条件下の加水分解、酸化、ジスルフィド還元、核友性切断、または有機メタリック切断(例えば、Leriche et al., Bioorg. Med. Chem., 20:571-582, 2012を参照)によって切断することができる。特に、「コンジュゲート」(複合物を参照する場合)という用語は、ここでは、「ドラッグコンジュゲート」、「マイクロソフト・ドラッグ・コンジュゲート」、「ADC」とも同義に言及する。

【0052】

ここで用いられるように、「カップリング反応」という用語は、それぞれの置換体に結合した分子断片を(例えば、同価に)結合する化学的水を形成するように、互いに反応するのに適した2つ以上の置換体が反応する化学反応を意味する。カップリング反応とは、当該技術に知られている、又は、ここに記載されている細胞毒素のような、細胞毒素である断片に結合した反応性代替物、又はその断片である抗原結合フラグメント、又は当該技術に知られている又はここに記載されているCD117(GNK+ CD117のような)を結合する特定の抗CD117(抗原結合フラグメント)に結合した抗反応性代替物を反応させる反応性代替物、又はその断片である抗原結合フラグメントを含む反応性代替物を含む。適当に反応性の代替物の例としては、求核剤/電対(例えば、チオール/ハロアルキンペア、アミン/カルボニールペア、またはチオール/ α 、特に、非飽和カルボニールペア)、ジエン/ジエンフィルペア(例えば、アジド/アルキンペア、その他)などが含まれる。カップリング反応は、限定されるものではないが、チオールアルキル化、ヒドロキシアルキル化、アミンアルキル化、アミン縮合、アミド化、エステル化、ジスルフィド形成、環状付加(例えば、[4+2] Diels-Alder環状付加、[3+2] Huisgen環状付加、とりわけ)、求核芳香族置換、求電子芳香族置換、および本明細書に記載される他の反応様式を含む。ここで用いられる「CRU(競合的再パリング単位)」とは、in-vivo移植後に検出される長期接木細胞の測定単位を指す。

10

【0053】

ここで用いられるように、「供与者」という用語は、受取人に細胞またはその子孫を投与する前に、1つ以上の細胞から分離される人または動物を意味する。1つ以上の細胞は、例えば、数学的幹細胞の集団である。

20

本明細書中で使用される「ダイアボディ」という語は、2つのポリペプチド鎖を含む二価抗体を意味し、ここで、各々のポリペプチド鎖は、同じペプチド鎖上のV_HおよびV_L領域の分子内会合を可能にするには短すぎるリンカー(例えば、5つのアミノ酸からなるリンカー)によって連結されたV_HおよびV_L領域を含む。この構成によって、各ドメインは別のポリペプチド鎖上の相補的なドメインと対になり、ホモジメリックな構造を形成することになる。従って、「トリアボディ」という用語は、ペプチド・チェーン3つを含む三価の抗物質を意味し、それぞれは、同じペプチド・チェーン内でV_HおよびV_L・ドメインの分子内結合を可能にする非常に短いリンカー(例えば、1-2アミノ酸からなるリンカー)に結合した1つのV_H領域および1つのV_L領域を含む。その固有の構造に折り畳むために、このように構成されたペプチドは、通常、隣接するペプチド鎖のV_HおよびV_L領域を空間的に互いに近接するように位置付けるように三重化される(例えば、Holligerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-48, 1993を参照)。

30

ここで用いられるように、「薬物対抗菌比」または「DAR」は、活用体の抗菌に付着した薬物、例えばアントラサイクリンの数を意味する。ADCのDARは1から8までの範囲があるが、それよりも高い負荷をかけることは、抗原上のリンク部位の数によっても可能である。ある実施例において、活用形は、1、2、3、4、5、6、7、または8のDARを有する。

【0054】

本明細書で使用される場合、「内因性」という語は、ヒトのような特定の生物に自然に見出される、分子、細胞、組織、または臓器(例えば、造血幹細胞、または造血系列の細胞、例えば、巨核球、血小板、血小板、赤血球、マスト細胞、骨髓芽球、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア細胞、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、Tリンパ球、またはBリンパ球)のような物質を記載する。

40

【0055】

ここで使用されるように、「生着電位」という用語は、そのような細胞が自然に循環しているか、移植によって提供されているかを問わず、組織を再現するための、血液細胞および祖先細胞の能力を指すために使用される。この用語は、細胞の組織への帰巢や、興味のある組織内での細胞の定着といった、接木を取り巻く、またはそれに至るすべての出来事

50

を包含する。生着効率または生着率は、当業者に知られているような、医学的に受け入れられるパラメータを用いて評価または定量化することができ、また、例えば、競合的な再パルピング単位(CRU)の評価を含むことができ、幹細胞が帰宅し、植え付けられ、生着された組織にマーカーを取り込みまたは表現することができ、あるいは病気の進行、血液系および前駆細胞の生存、または受領者の生存を通じた被検者の進展を評価することができる。生着は、移植後の時期に末梢血中の白血球血球数を測定することによっても判定できる。生着はまた、骨髓吸引試料中のドナー細胞による骨髓細胞の回収を測定することによって評価することができる。

【0056】

本明細書中で使用される「外因性」という語は、ヒトのような特定の生物に自然に見出されない分子、細胞、組織、または臓器(例えば、巨核球、血小板、血小板、赤血球、マスト細胞、骨髓芽球、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア細胞、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、Tリンパ球、またはBリンパ球のような造血幹細胞または造血系列の細胞)のような物質を記載する。被援助国の生物、例えば被援助国の生体に外来性の物質は、その物質が由来する供与国の被検者のような供与国の有機体に自然に存在することがある。たとえば、同種異系細胞移植には、受け手には外生的であるが、受け手には固有の細胞が含まれている。外生物質とは、外部から生命体に、あるいはそこから抽出された培養物質に供給される物質をいう。

【0057】

「有効用量」という用語は、治療薬剤、例えば、抗CD117、又は抗CD117 ADCの用量又は用量を意味し、これは望ましい結果をもたらすのに十分である。

ここで用いられる「Fc」、「Fc領域」および「Fcドメイン」という用語は、IgG分子のパペーン消化によって得られる結晶性フラグメントと相関するイグジー分子のような、イグロブリンの一部を指す。Fc領域は、ジスルフィド結合によって結合されたIgG分子の2つの重鎖のC-端子半分を構成する。それは抗原結合作用はないが、炭水化物潤沢を含み、FcRnレセプター(以下参照)を含む補完的およびFcレセプターの結合サイトを含む。例えば、Fc領域には、第二の定常ドメインCH2(例、IgG1のEU位置231-340の残余)と第三の定常ドメインCH3(例、ヒトIgG1のEU位置341-447の残余)が含まれる。ここで用いられるように、Fc領域には「下ヒンジ領域」(例えば、IgG1のEU位置233-239の残渣)が含まれる。

【0058】

Fcは、この領域、すなわち、この領域を、抗菌、抗菌断片、あるいはFc融合性たんぱく質という文脈において、単独で言及することができる。ポリモルフィスは、EUの位置270、272、312、315、356、358を含むが、限定されないFcドメインのいくつかの位置で観察されており、したがって、本技術で知られているインスタント適用に提示される配列と既知の配列とのわずかな差が存在することができる。したがって、「ワイルドタイプIgG Fc ドメイン」または「WT IgG Fc ドメイン」とは、自然に発生するすべてのIgG Fc 領域(つまりどんなアレル)を指します。ヒトIgG1、IgG2、IgG3、IgG4 の重鎖の配列は、いくつかの順序データベース(www.uniprot.org)で、加入数P01857 (IGHG1_HUMAN)、P01859 (IGHG2_HUMAN)、P01860 (IGHG3_HUMAN)、P01861 (IGHG1_HUMAN)で見つけることができます。「WT」領域の例は、SEQ ID NO: 122 (Fc 領域を含む鎖定常領域提供する)で提供される。

【0059】

ここで用いられる用語「改良Fc領域」又は「改良Fc領域」は、1以上のアミノ酸の置換、削除、挿入又は改良を含むIgG Fc領域を指す。特定の態様において、変形IgG Fcドメインは、1以上のアミノ酸代替物を含まない野生型Fcドメインと比較して、FcガンマRおよび/またはC1qに対する1つ以上のアミノ酸代替物またはアブレーション結合親和性の減少またはアブレーション結合親和性をもたらす1つ以上のアミノ酸代替物を含む。さらに、Fc結合相互作用は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)および補体依存性細胞傷害(CDC)を含むが、これらに限定されない、様々なエフェクター機能および下流シグ

ナル伝達イベントに必須である。従って、特定の態様において、変形したFcドメイン(例えば、接合性たんぱく質又は共役)を含む抗体は、別の側面では同じアミノ酸配列を有するが、1以上のアミノ酸置換、削除、挿入又は変形、例えば、Fc領域内の対応する位置に天然に起こるアミノ酸残基を含む不変のFc領域を含まないようなものではない、少なくとも1つ以上のFc配位子(例えば、FcガンマRs)に対して変化した結合親和性を示すことができる。

様々なFc領域は、それらを構成するアミノ酸の改変によって定義される。Fc領域に関してここで議論したすべてのアミノ酸置換物について、数え方は常にカバトのようにEU指数に従う。したがって、例えば、D265Cは、EU位置265におけるアスパルチン酸(D)のFc変形例であり、親Fc領域に対してシスチン(C)で置き換えられる。置換が提供される順序は、任意であることに注意されたい。同様に、例えば、D265C/L234A/L235Aは、EU位置265(D~C)、234(L~A)、および、親のFcドメインに対する235(L~A)で代用した変形例Fcを定義する。変種は、EUアミノ酸の変位位置における最終アミノ酸組成によっても指定することができる。

10

【0060】

たとえば、L234A/L235Aミュータントは「LA」と呼ばれることができる。さらに別の例として、E233P.L234V.L235A.delG236(236の削除)ミュータントは「EPLVLAdelG」と呼ばれることができる。また別の例として、I253A.H310A.H435Aミュータントは「IHH」と呼ばれることができる。置換が提供される順序は、任意であることに注意されたい。

20

【0061】

ここで用いられる用語「Fcガンマレセプター」または「FcガンマR」は、IgGの抗タンパク質領域を結合し、FcガンマR遺伝子によってエンコードされる、種族のどれかを指す。ヒトにおいて、この家庭は、アイソフォームFcγRI(CD64)、Fcγリブ、およびFcγRIcを含むFcγRII(CD32)、アイソフォームFcγRIIa(アロタイプH131およびR131を含む)、FcγRIIb(FcγRIIb-1およびFcγRIIb-2を含む)、およびFcγRIII(アイソフォームFcγRIIIa(アロタイプV158およびF158を含む)およびFcγRIIb(アロタイプFcγRIIb-NA1およびFcγRIIb-NA2を含む)を含むFcγRII(CD64)、ならびにあらゆる未発見のヒトFcγRまたはFcγRアイソフォームまたはアロタイプを含む。FcガンマRは、ヒト、マウス、ラット、ウサギおよびサルを含む、しかしそれに限らないあらゆる生き物から得られる。マウスFcガンマRには、FcガンマRI(CD64)、FcガンマRII(CD32)、FcガンマRII(CD16)、FcガンマRII-2(CD16-2)に限らず、未発見のマウスFcガンマRsまたはFcガンマR同型または同類型が含まれる。

30

【0062】

ここで使用される「エフェクター関数」という用語は、FcレセプターとFcドメインの相互作用から結果生化学的事象を意味する。エフェクター関数には、ADCC、ADCP、CDCが含まれるが、これらに限定されない。ここで使用される「エフェクターセル」とは、1つ以上のFcレセプターを表現し、1つ以上のエフェクター関数を仲介する、エフェクターセルを意味する。エフェクター細胞は、単球、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好酸球、マスト細胞、血小板、B細胞、大型顆粒リンパ球、ランゲルハンス細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞、およびガンマデルタT細胞を含むが、これらに限定されず、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任意の生物由来であり得る。

40

【0063】

「サイレント」、「サイレンシング」、または「サイレンシング」という用語は、本明細書中で使用される場合、未修飾Fc領域を含む同一抗体のFcγRへの結合(例えば、BLIにより測定される、未修飾Fc領域を含む同一抗体のFcγRへの結合と比較して、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%のFcγRへの結合の減少)に対して、Fcγ受容体(FcγR)への結合が減少した、本明細書中に記載される修飾Fc領域を有する抗体を指す。いくつかの態

50

様において、Fcサイレンシング抗体は、FcγRへの検出可能な結合を有さない。改良されたFc領域を有する抗菌のFcimrRへの結合は、例えば、平衡法(例えば、ELISA; KinExA, Rathanaswamiら)に限定されないが周知の様々な技術を用いて決定することができる。分析生化学Vol.373:52-60, 2008; 2008年; または、ラジオエムアッセイ(RIA)、または、表面プラズモン共鳴アッセイまたはその他のキネティクスに基づくアッセイ(例えば、BIACORETM分析またはOctetTM分析(forteBIO))、および間接結合アッセイ、競争結合アッセイ、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)、ゲル電気泳動法およびクロマトグラフィー(例えば、ジェルフィルトレーション)などの他の方法による。これらおよび他の方法は、検討中の成分の一つまたはそれ以上のラベルを利用することができ、また/または、発色性、蛍光、発光、または同位体標識を含むが、それに限らない多様な検出方法を使用することができる。結合する親和性と運動学についての詳細な記述は、Paul, W. E., ed., *Fundamental Immunology*, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)に見られる。競合結合アッセイの一例は、増大する量の非標識抗原の存在下での標識抗原と目的の抗体とのインキュベーション、および標識抗原に結合した抗体の検出を含むラジオイムノアッセイである。特定の抗原に対する興味のある標本の親和性と結合オフレートは、スキッチャードプロット分析によりデータから決定することができる。また、ラジオイムノアッセイを用いて、第二の抗菌剤との競合を判断することもできる。この場合、この抗原は、標識されていない第2のビーンズの増加量の存在の中で、標識化された複合物に接合された興味のあるビーンズと共にインキュベートされる。

10

20

【0064】

ここで用いられるように、「非改良Fc領域を含む同一抗菌」という用語は、復唱されたアミノ酸の置換(例えば、D265C、H435A、L234Aおよび/またはL235A)が欠けているが、それ以外の場合には、それが比較されているFc改良抗菌と同じアミノ酸配列を有する。

【0065】

「抗体依存性細胞媒介性細胞毒性」または「ADCC」という用語は、特定の細胞毒性細胞(例えば、主にNK細胞、好中球、およびマクロファージ)上に存在するFcレセプター(FcR)上に結合したFcドメイン、例えば抗体を含むポリペプチドを指し、これらの細胞毒性エフェクター細胞が抗原ペアリング「ターゲット細胞」に特異的に結合し、続いてターゲット細胞を細胞毒素で殺すことを可能にする細胞毒性の形態を指す。(Hogarth et al., *Nature review Drug Discovery* 2012, 11:313) 抗物質とそのフラグメントに加えて、Fc領域を含む他のポリペプチド、例えば、Fc融合タンパク質とFc結合たんぱく質であり、抗原ペアリングターゲット細胞に特別に結合する能力を有する他のポリペプチドが、細胞媒介の細胞毒性を作用させることができると考えられている。

30

【0066】

単純化のために、Fc領域を含むポリペプチドの活性から生じる細胞媒介の細胞毒を、ここではADCC活性と呼ぶ。ADCCによって標的細胞の溶解を媒介する本開示の特定のポリペプチドの能力は、アッセイすることができる。ADCC活性を評価するために、興味のあるポリペプチド(例えば、抗菌剤)が、ターゲット細胞に、ターゲット細胞の細胞分解をもたらす、防除エフェクター細胞と組み合わせて、加えられる。細胞分解は通常、標識(たとえば放射性基質、蛍光染料、天然細胞内タンパク質)を分解した細胞から放出することによって検出される。このようなアッセイに有用なエフェクター細胞には、周辺血液単核細胞(PBMC)およびナチュラルキラー(NK)細胞が含まれる。in vitro ADCCアッセイの具体例は、Bruggemann et al., *J. Exp*に記載されている。中央値。166:1351 (1987); (1987); Wilkinsonら、*J. Immunol*方法258:183 (2001); Patel et al., *J. Immunol*方法184:29(1995)。別に、または、追加に、興味のあるアーティストのADCC活性は、例えばClynesら、*Proc*に開示されているような動物モデルにおいて、生体内で評価することができる。Natl.アカド。科学アメリカ95:652 (1998)。

40

【0067】

用語「完全長抗体」または「インタクト抗体」は、本明細書中で、その実質的にインタク

50

トな形態の抗体を指すために交換可能に使用され、本明細書中で定義されるような抗体フラグメントではない。このように、IgG bidについては、無傷のA₁D₁Fは可変領域、一定領域、Fc領域からなるそれぞれ2つの重鎖と、可変領域と一定領域からなるそれぞれ2つのL鎖からなる。より具体的には、無傷のIgGは、それぞれ軽鎖可変領域(VL)と軽鎖不変領域(CL)からなる2つの軽鎖からなり、それぞれ重鎖可変領域(VH)と3つの重鎖不変領域(CH1, CH2, CH3)からなる2つの重鎖からなる。CH2とCH3は重鎖のFc領域を表す。一実施の形態において、ここに記載されるADCは、無傷のCD117を含んでいる。

【0068】

ここで用いられるように、「骨格地域」又は「FW地域」は、抗原結合フラグメントのCDRに隣接するアミノ酸残留物を含む。FW領域残渣は、例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体、モノクローナル抗体、抗体断片、Fab断片、一本鎖抗体断片、scFv断片、抗体ドメイン、および二重特異性抗体中に存在し得る。

【0069】

また、ここに記載されたSEQ ID NOに記載された配列の「保守的な配列変更」、すなわち、核酸配列によってエンコードされた、あるいはアミノ酸配列を含む、抗原との結合を損なわないヌクレオチドおよびアミノ酸の配列変更も提供される。このような控えめな配列変化には、控えめなヌクレオチドとアミノ酸の置換、並びにヌクレオチドとアミノ酸の添加と削除が含まれる。例えば、現場指向の変調剤やPCRを媒介とした変調剤のような、本技術で知られる標準的な技術によって、ここに記載されるSEQ ID NOに変調を導入することができる。控えめな配列変化としては、控えめなアミノ酸の置換がある。この置換では、アミノ酸残基は、似たような側鎖をもつアミノ酸残基に置き換えられる。側鎖が類似しているアミノ酸残基のファミリーが本技術において定義されている。これらの家庭には、基礎的な側面鎖(例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン)、酸性側面鎖(例えば、アスパルチン酸、グルタミン酸)、非充電極性側面鎖(例えば、グリシン、アスパラジン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン)、非極性側面鎖(例えば、アラニン、バリン、レウシン、イソレウシン、プロリン、フェニールニン、メチオニン)、ベータ枝状の側面鎖(例えば、スレオニン、バリン、イソレウシン)、及び芳香族側面鎖(例えば、チロシン、フェニールニン、トリプトファン、ヒスチジン)を有するアミノ酸が含まれる。したがって、抗CD117抗体中の予測される非必須アミノ酸残基は、好ましくは、同じ側鎖家庭由来の別のアミノ酸残基で置き換えられる。抗原結合を除去しないヌクレオチドとアミノ酸の保守的な置換を同定する方法は、本技術でよく知られている(例えば、Brummellら、Biochem. 32:1180-1187 (1993); Kobayashiらを参照)。たんぱく図12(10):879-884 (1999); (1999)、Burksら進める。Natl. アカド. 科学アメリカ94:41] (1997))。

【0070】

ここで用いられるように、「半減期」とは、身体中の薬物のプラズマ濃度が、被検者、例えば、人間の被検者において1/2ないし50%減少するのに要する時間をいう。この50%の血清濃度低下は、薬物循環量を反映している。

【0071】

本明細書中で使用される、用語「造血幹細胞」(「HSC」)は、自己複製し、顆粒球(例えば、前骨髄球、好中球、好酸球、好塩基球)、赤血球(例えば、網状赤血球、赤血球)、血小板(例えば、巨核芽球、血小板産生巨核球、血小板)、単球(例えば、単球、マクロファージ)、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、およびリンパ球(例えば、NK細胞、B細胞およびT細胞)を含むがこれらに限定されない多様な系統を含む成熟血球に分化する能力を有する未成熟血球を指す。このような細胞はCD34⁺細胞を含むことができる。CD34⁺細胞は、CD34セル表面マーカを表す未成熟細胞です。ヒトでは、CD34⁺細胞は、上述の幹細胞特性を有する細胞の亜集団を含むと考えられているが、マウスでは、HSCはCD34⁻である。さらに、HSCは、長期再増殖HSC(LT-HSC)および短期再増殖HSC(ST-HSC)も指す。LT-HSCsとST-HSCsは、機能電位と細胞表面マーカー式に基づいて区別される。例えば、ヒトHSCは、CD34⁺、CD38⁻、CD45RA⁻、CD90⁺、CD49F⁺

10

20

30

40

50

、lin(CD2、CD3、CD4、CD7、CD8、CD10、CD11b、CD19、CD20、CD56、CD235Aを含む成熟した直線マーカーについては負の値です)。マウスにおいて、骨髄LT-HSCは、CD34-、SCA-1+、C-kit+、CD135-、Slamfl/CD150+、CD48-、およびlin(Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220、IL7raを含む成熟系統マーカーに対して陰性)であるのに対し、ST-HSCは、CD34+、SCA-1+、C-kit+、CD135-、Slamfl/CD150+、およびlin(Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220、IL7raを含む成熟系統加えて、ST-HSCはホメオスタシス条件下でLT-HSCよりも静止期が少なく、より増殖性である。しかしながら、LT-HSCはより大きな自己複製能を有する(すなわち、それらは成人期を通して生存し、連続した受取人を通して連続的に移植時間)のに対し、ST-HSCは限定された自己複製を有する(すなわち、それらは限られた期間のみ生存し、連続した移植能を有しない)。これらのHSCのどれも、ここに記載された方法でを使用することができる。ST-HSCは、非常に拡散性があり、したがって、より迅速に差別化された子孫を生み出すことができるので、特に有用である。

10

【0072】

本明細書中で使用される「造血幹細胞機能電位」という用語は、1)顆粒球(例えば、前骨髄球、好酸球、好塩基球)、赤血球(例えば、網状赤血球)、血小板(例えば、巨核球、血小板)、単球(例えば、単球、マクロファージ)、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、およびリンパ球(例えば、NK細胞、B細胞およびT細胞)を含むが、これらに限定されない複数の異なる血液系統に分化する能力を指す、2)自己複製(母細胞として同等の電位を有する造血幹細胞の能力を指す、さらに、この能力は、枯渇することなく個々の寿命にわたって繰り返し生じ得ること、および3)移植レシピエントに再導入される造血幹細胞またはその後代の能力。それらは造血幹細胞ニッチに入り、生産的で持続的な造血を再確立する。

20

【0073】

ここで用いられる「人間の抗菌」という用語は、ヒトジェルムラインのイグロブリン配列に由来する様々で一定の領域を有する抗性質を含むことを意図している。ヒトの抗菌は、ヒトジェルムラインのイグロブリン配列によってエンコードされていないアミノ酸残基(例えば、無作為またはサイト特有の遺伝子組換え中に導入されたか、あるいは生体内での遺伝子組換え中または体交代中に導入された)を含み得る。しかしながら、ここで用いられる「人間の抗菌」という用語は、マウスのような他の哺乳動物のジェルムラインに由来するCDR配列をヒトのフレームワーク配列に接ぎ木したものを含むことを意図していない。ヒトの抗菌は、ヒトの細胞(たとえば組み換え式)の中で、あるいは、機能的に再配置されたヒトの遺伝子(たとえば重鎖やL鎖)を表すことができる、ヒト以外の動物や原核あるいは真核細胞によって作り出すことができる。ヒトの抗たんぱく質が単一の鎖である場合、それは天然のヒトの抗たんぱく質には見られないリンカーペプチドを含むことができる。例えば、Fvは、重鎖の可変領域とL鎖の可変領域とを結びつける2~8のグリシンまたは他のアミノ酸残基のようなリンカーペプチドを含むことができる。このようなリンカーペプチドは、人間の起源であると考えられている。ヒト抗毒素は、ヒトのイムグロブリン配列から派生した抗菌ライブラリーを用いたファージディスプレイ法を含む、当業者に知られている種々の方法によって作ることができる。ヒト抗体はまた、機能的内因性免疫グロブリンを発現することができないが、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現することができるトランスジェニックマウスを使用して作製され得る(例えば、PCT公開番号WO 1998/24893; WO 1992/01047; WO 1996/34096; WO 1996/33735; 米国特許第5,413,923号; 第5,625,126号; 第5,633,425号; 第5,569,825号; 第5,661,016号; 第5,545,806号; 第5,814,318号; 第5,885,793号; 第5,916,771号; および第5,939,598号を参照のこと)。

30

40

【0074】

ヒト以外の(例えば、ムリン又はラット)の「人為化」型の抗毒剤は、ヒト以外のイムグロブリンに由来する最小限の配列を含んでいるウィムグロブリンである。一般的に、ヒト化された抗原は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変領域の実質的な全てを含み、CDR領域の全部または実質的に全てが非ヒトジェルウリンの領域に対応し、FR領域の全部また

50

は実質的に全てがヒトゲルウリン配列の領域である。ヒト化された抗原はまた、少なくとも、通常、ヒト・イムグロブリンのコンセンサス配列の、イムグロブリン定常領域(Fc)を構成することができる。抗体のヒト化の方法は、当該技術分野で公知であり、例えば、Riechmannら、性質 332:323-7,1988;Queenらに対する米国特許第5,530,101号;第5,585,089号;第5,693,761号;第5,693,762号;および第6,180,370号;EP239400号;PCT公開第WO 91/09967号;米国特許に記載されている。No. 5,225,539;EP592106;EP519596;Padlan, 1991, Mol.Immunol., 28:489-498;Studnicka et al., 1994, Prot.エング7:805-814;Roguskaら、1994年、ProcNatl.アカド。科学91:969-973;米国特許No.5,565,332。

【0075】

ここで用いられるように、血液細胞移植を「必要としている」患者には、1種類以上の血球型に欠陥または欠陥がある患者、並びにここに記載されている幹細胞障害、自己感染症、ガン、または他の病理を有する患者が含まれる。造血幹細胞は、一般に、1)多分化能を示し、従って、次のように複数の異なる血液系統に分化することができる:顆粒球(例えば、前骨髄球、好中球、好酸球、好塩基球)、赤血球(例えば、網状赤血球、赤血球)、血小板(例えば、巨核芽球、血小板産生巨核球、血小板)、単球(例えば、単球、マクロファージ)、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、およびリンパ球(例えば、NK細胞、B細胞およびT細胞)、2)自己複製能を有し、したがって、母細胞として同等の可能性を有する娘細胞を生じ得る、3)移植レシピエントに再導入され、その際、それらが造血幹細胞ニッチに帰着し、再生産的かつ持続的な造血を確立する能力。このようにして、造血幹細胞を、インビボでの細胞の欠損または欠損集団を再構成するために、造血系列の1つ以上の細胞型において欠損または欠損している患者に投与することができる。例えば、患者はがんに苦しんでいるかもしれないし、その欠陥は、選択的または非特定の、がん細胞集団を枯渇させる安価な母性剤または他の薬品の投与によって引き起こされるかもしれない。

【0076】

さらに、またはその代替として、患者は、鎌状赤血球貧血、サラセミア、ファンコニ貧血、再生不良性貧血、およびヴィスコット-オールドリッチ症候群などの異常ヘモグロビン症(例えば、非悪性異常ヘモグロビン症)を患っていてもよい。この被検者は、アデノシンデアミナーゼ重度複合免疫不全症(ADA SCID)、HIV/AIDS、異染性白質ジストロフィー、ダイヤモンド-ブラックファン貧血、およびシュワックスマン-ダイヤモンド症候群に罹患しているものであり得る。被検者は、遺伝性の血液疾患(鎌状赤血球貧血など)または自己免疫疾患を有するか、またはその影響を受けている可能性がある。さらに、またはその代替として、被検者は、悪性腫瘍、例えば、神経芽細胞腫または血液癌を有するか、またはその影響を上記。例えば、被検者は、白血病、リンパ腫、または骨髄腫を有することができる。いくつかの実施形態において、被検者は、急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、多発性骨髄腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、または非ホジキンリンパ腫を有する。いくつかの実施形態において、被検者は骨髄異形症候群を有する。幾つかの実施例において、被検者は、硬皮症、多発性硬化症、陶器性大腸炎、クローン病、1型糖尿病、またはここに記載されている他の自己感染病理のような自己感染性の病気を有する。いくつかの実施形態において、被検者はキメラ抗原レセプターT細胞(CART)療法を必要としている。いくつかの実施形態において、被検者は代謝貯蔵障害を有するか、あるいはそうでなければ影響を受ける。被験体は、糖原病、ムコ多糖類症、ゴーシェ病、スフィンゴ脂質症、異染性白質ジストロフィー、または本明細書に開示される治療および治療から有益であり得る任意の他の疾患または障害(限定されるわけではないが、重症複合免疫不全症、ウィスコット-オールドリッチ症候群、高免疫グロブリンM(IgM)症候群、チェディアック-東病、遺伝性リンパ組織球症、骨形成不全症、貯蔵疾患、サラセミア・メジャー、鎌状赤血球症、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、若年性関節リウマチ、またはそれらの疾患、またはASH教育ブック、1:319-338(2000)。ここでは、その開示は、造血幹細胞移植治療の実施によって治療され得る病態に関するものであり、さらに、造血幹細胞移植を「必要としている」患者は、以下の

10

20

30

40

50

いずれかに罹患しているか、または罹患していない しながら、それにもかかわらず、巨核球、血小板、血小板、赤血球、肥満細胞、骨髓芽球、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、T-リンパ球、およびB-リンパ球のような、造血系列内の1以上の内因性細胞型のレベルの低下(例えば、それ以外は健康な被験体のレベルと比較して)を示す。当業者の1つは、他の健全な被検者に関して、前記の細胞タイプの1つ以上の量が、フローサイトメトリー及び蛍光活性化セルソーティング(FACS)手法のように、既知の他の方法の中で、フローサイトメトリー及び蛍光活性化セルソーティング(FACS)手法により、削減されているかどうかを、容易に判断することができる。

【0077】

ここで使用される「中立の」とは、リガンドに対するレセプターの結合や、基質とのエンザイムの相互作用を含む、特定の又は特定の標的(例えばCD117)の活動を著しく中和、妨害、抑制、阻害、破壊、縮小、干渉することができない、又は妨害することができない、抗原結合フラグメントをいう。1つの実施形態において、中性の抗CD117検出法、又はそのフラグメントは、SCF依存性細胞の拡散を実質的に抑制せず、また、CD117に結合するSCFをクロスブロックしない反CD117検出法である。中性のAb67(またはAb67の結合領域を持つ)の実施例である。対照的に、「アンタゴニスト」抗CD117抗体は、SCF依存性増殖を阻害し、SCFのCD117への結合を遮断することができる。Ab55(またはAb55の結合領域を有する)は、アンタゴニストのAb55の実施例である。

【0078】

ここで用いられるように、「受領者」という用語は、移植を受ける患者、例えば、血液細胞の集団を含む移植を意味する。受取人に投与される移植細胞は、例えば、自家細胞、同系細胞、または同種異系細胞であり得る。

【0079】

本明細書で使用される場合、「試料」という語は、被検者から採取された試料(例えば、血液、血液成分(例えば、血清または血漿)、尿、唾液、羊水、脳脊髄液、組織(例えば、胎盤または皮膚)、腓液、絨毛サンプル、および細胞)を指す。

【0080】

ここで用いられるように、「scFv」という用語は、重鎖の可変ドメインと抗原からのL鎖が一本の鎖を形成するために結合された単一の連鎖Fv(fv)を意味する。scFv断片は、V_L(例:CDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3)の可変領域と、リンカーによって分離されたV_H(例:CDR-H1、CDR-H2および/またはCDR-H3)の可変領域を含む単一のポリペプチドチェーンを含む。scFv断片のV_LとV_H領域に結合するリンカーは、プロテイン生成アミノ酸からなるペプチドリinkerである。代替リンカーは、scFvフラグメント(たとえば、D-アミノ酸を含むリンカー)の溶解性を高めるために、scFvフラグメント(例えば、ポリエチレングリコールを含むリンカーまたは繰り返しのグリシンとセリン残基を含むポリペプチドのような親水性リンカー)の溶解性を高めるために、分子(たとえば、分子内または分子間ジスルフィド結合を形成するシステイン残基物を含むリンカー)の生物物理学的安定性を改善するために、またはscFvフラグメント(たとえば、グリコシル化部位を含むリンカー)のウィンジェニック性を弱めるために、プロテオリトリック劣化に対するscFvフラグメントの耐性を高めるために、またはscFvフラグメント(たとえば、グリコシル化部位を含むリンカー)を弱めるために使用することができる。本明細書中に記載されるscFv分子の可変領域は、それらが由来した抗体分子からのアミノ酸配列が変化するように修飾され得ることも、当業者によって理解される。たとえば、保守的な置換や、アミノ酸残基の変化につながるヌクレオチドやアミノ酸の置換(たとえばCDRやフレームワーク残基)を作り、scFvが対応する抗原に結合する能力を維持または強化することができる。

【0081】

「特異的結合」または「特異的に結合する」という用語は、本明細書で使用する場合、抗体(o ADC)が、一般的にタンパク質ではなく特異的タンパク質構造(エピトープ)を認識

10

20

30

40

50

し、結合する能力を指し、抗体がエピトープ「A」に特異的である場合、標識された「A」および抗体を含む反応において、エピトープA(または遊離の非標識A)を含有する分子の存在は、抗体に結合した標識されたAの量を減少させる。例として、標識された抗体が、対応する非標識抗体によってその標的から離れて競合することができる場合、抗体は、標的に「特異的に結合する」。ある実施の形態では、当該技術が、少なくとも約 10M の -4 、 10M の -5 、 10M の -6 、 10M の -7 、 10M の -7 、 10M の -8 、 10M の -9 、 10M の -10 、 10M の -11 、 10M の K_D 、またはそれ以下(例えば 10^{-4} 以下の数字を意味する、 10^{-5} のような)の標的に対する K_D を有するならば、当該技術は、標的に特別に結合する。一実施の形態では、「CD117への比結合」又は「CD117への比結合」という用語は、本項で使用するように、CD117に結合し、表面プラズモン共鳴により決定されるように、酸解離定数(K_D)が $1.0 \times 10^{-7}\text{M}$ 以下のCD117への結合を有する(又はADC)を意味する。一実施形態では、 $K_D(\text{M})$ は、標準バイオ層干渉法に従って決定される。一実施の形態では、 $K_{\text{off}}(1/\text{s})$ は、標準のバイオ層干渉法(BLI)に従って決定される。しかしながら、この抗原は、連続して関連する2つ以上の抗原に特別に結合することができるかもしれないことを理解しなければならない。例えば、一実施の形態では、CD117のヒト及び非ヒト(例えば、マウス又は非ヒト霊長類)の両方のオーソログに、特定の結合することができる。

10

【0082】

ここで使用される「被検者」および「患者」という用語は、ここに記載されているように特定の病気または状態の治療を受けている人間のような有機体を指す。例えば、ヒト患者のような患者は、外因性造血幹細胞の生着を促進するために、造血幹細胞移植療法に先立って治療を受けることができる。

20

【0083】

ここで用いられるように、「実質的に血液から除去される」という句は、患者から分離された血液サンプル中の治療薬剤の濃度が従来の方法では検出できないような場合(例えば、治療薬剤が治療薬剤を検出するために使用された装置の騒音の限界を越えて検出できない、または治療薬剤を検出するために使用されたアッセイでない)、治療薬剤(例えば、ADC)を投与した後のある時点の意味する。当該技術分野で公知の種々の技術を使用して、抗体、または抗体断片(例えば、当該技術分野で公知の、または本明細書に記載されるELISAベースの検出アッセイ)を検出することができる。本技術分野で知られているものの中で、アッセイを用いて、抗毒剤、又は抗菌断片を検出することができる追加のアッセイには、予防接種技術及びイムプロットアッセイが含まれる。

30

【0084】

ここで用いられるように、「幹細胞障害」という用語は、広く、被検者の標的組織を整理し、また/又は標的組織内の内生の幹細胞集団を治療すること(例えば、被検者の骨髓組織から内生の血液細胞または祖先細胞集団を治療すること)、及び/又は被検者の標的組織に幹細胞を接木または移植することによって治療または治療することができる病気、障害または状態を指す。例えば、タイプ1糖尿病は血液細胞移植によって治療されることが示されており、本書に記載された構成と方法に従った調整が有益であることが示されている。本書に記載された組成物及び方法を用いて治療することができる追加の障害には、限定されないが、鎌細胞貧血、サラセミア、ファンconi貧血、無弾性貧血、ウィスコット・アルドリッチシンドローム、ADA SCID、HIV/エイズ、メタクロドロピストロフィー、ダイヤモンド・ブラックファン貧血およびシュワックマン・ダイヤモンドシンドロームが含まれる。本明細書に記載される患者の調整および/または造血幹細胞移植方法を用いて治療され上記追加の疾患は、遺伝性血液障害(例えば、鎌状赤血球貧血)および強皮症、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、およびクローン病などの自己免疫障害を含む。ここに記載された調整及び/又は移植方法を用いて治療され上記追加の病気には、リンパ腫、リンパ腫、肺、及び骨髓膜のような悪性又は血液がんが含まれる。例えば、癌は、急性骨髓性白血病、急性リンパ性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性リンパ性白血病、多発性骨髓腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、または非ホジキンリンパ腫であり得る。ここに記載されて

40

50

いる調整および/または移植方法を用いて治療可能な追加の病気には、骨髄細胞障害症候群が含まれる。いくつかの実施形態において、被検者は代謝貯蔵障害を有するか、あるいはそうでなければ影響を受ける。例えば、被検者は、糖原病、ムコ多糖症、ハーラー病、スフィンゴ脂質症、異染色性白質ジストロフィー、または本明細書に開示される治療および治療から有益であり得る任意の他の疾患または障害(限定されるわけではないが、重度複合免疫不全症、ウィスコット-オールドリッチ症候群、高免疫グロブリンM (IgM)症候群、チェディアック-東病、遺伝性リンパ組織球症、骨形成不全症、蓄積症、サラセミアメジャー、鎌状赤血球症、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、若年性関節リウマチ、またはそれらの疾患、またはASH教育書籍、1:319-338(2000)、その開示は、造血幹細胞移植療法の投与によって治療され得る病態に関するものであるため、ここではその全体を引用して組み込む。

10

【0085】

ここで用いられるように、「トランスフェクション」という用語は、原核または真核の宿主細胞への外生DNAの導入に一般的に使用される、エレクトロポレーション、リップフェクト、カルシウムリン上記析出、DEAE dextran トランスフェクションなどの広範囲にわたる技術の総称である。

【0086】

ここで用いられる「治療」という用語は、病気の症状の重度および/または周波数を低減し、病気の症状および/または当該症状の根本的な原因を除去し、病気の症状および/またはその根本的な原因の周波数または可能性を減少させ、病気によって直接または間接に引き起こされる損害を向上または上記すること、あるいは、長生き、病気のような病気の結果の向上、あるいは、他の治療様式の副産物である副作用の軽減/またはその/または軽減を意味する;この技術で容易に理解されるように、病気の完全な根絶は好ましいが、治療法の必要性ではないにしても好まれる。有益な、または望ましい臨床結果には、本書およびその後の血液細胞移植治療に続く患者のための外生血液細胞の移植を促進することが含まれるが、これに限定されない。さらなる有益な結果には、コンディショニング療法およびその後の患者への外因性造血幹細胞移植片の投与に続く、造血幹細胞移植を必要とする患者における造血幹細胞の細胞数または相対濃度の増加が含まれる。本明細書に記載される治療の有益な結果はまた、コンディショニング療法およびその後の造血幹細胞移植療法に続いて、巨核球、血小板、血小板、赤血球、マスト細胞、骨髄芽球、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア細胞、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、Tリンパ球、またはBリンパ球などの造血系列の1つ以上の細胞の細胞数または相対濃度の増加を含み得る。さらなる有益な結果には、癌細胞の集団(例えば、CD117+白血病細胞)または自己免疫細胞の集団(例えば、CD117+自己免疫リンパ球、例えば、自己抗原と交差反応するT細胞レセプターを発現するCD117+ T細胞)のような疾患を引き起こす細胞集団の量の低下が含まれ得る。本開示の方法が障害を防止することに向けられる限りにおいて、「防止する」という用語は、疾患状態を完全に阻止する必要がないと理解される。むしろ、ここで用いられるように、予防という用語は、当業者が障害に影響されやすい集団を特定する能力を意味し、したがって、本開示の化合物の管理は、病気の発生前に起こり得る。この用語は、病態が完全に回避されていることを意味するものではない。

20

30

40

【0087】

ここで用いられるように、「バリエーション」および「派生物」という用語は、互換的に使用され、また、ここに記載されている複合物、ペプチド、タンパク質、またはその他の物質の自然発生的、合成的および半合成アナログを指す。ここに記載されている複合物、ペプチド、タンパク質、またはその他の物質の変形または派生物は、元の物質の生物学的活性を維持または改善することができる。

【0088】

ここで用いられるように、「ベクター」という用語は、プラスミド、DNAベクトル、プラスミド、RNベクトル、ウイルス、または他の適切なレプリコンのような核酸ベクトル

50

を含む。ここに記載される表現ベクトルは、ポリヌクレオチド配列並びに、例えば、タンパク質の表現及び/又はこれらポリヌクレオチド配列を哺乳類細胞のゲノムに積分のに用いられる追加の配列要素を含むことができる。本開示の抗生物質及び抗生物質断片の表現に用いることができる特定のベクターには、遺伝子転写を直接する促進剤及び向上剤のような規制配列を含むプラスミドが含まれる。他にも、抗生物質および抗生物質断片の表現に有用なベクターには、ポリヌクレオチド配列が含まれており、これはこれらの遺伝子の翻訳速度を高めるか、遺伝子転写から結果mrnaの安定性または核輸出を改善する。これらの配列要素は、例えば、発現ベクター上に担持された遺伝子の効率的な転写を指示するために、5'および3'非翻訳領域、ならびにポリアデニル化シグナル部位を含み得る。本明細書中に記載される発現ベクターはまた、そのようなベクターを含有する細胞の選択のためのマーカーを符号化するポリヌクレオチドを含有上記。適切なマーカーの実施例には、アンピシリン、クロランフェニコール、カナマイシン、ノルソトリシンなどの抗生物質に抵抗性を示す遺伝子が含まれる。

10

【0089】

抗体-薬物共役(ADC)

ここに記載したCD117を結合する抗体および抗原結合フラグメントは、サイトトキシク分子(すなわち、PNUのような細胞毒素)に結合され、それによって、啓発薬物(ADC)を形成することができる。ここで用いられるように、「細胞毒素」、「サイトトキシク・モイティー」および「ドラッグ」という用語は、互換的に使用される。

20

【0090】

特に、本明細書に開示されるADCは、細胞傷害性部分にコンジュゲートされた(すなわち、リンカーによって共有結合された)抗体(その抗原結合フラグメントを含む)を含み、ここで、細胞傷害性部分は、抗体部分にコンジュゲートされない場合、細胞傷害性または細胞増殖抑制効果を有する。様々な実施形態において、細胞毒性部分は、共役中で結合された場合、減少したまたは全く細胞毒性を示さないが、リンカーからの切断後に細胞毒性を再開する。種々の態様において、細胞毒性部分は、リンカーからの切断なしに細胞毒性を維持する。幾つかの実施例において、サイトトキシク分子は、本明細書に開示されているように、細胞内化された抗原結合フラグメントに接合され、このように、細胞内吸収、又はその断片に続いて、細胞毒素は細胞内標的にアクセスし、例えば、血液細胞死を媒介することができる。従って、本開示のADCは、一般的な公式であるかもしれない。

30

$Ab-(Z-L-Cy)_n$

【0091】

それは、その(Ab)の抗原結合フラグメントが、化学物質(Z)を通してリンカー(L)と結合され(同価に結合され)、細胞傷害性(Cy)と結合することである。

従って、それらの抗原結合フラグメントは、例えば約1から約20までの範囲のある、抗原毒素1個あたりの平均数を表す整合nによって示されるように、多くの薬物モイートに結合することができる。いくつかの実施形態において、nは1から4である。いくつかの実施形態において、nは2である。いくつかの実施形態において、nは1である。共役反応からのADCの調製における、1個当たりの薬物モイティーの平均数は、質量分析、ELISAアッセイ、およびHPLCのような従来の方法によって特徴づけられる。nでのADCの定量的分布も決定できる。場合によっては、nが他の薬物ロードを有するADCからある一定の価値である場合には、逆相HPLCまたは電気泳動によって分離、精製および均質ADCの特性化を達成することができる。

40

【0092】

幾つかの抗菌薬の結合体については、nは、その抗菌に対する付着部位の数によって制限されることがある。例えば、接着がシステインチオールである場合、1つか複数のシステインチオールグループを持つことができるか、またはリンカーが付着することができる十分に反応するチオール基つか数つか持たないことがある。一般的に、抗生物質には、薬物母性と結びついている可能性のある、多くの自由で反応性のあるシステインチオール基が含まれていない;主に、システインチオール残渣は、ジスルフィドブリッジ部として存

50

在する。ある種の実施形態では、部分的又は全面的な減少条件下で、ジチオスレイトール(DTT)又はトリカルボンチルフォスフィン(TCEP)のような減少剤により、反応性システインチオールグループを生成するために、抗菌を減少させることができる。

【0093】

ある種の実施形態では、共役反応の間に、薬物モイティの理論的な最大値よりも少ない数が、抗菌に接合される。たとえば、以下で論じるように、抗菌剤は、薬物-リンカー中間体またはリンカー試薬と反応しないリジン残渣を含むことができる。最も反応性のリジン基のみが、アミン反応性リンカー試薬と反応し得る。ある種の実施形態では、リジンまたはシステインのような反応性の核好性グループを明らかにするために、抗菌は劣化状態にさらされる。

【0094】

ADCの負荷(ドラッグ/ビーチ比)は、例えば、(i)抗たんぱく質リンカー中間体又はリンカー試薬のモル余剰を、たとえば、(ii)共役反応時間または温度を制限すること、(iii)システインチオール修飾の部分的または制限的な条件、(iv)再結合技術により、システイン残留物の数と位置を、リンカー薬物接合の数および/または位置を制御するために変えるような、その抗たんのアミノ酸配列を工学的に調整することによって、異なる方法で制御することができる。

【0095】

細胞毒素:アントラサイクリン

ここに記載されているCD117を結合するアンチボディおよび抗原結合フラグメントは、サイトトキシク分子(すなわち、アントラサイクリンのような細胞毒素)と結合(結合)し、それゆえに、Andistic-薬物上記体(ADC)を形成することができる。ここで用いられるように、「細胞毒素」、「サイトトキシク・モイティー」および「ドラッグ」という用語は、互換的に使用される。

【0096】

特に、本明細書に開示されるADCは、CD117(その抗原結合フラグメントを含む)を細胞傷害性部分(例えば、アントラサイクリン)にコンジュゲートさせた(すなわち、リンカーによって共有結合させた)抗体を含み、ここで、細胞傷害性部分は、抗体部分にコンジュゲートされない場合、細胞傷害性または細胞増殖抑制効果を有する。様々な実施形態において、細胞毒性部分は、共役中で結合された場合、減少したまたは全く細胞毒性を示さないが、リンカーからの切断後に細胞毒性を再開する。種々の態様において、細胞毒性部分は、リンカーからの切断なしに細胞毒性を維持する。幾つかの実施例において、サイトトキシク分子は、本明細書に開示されているように、細胞内化された抗原結合フラグメントに接合され、このように、細胞内吸収、又はその断片に続いて、細胞毒素は細胞内標的にアクセスし、例えば、血液細胞死を媒介することができる。従って、本開示のADCは、一般的な公式であるかもしれない。

$Ab-(Z-L-Cy)_n$ 、

【0097】

それは、その(Ab)の抗原結合フラグメントが、化学物質(Z)を通してリンカー(L)と結合され(同価に結合され)、細胞傷害性(Cy)と結合することである。

従って、それらの抗原結合フラグメントは、例えば約1から約20までの範囲のある、抗原毒素1個あたりの平均数を表す整合nによって示されるように、多くの薬物モイットに結合することができる。いくつかの実施形態において、nは1から4である。いくつかの実施形態において、nは1である。共役反応からのADCの調製における、1個あたりの薬物モイティーの平均数は、質量分析、ELISAアッセイ、およびHPLCのような従来の方法によって特徴づけられる。nでのADCの定量的分布も決定できる。場合によっては、nが他の薬物ロードを有するADCからある一定の価値である場合には、逆相HPLCまたは電気泳動によって分離、精製および均質ADCの特性化を達成することができる。

【0098】

幾つかの抗菌薬の結合体については、nは、その抗菌に対する付着部位の数によって制限

10

20

30

40

50

されることがある。例えば、接着がシステインチオールである場合、1つか複数のシステインチオールグループを持つことができるか、またはリンカーが付着することができる十分に反応するチオール基つか数つしか持たないことがある。一般的に、抗生物質には、薬物母性と結びついている可能性のある、多くの自由で反応性のあるシステインチオール基が含まれていない;主に、システインチオール残渣は、ジスルフィドブリッジ部として存在する。ある種の実施形態では、部分的又は全面的な減少条件下で、ジチオスレイトール(DTT)又はトリカルボンチルフォスフィン(TCEP)のような減少剤により、反応性システインチオールグループを生成するために、抗菌を減少させることができる。ある種の実施形態では、より高い薬物負荷、例えば $n \geq 5$ は、特定の抗ドラッグ共役体の集合、不溶性、有毒または細胞透過性の損を引き起こす可能性がある。

10

【0099】

ある種の実施形態では、共役反応の間に、薬物モイティの理論的な最大値よりも少ない数が、抗菌に接合される。たとえば、以下で論じるように、抗菌剤は、薬物-リンカー中間体またはリンカー試薬と反応しないリジン残渣を含むことができる。最も反応性のリジン基のみが、アミン反応性リンカー試薬と反応し得る。ある種の実施形態では、リジンまたはシステインのような反応性の核好性グループを明らかにするために、抗菌は劣化状態にさらされる。

【0100】

ADCの負荷(ドラッグ/ビーチ比)は、例えば、(i)抗たんぱく質リンカー中間体又はリンカー試薬のモル余剰を、たとえば、(ii)共役反応時間または温度を制限すること、(iii)システインチオール修飾の部分的または制限的な条件、(iv)再結合技術により、システイン残留物の数と位置を、リンカー薬物接合の数および/または位置を制御するために変えるような、その抗たんのアミノ酸配列を工学的に調整することによって、異なる方法で制御することができる。

20

【0101】

ここに記載されているように、抗CD117抗毒物およびそれらの抗原結合フラグメントは、細胞毒素と結合(結合)することができる。幾つかの実施例では、本記載の抗CD117抗生物質及び抗原結合フラグメントは、アントラサイクリン分子又はその派生物である細胞毒素に結合することができる。アントラサイクリン類は、*Streptomyces*属の細菌から単離され、細胞毒性活性を示す抗腫瘍抗生物質のサブクラスである。アントラサイクリンは、以下のような多くの異なるメカニズムによって細胞を殺すことができることが研究で示されている:1)細胞のDNAへの薬物分子の相互作用により、それによってDNAに依存する核酸の合成を抑制する;2)細胞にダメージを上記フリーラジカルの薬物によって、あるいは3)細胞膜との薬物分子の相互作用(例:アントラサイクリンの実験システムおよびヒト白血病における輸送および貯留;およびN.R.バクル、"フリー・ラディカル・ダメージ", *Id*, pp.97-102)細胞毒の電位アントラサイクリンは、白血病、乳がん、卵巣のアデノカルシノマ、サルコマなどの多くのガンの治療に使用されてきた(例えば、Wiernik, P.H., "Anthracycline: 現状と新たな展開", p.11)。

30

【0102】

アントラサイクリンの代表的な例としては、ダウノルビシン(セルビジン;ベッドフォード研究所)、ドキソルビシン(アドリアマイシン;ベッドフォード研究所;ドキソルビシン塩化水素塩化物、水酸-ダウノルビシンおよびルベックスとも呼ばれる)、エピルビシン(エレンス;ファイザー)、イダルビシン(イダマイシン;ファイザー)があるが、これらに限らない。ドキソルビシンは、転写のためにDNAをほどく酵素トポイソメラーゼIIの挿入と進行の抑制によってDNAと相互作用すると考えられている。ドキソルビシンは、複製のためのDNA鎖を切断した後、トポイソメラーゼII錯体を安定化し、DNA二重らせんが再結合するのを妨げ、それによって複製過程を停止させる。ドキソルビシンおよびダウノルビシン(DAUNOMYCIN)は、プロトタイプの細胞傷害性天然物アントラサイクリン化学療法薬(Sessaら、(2007) Cardiovasc)である。トキシコール。7:75-79)。

40

【0103】

50

本書で使用する適当なアントラサイクリンの限定されない例の1つは、ネモルビシンの非常に強力な主要代謝物であるPNU-159682("PNU")である。PNUは親nemorubicinと比較して3000倍以上の細胞毒を示す(Quintieri et al., Clinical Cancer Research 2005, 11, 1608-1617)。PNUは構造式で表される。

[化2]

【0104】

PNUのようなアントラサイクリン上の複数の位置は、結合分子を共有結合する位置として役立つことができ、したがって、本書に記載されているように、アンチCD117抗物質または抗原結合フラグメントである。例えば、リンカーは、水酸エチルケトン側鎖に変形を通して導入することができる。

10

【0105】

いくつかの実施形態において、細胞毒素は、構造式(I)で表されるPNU誘導体である。

[化3]

【0106】

ウェーブラインとは、以下に述べるように、ADCのリンカーへの等価な付着点を示す。いくつかの実施形態において、細胞毒素は、構造式(II)に表されるPNU誘導体である。

[化4]

ウェーブラインとは、以下に述べるように、ADCのリンカーへの等価な付着点を示す。

【0107】

リンカー

20

ここで使用される「リンカー」という用語は、相価結合またはその反CD117(Ab)を細胞毒素(例えばPNU誘導体)に同価に付着させる原子の連鎖を含む同価化学水分を意味し、それは、抗CD117(Ab)を相乗的に細胞毒素(例えばPNU誘導体)に付着させて、抗薬物共役(ADC)を形成する。

【0108】

上記抗体および薬物部分の共有取付部材は、リンカーが2つの反応性官能基(すなわち、反応の意味において二価)を有することを要する。ペプチド、核酸、薬方法、毒素、抗毒素、ハプテン、およびレポーターグループのような、2つ以上の機能的または生方法学的に活発なモイティを付着させるのに有用な二価リンカー試薬が知られており、その結果として生じた結合方法(Hermanson, G. T. (1996) バイオコンジュゲートテクニク; アカデミックプレス: ニューヨーク、234-242ページ)が記載されている。

30

【0109】

従って、現在のリンカーは、2つの反応性ターミニを持っている。1つは、抗菌に対する共役であり、もう1つは、細胞毒素に対する共役である。リンカーの共役反応性ターミナル(ここではZ'として定義する反応性物質)は、典型的には、例えば、抗菌に対するシステインチオールまたはリジンアミングループを通して共役できる化学物質であり、したがって、典型的には、マイケルアクセプター(マレイミドのような)、クロロ、ブロモ、イオドまたはR-スファニールグループのような脱離基、またはカーボキシルグループのようなアミン反応性グループである。リンカーと抗菌剤の結合については、ここでより詳しく説明する。

40

【0110】

リンカーの細胞毒素共役反応性ターミナルは、細胞毒素分子内の反応性代替物との結合を形成することによって細胞毒素に共役することができる化学的な基質である。限定されていない例としては、例えば、リンカー上のカルボキシル又は基本アミン基を経由して、細胞毒素上の基本アミン又はカルボキシル基とアミド結合を形成すること、又は、細胞毒素上のOH又はNH基のアルキル化を経て、それぞれエーテル、アミド又はそれに類するものを形成することが含まれる。

【0111】

「リンカー」という用語が活用形でリンカーを説明する際に使用されるとき、反応性ターミニの一方又は両者は、リンカー及び/又は細胞毒素の間の結合の形成、並びにリンカー

50

及び/又はそれらのリンカー又はそれらの抗原結合フラグメントの間の結合のために、不完全(例えば、以下に述べるように、反応性モアチュアZに変換されたZ'のような)又は不完全(例えば、カルボキシル酸のカルボニールのみである)でなくなるだろう。このような上記反応については、ここでさらに詳しく説明する。

【0112】

種々のリンカーを使用して、細胞傷害性分子に記載された抗体、抗原結合フラグメント、および配位子を結合させることができる。一般的に、本開示に適したリンカーは、循環において実質的に安定であるが、標的細胞内又は近接でアントラサイクリンを放出することを可能にする。幾つかの実施例において、本開示に適した特定のリンカーは、「クレ-発明」又は「非クレ-発明」として分類され得る。一般に、切り離すことができるリンカーは、生理学的環境に応じて切り離される1つ以上の官能基を含んでいる。例えば、クレ-バブルリンカーには、細胞内エンザイム(例えば、カテプシンB)の存在で分解するエンザイマティック基材(例えば、バリン・アラニン)、細胞区画の酸性環境で分解する酸性クリ-バブル基(例えば、ヒドロゾン)、または細胞内還元環境で分解する還元性基(例えば、ジスルフィド)を含むことができる。コンテストにより、一般に、非切断性リンカーは、標的細胞内のADCの抗体部分の劣化(例えば、リソソーム劣化)中にADCから放出される。

10

【0113】

切断不能なリンカー

本明細書での使用に適した、 $-(C=O)-$ 、 C_1-C_{12} アルキレン、 C_1-C_{12} ヘテロアルキレン、 C_2-C_{12} アルケニレン、 C_2-C_{12} ヘテロアルケニレン、 C_2-C_{12} アルキニレン、 C_2-C_{12} ヘテロアルキニレン、 C_3-C_{12} シクロアルキレン、ヘテロシクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、およびそれらの組合せから選択される1つまたは複数のグループをさらに含み、それらの各々は任意に置換されてもよく、および/または1つまたは複数のヘテロアトム(例えば、S、N、またはO)を1つまたは複数の原子の代わりに含んでもよい。このようなグループの非限定的な例としては、アルキレン $(CH_2)_p$ 、 $(C=O)(CH_2)_r$ 、および $(PEG; (CH_2CH_2O)_q)$ 、単位、 $-(NHCH_2CH_2)_u-$ があり、ここで、p、q、r、t、およびuのそれぞれは、発生ごとに独立して選択される1~12の整数である。

20

【0114】

いくつかの実施形態において、リンカLは、結合、 $-(C=O)-$ 、 $-C(O)NHgroup$ 、 $-OC(O)NHgroup$ 、 $-OC(O)NHgroup$ 、 C_1-C_{12} アルキレン、 C_1-C_{12} ヘテロアルキレン、 C_2-C_{12} アルキレン、 C_2-C_{12} ヘテロアルケニレン、 C_2-C_{12} アルキニレン、 C_2-C_{12} ヘテロアルキニレン、 C_3-C_{12} シクロアルキレン、ヘテロシクロアルキレン、ヘテロアルキレン、 $-(CH_2CH_2O)-group$ のうちの1つ以上を含む。ここで、qは、1-12からの整数、 $-(NHCH_2CH_2)_u-group$ である。ここで、uは、1-12からの整数、または、液性向上グループである。

30

【0115】

それぞれの C_1-C_{12} アルキレン、 C_1-C_{12} ヘテロアルキレン、 C_2-C_{12} アルケニレン、 C_2-C_{12} ヘテロアルキニレン、 C_2-C_{12} ヘテロアルキニレン、 C_3-C_{12} シクロアルキレン、ヘテロシクロアルキレン、アリーレン、またはヘテロアリーレンは、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アルカリ、ヘテロアリール、アルキルヘテロアリール、アミノ、アンモニウム、アシル、アシルオキシ、アシルアミノカルボニル、アルコキシカルボニル、ウレイド、カルバメート、アリール、ヘテロアリール、スルフィニル、スルホニル、ヒドロキシル、アルコキシ、スルファニル、ハロゲン、カルボキシ、トリハロメチル、シアノ、ヒドロキシ、メルカプト、およびニトロからなる群からそれぞれ独立に選択される1~5個の置換基で置換されていてもよい。

40

【0116】

いくつかの実施形態において、それぞれの C_1-C_{12} アルキレン、 C_1-C_{12} ヘテロアルキレン、 C_2-C_{12} アルケニレン、 C_2-C_{12} ヘテロアルケニレン、 C_2-C_{12} アルキニレン

50

、C₂-C₁₂ ヘテロアルキニレン、C₃-C₁₂ シクロアルキレン、ヘテロシクロアルキレン、アリーレン、またはヘテロアリーレンは、任意にO、SおよびNから選択される1つ以上のヘテロアトによって中断されてもよい。

【0117】

いくつかの実施形態において、それぞれのC₁-C₆アルキレン、C₁-C₁₂ヘテロアルキレン、C₂-C₁₂アルケニレン、C₂-C₁₂ヘテロアルキニレン、C₂-C₁₂ヘテロアルキニレン、C₃-C₁₂シクロアルキニレン、ヘテロシクロアルキレン、ヘテロシクロアルキレン、アリーレン、またはヘテロアリーレンは、O、SおよびNから選択される1つ以上のヘテロ原子によって任意に中断されてもよく、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アルキアリール、ヘテロアリール、アルキルヘテロアリール、アミノ、アンモニウム、アシル、アシルオキシ、アシルアミノカルボニル、アルコキシカルボニル、ウレイド、カルバメート、アリール、ヘテロアリール、スルフィニル、スルホニル、ヒドロキシル、アルコキシ、スルファニル、ハロゲン、カルボキシ、トリハロメチル、シアノ、ヒドロキシ、メルカプト、およびニトロからなる群から選択される1~5

いくつかの実施例において、リンカーLは、例えば、米国特許第9,636,421号及び特許出願公開公報第2017/0298145号において開示されているような溶解性を高めるグループを含んでおり、上記の各開示は、それらの全体としてここに含まれている。

【0118】

切断可能なリンカー

いくつかの実施例では、リンカーが抗CD117抗原結合断片又はその細胞毒素(例えば、PNU誘導体)を活用するリンカーは、細胞内環境において、細胞毒素単位が細胞内環境から放出されるような、細胞内条件下でクレービング可能である。クリーン低下リンカーは、例えば、標的細胞内で細胞毒素の放出を引き起こすために、局所環境、例えば、細胞外および細胞内環境の違いを利用するように設計されている。一般に、分割可能なリンカーは、循環において比較的安定であるが、1つ以上の機構(例えば、プロテアーゼ、ペプティダーゼ、グルクロニダーゼの活動を含むが、それに限定されない)を通して、細胞内環境において特に分裂しやすい。本分野で使用されている清浄可能なリンカーは、ターゲット細胞の周囲及び/又は外側で安定しており、ターゲット細胞内又はターゲット細胞に近接している一定の効果的な速度で分裂することができる。

【0119】

適切な切断可能なリンカーは、例えば、酵素的加水分解、光分解、酸性条件下での加水分解、基本条件加水分解、酸化、ジスルフィド還元、求核切断、または有機金属切断によって切断され得るものを含む(例えば、Leriche et al., Bioorg. Med. Chem., 20:571-582, 2012を参照のこと、その開示は、共有共役共役に適したリンカーに関連するとして、参照により本明細書に組み込まれる)。適切な切断可能なリンカーは、例えば、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドなどの化学的部分を含み得る。

【0120】

酸性条件下で加水分解可能なリンカーには、例えば、ヒドラゾン化合物、セミカルバゾン、チオセミカルバゾン、cis-アコニットアミド、オルトエステル、アセタール、ケタールなどが含まれる。(例えば米国特許を参照。No.5,122,368; 5,824,805; 5,824,805; 5,622,929; Dubowchik and Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123; Neville et al., 1989, Biol. Chem. 264:14653-14661、各開示は、同価活用に適したリンカーに関連するので、ここにその全体として参考文献に含まれる。このようなリンカーは血液中のような中性のpH条件下では比較的安定であるが、pH 5.5または5.0(リソソームの上記pH)以下では不安定である。

【0121】

還元条件下で掃除可能なリンカーには、例えばジスルフィドが含まれる。例えば、アドバンストテクノロジアタッチメント(N-スクシンイミジル-S-アセチルチオアセテート)、SPDP(N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオナート)、SPDB(N-スクシ

10

20

30

40

50

ンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)酪酸)及びSMPT (N-スクシンイミジル-オキシカルボニル- α -メチル- α -(2-ピリジル-ジチオ)トルエン)、SPDB及びSMPTを用いて形成することができるものを含む、種々のジスルフィドリンカーが当該技術分野において公知である(例えば、Thorpe et al., 1987, Cancer Res). 47:5924-5931; Wawrzynczak et al., In Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimagery and Therapy of Cancer (C. W. Vogel ed., Oxford U. Press, 1987. 米国特許も参照のこと。No. 4,880,935は、各々の開示が、共有結合共役に適したリンカーに関連するので、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0122】

酵素的加水分解に感受性のリンカーは、例えば、細胞内ペプチダーゼまたはプロテアーゼ酵素(リソソームまたはエンドソームプロテアーゼを含むが、これらに限定されない)によって切断されるペプチド含有リンカーであり得る。治療薬剤の細胞内プロテオリズム放出を使用することの1つの利点は、その薬品が接合されたときに典型的に減衰され、接合体の美容安定性が一般的に高いことである。いくつかの実施形態において、ペプチルリンカーは少なくとも2つのアミノ酸が長い少なくとも3つのアミノ酸が長い。典型的なアミノ酸リンカーには、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチドまたはペンタペプチドが含まれる。適切なペプチドの例には、バリン、アラニン、シトルリン、フェニルアラニン、リジン、ロイシン、およびグリシンのようなアミノ酸を含有するものが含まれる。アミノ酸リンカー成分を構成するアミノ酸残留物には、天然のものに加え、マイナーなアミノ酸や、シトルリン等の非天然のアミノ酸類似物が含まれます。典型的なジペプチドには、フェニルアラニン-シトルリン(vcまたはval-cit)およびアラニン-フェニルアラニン(afまたはala-phe)が含まれる。例示的なトリペプチドには、グリシン-フェニルアラニン-シトルリン(gly-val-cit)とグリシン-glycine-glycine (gly-gly-gly)が含まれる。1つの例示的なペンタペプチドは、グリシン-グリシン-グリシン-グリシン-グリシン(gly-gly-gly-gly-gly)である。いくつかの実施形態において、リンカーは、Val-Cit、Ala-Val、又はPhe-Lys、Val-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Phe-Arg又はTrp-Citのようなジペプチドを含む。Val-CitやPhe-Lysのようなジペプチドを含むリンカーは、例えば米国特許に開示される。No.6,214,345。この開示は、本引用文献全体として、同価活用に適したリンカーに関するものであるから、ここに組み込まれている。いくつかの実施形態において、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選ばれたジペプチドを含む。いくつかの実施例において、リンカは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されたジペプチドを含み、さらにgly-glyまたはgly-gly-gly-gly (SEQ番号: 291)からなる。

【0123】

ここに記載されているCD117の抗生物質および抗原結合フラグメントを可能なトキシック分子に接合するのに適したリンカーは、1,6-除去処理によって可能なトキシンを放出することができるリンカーを含む。この脱離処理が可能な化学部分は、p-アミノベンジル(PAB)基、6-マレイミドヘキサ酸、pH感受性炭酸塩、およびJainら、Pharmに記載されるような他の試薬を含む。研究32:3526-3540, 2015, 2015, それらの開示は、それが同価活用に適したリンカーに関連するので、ここにその全体として参考文献に組み込まれている。

【0124】

いくつかの態様において、リンカーは、例えば、Carlら、J. Medに開示されている、前述のPABまたはPABC (パラ-アミノベンジルオキシカルボニル)などの「自己不溶性」基を含む。Chem. (1981) 24:479-480; Chakravarty et al., (1983) J. Med. Chem. 26:638-644; US Pat.No.6,214,345; 6,218,519; 6,218,519; 6,835,807; 6,268,488; 6,759,509; 6,677,435; 5,621,002; 特許出願公開公表番号。US20030130189; US20030096743; US20040052793; US20040018194; US20040052793; US20040121940; and International Patent Application Publication Nos.W098/13059 および W02004/032828)。このプロセスが可能な他の

そのような化学部分(「自己非揮発性リンカー」)には、メチレンカルバメートおよびアミノチアゾール、アミノイミダゾール、アミノピリミジンなどのヘテロアリアル基が含まれる。このようなヘテロ循環的な自己グループを含むリンカーは、例えば、米国特許公開番号に開示される。20160303254および20150079114、ならびに米国特許第7,754,681号; Hayら(1999) Bioorg. 中央値. Chem. Lett.9:2237; 米国2005/0256030; de Groot et al. (2001) J. Org.Chem. 66:8815-8830; US 7,223,837.いくつかの実施形態において、ジペプチドは、自己不滅リンカーと組み合わせて使用される。

【0125】

いくつかの実施例において、リンカLは、1つ以上のヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、アミノ酸、最大10のアミノ酸からなるペプチド、p-aminobenzyl (PAB)グループ、ヘテロ周期的な自己運動性グループ、C₁-C₁₂ヘテロアルキル、C₁-C₁₂ヘテロアルキル、C₂-C₁₂ヘテロアルキニル、C₂-C₁₂ヘテロアルキニル、C₂-C₁₂ヘテロアルキニル、C₃-C₁₂シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリアル、ヘテロアリアル、a-(C)グループ、a-(O)C(O)NHグループ、-OC(O)NHグループ、a-(CH₂CH₂O)C₁-C₁₂グループ、a-(CH₂CH₂O)C₁-C₁₂グループであり、pが1-12、-(C₁-C₁₂)C₂-C₁₂-又は溶解性強化グループである。

【0126】

ここで、各々のC₁-C₁₂アルキル、C₁-C₁₂ヘテロアルキル、C₂-C₁₂アルケニル、C₂-C₁₂ヘテロアルケニル、C₂-C₁₂ヘテロアルキニル、C₂-C₁₂ヘテロシクロアルキル、C₃-C₁₂ヘテロアルキニル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリアル、またはヘテロアリアル基は、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アルキアリアル、ヘテロアリアル、アルキルヘテロアリアル、アミノ、アンモニウム、アシル、アシルオキシ、アシルアミノカルボニル、アルコキシカルボニル、ウレイド、カルバメート、アリアル、ヘテロアリアル、スルフィニル、スルホニル、ヒドロキシル、アルコキシ、スルファニル、ハロゲン、カルボキシ、トリハロメチル、シアノ、ヒドロキシ、メルカプト、およびニトロからなる群から各々独立して選択される1~5個の置換基で置換される。

【0127】

いくつかの実施形態において、それぞれのC₁-C₁₂アルキル、C₁-C₁₂ヘテロアルキル、C₂-C₁₂アルケニル、C₂-C₁₂ヘテロアルケニル、C₂-C₁₂アルキニル、C₂-C₁₂ヘテロアルキニル、C₃-C₁₂シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリアル、またはヘテロアリアル基は、場合により、O、SおよびNから選択される1つ以上のヘテロ原子によって中断され得る。

【0128】

いくつかの実施形態において、C₁-C₁₂アルキル、C₁-C₁₂アルキル、C₂-C₁₂アルケニル、C₂-C₁₂アルケニル、ヘテロアルケニル、C₂-C₁₂アルキニル、ヘテロアルキル、C₃-C₁₂シクロアルキル、アリアル、またはヘテロアリアル基は、O、Sから選択される1つ以上のヘテロ原子によって任意に中断され、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アルカリアルキル、ヘテロアルキル、アリアル、ヘテロアリアル、アミノ、アシル、アシルオキシ、アシルアミノカルボニル、アミノカルボニル、アルコキシカルボニル、ウレイド、カルバメート、アリアル、ヘテロアリアル、スルホニル、ヒドロキシル、スルホニル、アルコキシ、スルファニル、ハロゲン、カルボキシ、トリハロメチル、シアノ、ヒドロキシ、メルカプト、およびニトロからなる群より独立して選択される1つまたは5つの置換基で任意に置換され得る。

【0129】

当業者は、リストされたグループのうちの1つ以上が、二価(ジラディカル)種、例えばC₁-C₁₂アルキレン等の形で存在することを認識するであろう。

いくつかの実施形態において、リンカーLは、部分*-L₁L₂-**を含む。

L₁がないか-(CH₂)_mNR¹C(=O)-, -(CH₂)_mNR¹-, -(CH₂)_mX₃(CH₂)_mである。

10

20

30

40

50

[化5]

【0130】

L₂が存在しないか、-(CH₂)_m -, -(CH₂)NR¹ C(=O)_m -, -(CH₂)Nm C(=O)X₄、-(CH₂)Nm -(CH₂)C(=O)-(CH₂)_m -(CH₂)_m -(CH₂)_m n -(CH₂)_m -, -(NR¹)(CH₂)X₃ ((CH₂)_m -, -(CH₂)_n -, -NR¹(CH₂)_n (mO)_m X₃ (CH₂)_m -, -X₁ X₂ C(=O)_m -, -(CH₂)_m -(CH₂)_m -(CH₂)_m -, -(CH₂)_m -(O)_m(CH₂)_n、-(CH₂)_m NR¹(_m)_m -, -(CH₂)_m NR¹ C(=O)(CH₂)_m X₃ (CH₂)_m -(CH₂)_m C(=O)NR¹(CH₂)_m NR¹ C(=O)_m C(=O)-, -(_m)_mNR¹ (CH₂)_m C(=O)X₂ X₁C(=O)-, -(CH₂)_m X₃ (CH₂)_mC(=O)X₂ X₁ C(=O)-, -(CH₂)_m C(=O)NR¹(CH₂)_m -, -(CH₂)_m C(=O)NR¹(CH₂)_m X₃ (CH₂)_m CH₂)_mNR¹ C(=O)(CH₂)_m -, -(CH₂)_mX₃ (CH₂)_m C(=O)NR¹ (CH₂)CH₂-, -(CH₂)_m O)_n (CH₂)_mNR¹ C(=O)(CH₂)_m -, -(CH₂)_mC(=O)NR¹ (CH₂)_m (O(CH₂)_m)_n-, -(CH₂)_m (O(CH₂)_m)_nC(=O)-, -(-, -(CH₂)_m X₃ (CH₂)_mNR¹ (CH₂)_m C(=O)-, -(CH₂)_mC(=O)NR¹ (CH₂)_m NR¹ C(=O)-, -(CH₂)_m(O(CH₂)CH₂)_n X₃ (CH₂)_m-, -(CH₂)_m X₃ ((CH₂)_mO)CH₂)_m X₃ (CH₂)_mC(=O)-, -(CH₂)_m C(=O)NR¹ (_m)_mO)_n (CH₂)_m X₃ (CH₂)_m-, -(CH₂)_m X₃ (CH₂)_m(O(CH₂)_m)_n NR¹ C(=O)(CH₂)_m-, -(CH₂)_m X₃ (CH₂)_m(O(CH₂)_m)_n C(=O)-, -(CH₂)_mX₃ (CH₂)_m (O(CH₂)_m)_n-, -(CH₂)_m C(=O)_n (CH₂)_m-, -(CH₂-, -(CH₂)_m C(=O)NR¹ (CH₂)_m(O(CH₂)(=O)NR¹ (CH₂)_m -)_nC(=O)-, -(_m)_m O)_n (CH₂)_mNR¹ C(=O)(CH₂)_m -, -(CH₂)_mC(=O)NR¹ (CH₂)_m C(=O)NR¹ (CH₂)_m-, -(CH₂)_m NR¹ C(=O)(CH₂)_mNR¹ C(=O)(CH₂) -(CH₂)NR¹ (CH₂)_mC(=O))NR¹ -, -(CH₂)_m C(=O)NR¹ -, -(CH₂)_m X₃ -, -C(R¹)₂(CH₂)_m -, -(CH₂)_m C(R¹)₂NR¹ -, -(CH₂)_m C(=O)NR¹ (CH₂)_mNR¹ -, -(CH₂)_m C(=O)NR¹ (CH₂)_mNR¹ C(=O)_m X₃ (CH₂)_mC(=O=O)X₂ X₁ C(=O)-, -C(R¹)₂ (CH₂)_mNR¹ C(=O)(CH₂)_m -, -(CH₂)CH₂mC(R¹)₂ NR¹ -, -C(R¹)₂(CH₂)_m X₃ (CH₂)_m -, -(CH₂)_mX₃ (CH₂)_m C(R¹)₂ NR¹-, NR¹ -, -(CH₂)_m C(NR¹ (CH₂)_m-, -(CH₂)_m NR¹ C(=O)O(CH₂)_mC(R¹)₂ NR¹ -, -(CH₂)_mmmC(=O)NR¹ (CH₂)CH₂)_m X₃(CH₂)_m (O(CH₂)_m)_n NR¹-, -(CH₂)_m NR¹ -C(R¹)₂(CH₂)_m OC(=O)O)NR¹ (CH₂)_m(O(CH₂)_m)X₃ (CH₂)_m NR¹-, -(_m)_m S(=O)₂ -, -(CH₂)_m C(=O)NR¹_n NR¹ -, -(CH₂)_m (CH₂)_nNR¹ -, -(CH₂ CH₂ O)_n (CH₂)_m-, -(CH₂)_m (OCH₂ CH₂)_n;- (CH₂)_m -, -(CH₂)_m C(=)(CH₂)_mS(=O)₂O(_m)O(CH₂)_m -, -(CH₂)-, -(CH₂)_m X₃ (CH₂)_n C(=O)X₂X₁ C(=O(_m S(=O)₂ -, -))_m)_nX₂ X₁ C(-O)-, -, -(CH₂)_m (O(CH₂)_mn X₂ X₁ C(=O)-, -(CH₂)_mX₂ X₁ C(=O) -, -(CH₂)_m (O)(CH₂)_mX₃ (CH₂)_m C(O)-)(CH₂)_mX₃ (CH₂)_m X₂ X₁ C(=O)-, -(CH₂ C(=O)(CH₂)(_m O)(-O)-, -(CH₂)C(=O)-, -(CH₂O)_m X₃ (CH₂)_m C(=O (NR¹ (CH₂)_m C(=O))-, -(CH₂)_mX₃ (CH₂ - または_m X₃ (CH₂)_m (O(CH₂m(O(CH₂)_m)_n C C(=O)-;

10

20

30

(式中、

X₁は

[化6]

【0131】

(式中、

R¹は、HおよびC₁-C₆のアルキルからそれぞれ独立に選択される。

mは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10の各機会ごとに選択される。

nは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 からそれぞれの機会に独立して選択される。

【0132】

単一の星印(*)は細胞毒素への付着点(例:PBD)を示し、二重星印(**)は反応性代名詞Z'
または化学元素Zへの付着点を示し、ただしL₁とL₂の両方が欠けていないことを示している。

いくつかの実施形態において、リンカーLは、-(C=O)-、-C(O)NHgroup、-OC(O)NHgroup、-(CH₂)_p、-(CH₂ CH₂ O)_q - (NHCH₂ CH₂)_u-, -NHCH₂ CH₂ NH-, -N(C

40

50

H₃)CH₂ CH₂NH-,または-N(CH₃)CH₂ CH₂ N(CH₃)-の1つ以上の結合を含む。

【 0 1 3 3 】

いくつかの実施形態において、リンカーは、p-aminobenzyl基(PAB)を含む。ある実施形態では、p-アミノベンジル基は、リンカー内の部位トキシック薬物とプロテアーゼ切断部位の間に処分される。1つの実施形態において、p-アミノベンジル基はp-アミノベンジルオキシカルボニル単位の一部である。一実施の形態では、p-aminobenzyl基は、p-aminobenzylamido単位の一部である。

【 0 1 3 4 】

いくつかの実施形態において、リンカーは、Phe-Lys、Val-Lys、Phe-Ala、Phe-Cit、Val-Ala、Val-Cit、およびVal-Argからなるグループから選ばれたジペプチドを含む。いくつかの実施形態において、リンカーは、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、又はAl

いくつかの実施例において、リンカは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されたジペプチドを含み、さらにgly-glyまたはgly-gly-gly-gly (SEQ番号: 291)からなる。

【 0 1 3 5 】

いくつかの実施例において、リンカーは、ペプチド、オリゴ糖化 $\text{OOI}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})\text{OOF}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_t-$ 、 $-(\text{NHCH}_2\text{CH}_2)_u-$ 、 $-\text{PAB}$ 、 Val-Cit-PAB 、 Val-Ala-PAB 、 Val-Ala-PAB 、 $\text{Val-Lys}(\text{Ac})-\text{PAB}$ 、 Phe-Lys-PAB 、 $\text{Phe-Lys}(\text{Ac})-\text{PAB}$ 、 $\text{Phe-Lys}(\text{Ac})-\text{PAB}$ 、 D-Val-Lys 、 Gly-Lys 、 Gly-Arg 、 Ala-Ala-Asn-PAB 、 Ala-PAB 、 $\text{gly-gly-gly-gly-gly-gly}$ いくつかの実施形態において、リンカーは、 PAB-Ala-Val -または PAB-Cit-Val- 、 $-(\text{C}=\text{O})-$ 、 $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)-$ 、および $-(\text{CH}_2)_p-$ を含む。特に、リンカーは、式(III)で表すことができる。

[化 7]

【 0 1 3 6 】

ここで、 m は1 ～6 の整数です。 m が5であるこのようなリンカーの1つは、PNUにコンジュゲートされ、例えば、Yuら、Clinに開示される。癌研究所21(14), 2015, 2015年、p.3298-3306、その開示は、ここにその全体として参考文献に組み込まれている。

【 0 1 3 7 】

いくつかの実施形態において、リンカーは、PAB-Ala-Val-またはPAB-Cit-Val-, -(C=O)-, -N(CH₃)CH₂CH₂NH-,と、gly-glyとを含む。特に、リンカーは、式(IV)で表すことができる。

[化 8]

【 0 1 3 8 】

いくつかの実施例において、リンカは、PAB-Ala-Val-又はPAB-Cit-Val-, $-(C=O)-$, $-NHCH_2CH_2NH-$, 及びgly-gly-gly-gly (SEQ番号: 291)からなる。特に、リンカは、式(V)で表されてもよい。

[化 9]

公式(IV)および(V)のようなリンカーは、例えばBeerliら、モルに開示される。癌。2017; doi/10.1158/1535-7163.MCT-16-0688、この開示は、ここにその全体として参考文献に組み込まれている。

【 0 1 3 9 】

いくつかの実施形態において、リンカーは、を構成する

[化 1 0]

いくつかの実施形態において、リンカーはMCC (4-[N-maleimidomethyl]シクロヘキサン-1-カルボキシレート)を含む。

【 0 1 4 0 】

本分野の当業者は、本分野で開示される化学グループ、モイティー、および特徴のいずれか1つ以上が、本分野で開示されるように、抗毒素および細胞毒素の活用に有用なリンカ

ーを形成するために、複数の方法で結合することができることを認識するであろう。

【0141】

リンカー-サイトトキシンおよびリンカー-抗体結合

ある種の実施例において、リンカー-細胞毒素共役を形成するための適切な条件下で、リンカーは細胞毒素と反応する。ある種の実施例では、反応性グループが細胞毒素またはリンカー上で、同価な付着を形成するために使用される。

【0142】

幾つかの実施例において、細胞毒素は、式(I)又は式(II)によるPNU誘導体である。その後、細胞毒素リンク剤は、ADCを形成するのに適した条件下で、CD117を結合する、抗原結合の断片、あるいはデリバタイゼーション化された、あるいはそれらの抗原結合断片と反応する。別の方法として、リンカーは、まず、リンカー・ビーズを形成するために、まず、CD117を結合する、抗原結合断片、デリバタイズ化された、および抗原結合された、そして、ADCを形成するために細胞毒素(例えば、PNU誘導体)と反応することができる。このような活用反応については、もう少し詳しく説明しよう。

10

【0143】

リンカーまたは細胞毒素-リンカー複合体の抗体またはその抗原結合フラグメントへの共有結合のために、多数の異なる反応が利用可能である。また、この抗菌分子に対する適切な付着点としては、リジンのアミン群、グルタミン酸・アスパルチン酸の遊離カルボキシル酸群、システインのスルフィドリル群、および芳香族アミノ酸の様々なモイティが挙げられるが、これらに限定されない。例えば、非特異的共有結合は、カルボジイミド反応を用いて、リンカー上のカルボキシ(またはアミノ)基を抗体部分上のアミノ(またはカルボキシ)基に結合させることにより行うことができる。加えて、ジアルデハイドまたはイミドエステルのような二機能性物質もまた、リンカー上のアミノ基を、抗菌上のアミノ基と結びつけるために使用することができる。また、細胞毒素をモイティに付着させることも可能であるが、これはSchiffベースの反応である。この方法は、解凍剤またはリンカーのいずれかにグリコールまたは水酸基の周期性酸化を含み、それによってアルデハイドを形成し、その後、それぞれリンカーまたは反応される。共有結合の形成は、アルデハイドとアミノ塩基の間のSchiff塩基の形成を介して起こる。イソチオシアネートはまた、細胞毒素または抗体部分をリンカーに共有結合するためのカップリング剤として使用される。他の技術は、当業者に知られており、本開示の範囲内である。

20

30

【0144】

本明細書中に記載されるような抗体または抗原結合フラグメントへの結合に有用なリンカーは、限定されるものではないが、抗体上の反応性置換基と、以下の表1に示されるようなリンカー上の反応性化学部分(本明細書中で反応性置換基、Z'と称される)との間のカップリング反応によって形成される化学部分Zを含有するリンカーを含む。波線は、それぞれ抗体または抗原結合フラグメントおよび細胞傷害性分子への結合点を示す。

【0145】

[表1]

【0146】

当業者の1人は、リンカーに付着した反応性代替物Z'と、それに付着した反応性代替物またはそれらの抗原結合フラグメントが、化学物質Zを生成するための同価カップリング反応に従事しており、反応性代替物Z'を認識することを認識するであろう。したがって、本明細書中に記載される方法と組み合わせて有用な抗体-薬物結合体は、本明細書中に記載されるように、リンカーまたは細胞毒素-リンカー結合体と、抗体上の反応性置換基、またはその抗原結合フラグメントとの反応に適した、反応性置換基Z'を含むリンカーまたは細胞毒素-リンカー結合体、またはその抗原結合フラグメントとの反応によって形成されて、化学部分Zを形成し得る。

40

【0147】

表1に示すように、リンカー上の適切に反応性の代替物質Z'およびその抗原結合フラグメントの例には、求核/エレクトロフィルペア(例えば、チオール/ハロアルキルペア、アミ

50

ン/カルボニールペア、またはチオール/非飽和型カルボニールペアなど)、ジエン/ジエンフィルペア(例えば、アジド/アルキンペア、あるいはジエン/非飽和型カルボニールペアなど)などが含まれる。化学部分Zを形成するための反応性置換基間のカップリング反応としては、チオールアルキル化、ヒドロキシアルキル化、アミンアルキル化、アミンまたはヒドロキシアミン縮合、ヒドラジン形成、アミド化、エステル化、ジスルフィド形成、環状付加(例えば、とりわけ、[4+2] Diels-Alder環状付加、[3+2] Huisgen環状付加)、芳香族求核置換、芳香族求電子置換、および本明細書に記載される他の反応様式が挙げられるが、これらに限定されない。幾つかの実施例では、反応性代替物Z'は、反射性官能基を有する抗原結合フラグメントとの反応に適した電気親水性官能基である。

【0148】

本明細書に開示されているように、抗原結合フラグメント、すなわち、抗原結合フラグメントに存在しうる反応性代替物には、(i)N-端子アミン基、(ii)側鎖アミン基、例えばリジン、(iii)側鎖チオール基、例えばシステイン、(iv)糖水酸基又はその抗原がグリコシル化されるアミノ基を含むが、これに限定されない。本明細書に開示されるように、抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在し得る反応性置換基は、限定されるものではないが、セリン、トレオニン、およびチロシン残基のヒドロキシ部分リジン残基のアミノ部分;アスパラギン酸およびグルタミン酸残基のカルボキシル部分ならびにシステイン残基のチオール部分ならびにプロパルギル、アジド、ハロアリール、ハロヘテロアリール(例えば、フルオロヘテロアリール)、ハロアルキル、および非天然アミノ酸のハロヘテロアルキル部分を含む。いくつかの態様において、抗体内に存在する反応性置換基、または本明細書に開示されるその抗原結合フラグメントは、アミンまたはチオール部分を含む。ある種の抗体は還元可能な鎖間ジスルフィド、すなわちシステインブリッジ部を有する。抗体は、DTT(ジチオトレイトール)などの還元剤で処理することによって、リンカー試薬との結合のために反応性にされ得る。このように、システインのブリッジ部はそれぞれ、理論的には二つの反応性のあるチオールヌクレオフィルを形成する。さらに、2-イミノチオラン(Trautの試薬)によるリジンの反応を通して、アミンをチオールに変換させることによって、抗物質に加えた核基を導入することができる。反応性チオール基は、1、2、3、4、またはそれ以上のシステイン残留物(例えば、1つ以上の非ネイティブシステインアミノ酸残留物からなる交配抗物質を調製すること)を導入することによって、その(またはそれらの断片)に導入され得る。米国パットNo.7,521,541は反応性システインアミノ酸の導入による工学的な抗生物質を教えている。

【0149】

いくつかの態様において、リンカーに結合した反応性置換基Z'は、抗体上に存在する求電子性と反応性である求核基である。抗体上の有用な親電子性基は、限定されるものではないが、アルデヒドおよびケトンカルボニル基を含む。求核基(例えば、a)ヘテロ原子は、抗体上の求電子性と反応し、抗体と共有結合を形成することができる。有用な求核基としては、ヒドラジド、オキシム、アミノ、水酸基、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、カルボン酸ヒドラジン、およびアリールヒドラジドが挙げられるが、これらに限定されない。

【0150】

幾つかの実施例において、化学物質Zは、アミン及びチオールモイティのような、抗原結合フラグメント、並びにリンカーに付着した反応性の好電性上記発明Z'との間の反応の産物である。例えば、Z'はマイケル受け入れ子(例えばマレイミド)、活性化エステル、電子欠乏カルボニール複合体、あるいはアルデハイドなどである。

反応性置換基Z'とその結果として得られる化学基Zのいくつかの代表的で限定されない実施例を表2に示した。

【0151】

[表2]

表2. 相補的な反応性置換基や化学部分

【0152】

例えば、リンカー - 抗菌共役とADCの合成に適したリンカーには、マレイミドまたはハロアルキル基のような、リンカーに付着した反応性代替物Z'が限定なく含まれる。これらは、例えば、他Liuら、18:690-697、1979に記載されている、スクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-L-カルボキシレート(SMCC)、Nスクシンイミジルヨードアセテート(SIA)、スルホ-SMCC、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル(MBS)、スルホ-MBS、およびスクシンイミジルヨードアセテートなどの試薬によってリンカーに結合されてもよく、これらの開示は、化学的結合のためのリンカーに関連するので、参照により本明細書に組み込まれる。

【0153】

いくつかの実施形態において、Z'は、 $-NR^1C(=O)CH=CH_2$ 、 $-N_3$ 、 $-SH$ 、 $-S(=O)_2(CH=CH_2)$ 、 $-(CH_2)_2S(=O)_2(CH=CH_2)$ 、 $-NR^1S(=O)_2(CH=CH_2)$ 、 $-NR^1C(=O)CH_2R^2$ 、 $-NR^1C(=O)CH_2Br$ 、 $-NR^1C(=O)CH_2I$ 、 $-NHC(=O)CH_2Br$ 、 $-NHC(=O)CH_2I$ 、 $-ONH$ 、 $-C(O)NHNH_2$ 、 $-CO_2H$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH(C=O)$ 、 $-NC(=S)$ 、

【化11】

【0154】

(式中、

R¹は、HおよびC₁-C₆のアルキルからそれぞれ独立に選択される。

R²が-S(CH₂)_nCHR³NHC(=O)R¹;

R³がR¹または-C(=O)OR¹;

R⁴は、H、C₁-C₆ Alk、F、Cl、および-OH からそれぞれ個別に選択される。

R⁵は、H、C₁-C₆ alkyl、F、Cl、-NH₂、-OCH₃、-OCH₂CH₃、-N(CH₃)₂、-CN、-NO₂、-OHからそれぞれ独立に選択される。

【0155】

R⁶は、H、-C(=O)OHで置換されたC₁-C₆Alk、F、ベンジロキシ、-C(=O)OHで置換されたベンジル、-C(=O)OHで置換されたC₁-C₄アルコキシ基、-C(=O)OHで置換されたC₁-C₄アルコキシ基から、それぞれ個別に選択される。

【0156】

いくつかの実施例では、リンカーLに付着する反応性代替物Z'はマレイミド、アジドまたはアルキンである。マレイミドを含むリンカーの実施例は、非開けられないマレイミドカプロイルベースリンカーであり、これは、アウリスタチンのような微小管破壊剤の活用に特に有用である。そのようなリンカーは、Doroninaら、Bioconjugate Chem. 17:14-24、2006により記載されており、その開示は、化学的結合のためのリンカーに関連するものとして、参照により本明細書に組み込まれる。

【0157】

いくつかの実施例において、反応性代替物Z'は、-(C=O)又は-NH(C=O)-であり、このようなことから、リンカーは、それぞれ、アミドまたは尿素不安によって、上記リンカーを、抗原結合フラグメントに結合することができる。これは、それらの-(C=O)又は-NH(C=O)グループが、それらの抗原結合フラグメントのアミノ基を有する反応の結果である(C=O)又は-NH(C=O)グループである。

【0158】

いくつかの実施形態において、反応性置換基Z'は、N-マレイミジル基、ハロゲン化N-アルキルアミド基、スルホニルオキシN-アルキルアミド基、カーボネート基、スルホニルハライド基、チオール基またはその誘導体、内部炭素-炭素三重結合を含むアルキニル基、(ヘテロ)シクロアルキニル基、(ヘテロ)シクロアルケニル基、(6.1.0]非-4-イン-9-イル基、内部炭素-炭素二重結合を含むアルケニル基、シクロアルケニル基、テトラジニル基、アジド基、ホスフィン基、ニトロノキシド基、ニトロニイミン基、ニトリルイミン基、ジアゾ基、ケトン基、(O-アルキル)ヒドロキシルアミノ基、ヒドラジン基、ハロゲン化N-マレイミジル基、1,1-ビス(スルホニルメチル)メチルカルボニル基またはその脱離誘導体、ハロゲン化カルボニル基、またはアレナミド基であり、いくつかの態様において、反応性副成分は、シクロアルケン基、シクロアルキン基、または置換されていてもよ

10

20

30

40

50

い(ヘテロ)シクロアルキニル基を含む。

【0159】

いくつかの実施形態において、化学物質Zは表1から選択される。いくつかの実施形態において、化学物質Zは、以下のとおりである。

[化12]

【0160】

ここで、Sは、ヒトの幹細胞またはT細胞の細胞表面上で表現される抗原(例えば、システイン残基の-SHグループからの)に特別に結合する、抗原結合フラグメント、すなわち、抗原内に存在する反応性代替物を表す硫黄原子である。

【0161】

いくつかの実施形態において、細胞毒素は構造式(I)に代表されるPNU誘導体であり、リンカーは、ハイドロキシメタル酸素を介して付着する。このような実施形態では、ADCを式(VI)で表すことができる。

[化13]

【0162】

ここに記載されているように、L、Z、およびAbがそれぞれである。

いくつかの実施形態において、細胞毒素は、構造式(II)に代表されるPNU誘導体であり、リンカーは、C13カルボニールのアミドグループを介して付着する。このような実施形態では、ADCを式(7)で表すことができる。

【0163】

[化14]

【0164】

ここでは、L、Z、およびAbの各々について説明する。

幾つかの実施例において、式(VI)又は(VII)のADCのリンカーLは、クリーナブルリンカーである。幾つかの実施例において、クレーパブルリンカーLは、次のうちの1つを含む。

[化15]

【0165】

いくつかの実施形態において、Cy-LとしてまとめられたPNU-linker活用形は、以下のいずれかで表されることができる。

[化16]

【0166】

ウェーブラインは、化学物質Zへの結合点を示し、それゆえ、Ab抗原(Ab)を示す。

【0167】

抗体-薬物結合体の調製

式(VI)または(VII)のADCのような、本明細書に開示される式 $Ab-(Z-L-Cy)_n$ のADCにおいて、抗CD117抗体またはその抗原結合フラグメント(Ab)は、本明細書に開示されるようなリンカーLおよび化学部分Zを介して、1つ以上の細胞傷害性薬物部分(Cy;例えば、PNU誘導体)、例えば、抗体あたり約1~約20個の細胞傷害性部分にコンジュゲートされる。どのような数の細胞毒素でも、例えば、1、2、3、4、5、6、7、または8の抗CD117抗毒素と結合することができる。いくつかの実施形態において、nは1から4である。いくつかの実施形態において、nは2である。

【0168】

本開示のADCは、本技術者に知られている有機化学反応、条件、及び試薬を用いて、いくつかの経路によって作成され得る。例えば、(1)上記に記載されているように、Ab-Z-Lを形成するための二価リンカー試薬を用いて、Ab-Z-Lを形成するための反応性の代替物又はその抗原結合フラグメントを反応させ、それに続いて、(2)Cy-L-Z'を形成するための二価リンカー試薬を用いて、サイトトキシクな代替物を反応させ、続いて、本項に記載されているように、 $Ab-(Z-L-Cy)_n$ のADCを形成するための反応性の代替物又は抗原結合フラグメントを反応させる。ADCを作成するための追加の方法をここに述べる。

【0169】

10

20

30

40

50

一実施の形態では、それらの抗原結合フラグメントは、1つ以上のスルフハイドリル基を有するように化学的に改変することができる1つ以上の炭水化物グループを有することができる。次いで、ADCは、本明細書中上記のように、スルフハイドリル基の硫黄原子を通る共役によって形成される。

【0170】

別の実施形態では、本抗体は、アルデハイド(-CHO)グループを提供するために酸化することができる1つ以上の炭水化物グループを有することができる(例えば、Laguzza, et al., J. Med. Chem. 1989, 32(3), 548-55を参照)。次いで、ADCは、本明細書中上記のように、対応するアルデヒドを通る共役によって形成される。細胞毒素の付着または結合のためのタンパク質の改変のための他のプロトコールはColiganら、現在のタンパク質サイエンスのプロトコール、volに記載されている。2, John Wiley & Sons (2002)は、ここに参考文献として含んでいる。

10

【0171】

例えば、米国特許には、電池を標的としたタンパク質(例えば、抗物質、イムグロブリン、又はそのフラグメント)へのリンカードラッグ・モイティの活用法が発見されている。No.5,208,020;米国特許。No. 6,441,163; WO2005037992; WO2005081711; およびWO2006/034488は、これらすべてを引用文献全体に明示的に組み入れたものである。

【0172】

別の方法として、例えば、組換え技術またはペプチド合成により、抗菌剤とサイトトキシン剤からなる融合タンパク質を作ることができる。DNAの長さは、結合体の2つの部分をコードするそれぞれの領域を、互いに隣接するか、または結合体の所望の特性を破壊しないリンカーペプチドをコードする領域によって分離されてもよい。

20

【0173】

抗CD117抗体

本明細書に開示される抗CD117 ADC組成及び方法は、ターゲット組織内の細胞集団(例えば、骨髓細胞ニッチの血液細胞)へのそうしたADCの選択的な送達を容易にする剤を含んでいる。

【0174】

特定の実施形態では、本明細書に記載のADCにおける抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒトCD117に対するある解離速度を有し、これは、コンジュゲートの一部として使用される場合に特に有利である。例えば、抗CD117抗体は、特定の実施形態では、生物層干渉法(BLI)によって測定されるように、 $1 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10^{-3}$ 、 $1 \times 10^{-3} \sim 1 \times 10^{-4}$ 、 $1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-6}$ 、 $1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-7}$ または $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-8}$ のヒトCD117および/またはアカゲザルCD117のオフレート速度(Koff)を有する。幾つかの実施例において、ヒトCD117及び/又はレサスCD117)は、約100 nM以下、約90 nM以下、約80 nM以下、約70 nM以下、約60 nM以下、約50 nM以下、約40 nM以下、約30 nM以下、約20 nM以下、約10 nM以下、約8 nM以下、約6 nM以下、約4 nM以下、約2 nM以下、約1 nM以下、Bio-Layer Interferometry (BLI)アッセイにより判定された約1 nM以下の K_D で細胞表面抗原を結合する。

30

40

【0175】

一実施の形態では、本開示は、抗物質からなるADCと、GNK+ CD117のようなCD117に特に結合する抗原結合フラグメントを含む。このようなADCは、例えば、(i)CD117+細胞を特徴とするがんや自己感染症の治療、(ii)移植治療を必要とする患者における移植血液細胞の移植を促進するための治療剤として使用することができる。これらの治療活性は、例えば、癌細胞、自己免疫細胞、または造血幹細胞のような細胞の表面上に発現されるCD117(例えば、GNNK+ CD117)に結合し、続いて細胞死を誘導する、単離された抗CD117抗体、その抗原結合フラグメントの結合によって引き起こされ得る。内因性造血幹細胞の枯渇は、移植された造血幹細胞が帰宅できるニッチを提供し、続いて、生産的造血を確立することができる。このように、移植された血液細胞は、ここに記載された幹

50

細胞障害に苦しむ人間のような患者において、接ぎ木に成功する可能性がある。

【0176】

ヒトCD117(c-Kit、mRNA NCBI参照配列 NM_000222.2、タンパク質BINC参照配列: NP_000213.1とも呼ばれる)に結合することができる抗体および抗原結合フラグメント(GNNK+ CD117に結合することができるものを含む)は、造血幹細胞移植治療のために患者をコンディショニングするために、本明細書に記載の組成物および方法と併せて使用することができる。集団のかなりの割合でCD117のコーディング領域または細胞外ドメインに影響を及ぼす多型は、現在、非腫瘍学的表示ではよく知られていない。CD117には少なくとも4つのアイソフォームが同定されており、腫瘍細胞に発現するさらなるアイソフォームの可能性がある。CD117アイソフォームのうち2つは蛋白質の細胞内ドメインに位置し、2つは外部傍膜領域に存在する。2つの細胞外アイソフォーム、GNNK+とGNNK-は、4アミノ酸配列の存在(GNNK+)または非存在(GNNK-)が異なる。これらの同質体はリガンド(SCF)と同じ親和性を持つと報告されているが、GNNKisoformに結合するリガンドは内部化と劣化を増加させると報告されている。GNNK+アイソフォームは、このアイソフォームに対して生成された抗体がGNNK+およびGNNKタンパク質を包含するので、CD117に結合することができる抗体を生成するための免疫原として使用することができる。ヒトCD117アイソフォーム1と2のアミノ酸配列は、SEQ ID No:145と146に記載されている。特定の実施例において、本明細書に開示されている抗ヒトCD117(hCD117)抗生物質は、ヒトCD117の同質1と同質2の両方に結合することができる。

10

20

【0177】

以下に述べるように、診断および治療用途の新規な抗CD117抗生物質およびそれらの断片を同定するために、ヒト抗生物質の酵母ライブラリー画面を実施した。抗体54(Ab54)、抗体55(Ab55)、抗体56(Ab56)、抗体57(Ab57)、抗体58(Ab58)、抗体61(Ab61)、抗体66(Ab66)、抗体67(Ab67)、抗体68(Ab68)、および抗体69(Ab69)は、このスクリーニングで同定されたヒト抗体であった。これらの抗体は、ヒトCD117およびアカゲザルCD117と交差反応する。さらに、本明細書に開示されているこれらの抗生物質は、ヒトCD117の同質体、すなわち、イソフォーム1(SEQ ID NO: 145)とイソフォーム2(SEQ ID NO: 146)の両方に結合することができる。

【0178】

Ab54、Ab55、Ab56、Ab57、Ab58、Ab61、Ab66、Ab67、Ab68、およびAb69を含む、抗CD117抗体の様々な結合領域のためのアミノ酸配列は、以下の配列表に記載される。本開示には、以下の配列表に記載されるCDRを含むヒト抗CD117、並びに以下の配列表に記載される様々な領域を含むヒト抗CD117を含むADCが含まれる。

30

【0179】

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えば、CDR、Antibody 55のものに対応する可変領域を含む、アンチCD117 binding region、又はその抗原結合フラグメントからなるADCを提供する。Antibody 55(すなわちAb55)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 19(順序表参照)に示されている。抗体55のVH CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号21(VH CDR1);配列番号22(VH CDR2)、および配列番号23(VH CDR3)に記載される。アンティボディ55の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 20(順序表参照)に記載されている。抗体55のVL CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号24(VL CDR1);配列番号25(VL CDR2)、および配列番号26(VL CDR3)に記載される。アンティボディ55の重鎖定常領域は、SEQ ID No:122に示されている。アンティボディ55の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:121に示されている。したがって、特定の実施例においては、抗CD117の、又はその抗原結合部は、SEQ ID No:21、22及び23に記載されている可変重鎖CDR設定(CDR1、CDR2及びCDR3)と、SEQ ID No:24、25及び26に記載されている軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 20に記載されたアミノ酸残基を含む可変軽鎖と、SEQ ID NO: 19に記載された重鎖可変領域を含む。

40

50

【0180】

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えば、CDR、Antibody 54のものに対応する可変領域を含む、アンチCD117 binding region、又はその抗原結合フラグメントからなるADCを提供する。Antibody 54(すなわちAb54)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 29(順序表参照)に示されている。アンチボディ54のVH CDRドメインアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 31(VH CDR1)、SEQ ID NO: 32(VH CDR2)、SEQ ID NO: 33(VH CDR3)に記載されている。アンチボディ54の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 30(順序表参照)に記載されている。抗体54のVL CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号34(VL CDR1);配列番号35(VL CDR2)、および配列番号36(VL CDR3)に記載される。Antibody 54の鎖定常領域は、SEQ ID No:122に記載されている。アンチボディ54の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:121に示されている。したがって、特定の実施例においては、抗CD117の、又はその抗原結合部は、SEQ ID No:31、32及び33に規定される可変重鎖CDRセット(CDR1、CDR2及びCDR3)と、SEQ ID No:34、35及び36に規定される軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、問番号: 30に記載されたアミノ酸残基を含む可変軽鎖と、問番号: 29に記載された重鎖可変領域を含む。

10

【0181】

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えば、CDR、Antibody 56のものに対応する可変領域を含む、アンチCD117 binding region、又はその抗原結合フラグメントからなるADCを提供する。Antibody 56(すなわちAb56)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列は、SEQ ID No:39(順序表参照)に示されている。抗体56のVH CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号41(VH CDR1);配列番号42(VH CDR2)、および配列番号43(VH CDR3)に記載される。アンチボディ56の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 40(順序表参照)に記載されている。抗体56のVL CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号44(VL CDR1);配列番号45(VL CDR2)、および配列番号46(VL CDR3)に記載される。Antibody 56の鎖定常領域は、SEQ ID No:122に示されている。アンチボディ56の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:121に示されている。したがって、特定の実施例においては、抗CD117型、すなわちその抗原結合部は、SEQ ID No:41、42、43に規定される可変重鎖CDRセット(CDR1、CDR2、CDR3)と、SEQ ID No:44、45及び46に規定される軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、問番号: 40に記載されたアミノ酸残基を含む可変軽鎖と、問番号: 39に記載された重鎖可変領域を含んでいる。

20

30

【0182】

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117の、或いはその抗原結合フラグメントであり、結合領域、例えばCDR、アンチボディ57のそれらに対応する様々な領域からなるADCを提供する。Antibody 57(すなわちAb57)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 49(順序表参照)に示されている。抗体57のVH CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号51(VH CDR1);配列番号52(VH CDR2)、および配列番号53(VH CDR3)に記載される。アンチボディ57の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 50(順序表参照)に記載されている。抗体57のVL CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号54(VL CDR1);配列番号55(VL CDR2)、および配列番号56(VL CDR3)に記載される。アンチボディ57の鎖定常領域は、SEQ ID No:122に示されている。アンチボディ57の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:121に示されている。したがって、特定の実施例では、抗CD117の、又はその抗原結合部は、SEQ ID No:51、52、53に記載されている可変重鎖CDRセット(CDR1、CDR2、CDR3)と、SEQ ID No:54、55、56に記載されている軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 50に記載されたアミノ酸残基を含む可変軽鎖と、SEQ ID NO: 49に記載された重鎖可変領域を含む。

40

【0183】

50

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えば、CDR、アンチボディ58のものに対応する可変領域から成るアンチCD117 binding region、又はその抗原結合フラグメントからなるADCを提供する。Antibody 58(すなわちAb58)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 59(順序表参照)に示されている。抗体58のVH CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号61(VH CDR1);配列番号62(VH CDR2)、および配列番号63(VH CDR3)に記載される。アンティボディ58の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 60(順序表参照)に記載されている。抗体58のVL CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号64(VL CDR1);配列番号65(VL CDR2)、および配列番号66(VL CDR3)に記載される。アンティボディ58の鎖定常領域は、SEQ ID No:122に示されている。アンティボディ58の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:121に示されている。したがって、特定の実施例においては、抗CD117の、又はその抗原結合部は、SEQ ID No:61、62及び63に記載されている可変重鎖CDRセット(CDR1、CDR2及びCDR3)と、SEQ ID No:64、65及び66に記載されている軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 60に記載されたアミノ酸残基からなる可変軽鎖と、SEQ ID NO: 59に記載された重鎖可変領域からなる。

10

【0184】

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えば、CDR、Antibody 61のものに対応する可変領域を含む、アンチCD117 binding region、又はその抗原結合フラグメントからなるADCを提供する。Antibody 61(すなわちAb61)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列は、SEQ ID No:69(順序表参照)に示されている。アンチボディ61のVH CDRドメインアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 71(VH CDR1)、SEQ ID NO: 72(VH CDR2)、SEQ ID NO: 73(VH CDR3)に記載されている。Antibody 61の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 70(順序表参照)に記載されている。抗体61のVL CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号74(VL CDR1);配列番号75(VL CDR2)、および配列番号76(VL CDR3)に記載される。Antibody 61の鎖定常領域は、SEQ ID No:122に記載されている。アンティボディ61の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:121に示されている。したがって、特定の実施例においては、抗CD117型、すなわちその抗原結合部は、SEQ ID No:71、72、73に規定される可変重鎖CDRセット(CDR1、CDR2、およびCDR3)と、SEQ ID No:74、75および76に規定される軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、問番号: 70に記載されたアミノ酸残基からなる可変軽鎖と、問番号: 69に記載された重鎖可変領域を含む。

20

30

【0185】

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えば、CDR、アンチボディ66に対応する可変領域からなるADC、又はその抗原結合フラグメントを提供する。Antibody 66(すなわちAb66)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列は、SEQ ID No: 79(順序表参照)に示されている。アンチボディ66のVH CDRドメインアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 81(VH CDR1)、SEQ ID NO: 82(VH CDR2)、SEQ ID NO: 83(VH CDR3)に記載されている。Antibody 66の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 80(順序表参照)に記載されている。アンチボディ66のVL CDRドメインアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 84(VL CDR1)、SEQ ID NO: 85(VL CDR2)、SEQ ID NO: 86(VL CDR3)に記載されている。アンティボディ66の鎖定常領域は、SEQ ID No:122に示されている。アンティボディ66の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:121に示されている。したがって、特定の実施例では、抗CD117の、又はその抗原結合部は、SEQ ID No:81、82、83に記載されている可変重鎖CDR設定(CDR1、CDR2及びCDR3)と、SEQ ID No:84、85及び86に記載されている軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117(又はその抗原結合部)は、SEQ ID NO: 80に記載されたアミノ酸残基からなる可変軽鎖と、SEQ ID NO: 79に記載された重鎖可変領域からなる。

40

【0186】

50

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えば、CDR、Antibody 67に対応する可変領域を含む、アンチCD117 binding region、又はその抗原結合フラグメントからなるADCを提供する。Antibody 67の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 9(順序表参照)に示されている。抗体67のVH CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号11(VH CDR1);配列番号12(VH CDR2)、および配列番号13(VH CDR3)に記載される。Antibody 67の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 10(順序表参照)に記載されている。抗体67のVL CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号14(VL CDR1);配列番号15(VL CDR2)、および配列番号16(VL CDR3)に記載される。アンティボディ67の全長ヘビーチェーン(HC)はSEQ ID NO: 110に、アンティボディ67の全長鎖定常領域SEQ ID NO: 122に記載されている。

10

【0187】

アンティボディ67のL鎖(LC)はSEQ ID No:109に記載されています。アンティボディ67の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:121に示されている。したがって、特定の実施例においては、抗CD117(又はその抗原結合部)は、SEQ ID No:11,12,13に記載されている可変重鎖CDRセット(CDR1, CDR2, CDR3)と、SEQ ID No:14,15,16に記載されている軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、問番号:9に記載されたアミノ酸残基を含む可変重鎖と、問番号:10に記載された重鎖可変領域を含む。更なる実施の形態では、抗CD117抗菌株は、SEQ ID NO: 110からなる重鎖と、SEQ ID NO: 109からなるL鎖からなる。

【0188】

20

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えば、CDR、Antibody 68のものに対応する可変領域を含む、アンチCD117 binding region、又はその抗原結合フラグメントからなるADCを提供する。Antibody 68(すなわちAb68)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 89(順序表参照)に示されている。抗体68のVH CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号91(VH CDR1);配列番号92(VH CDR2)、および配列番号93(VH CDR3)に記載される。アンティボディ68の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 90(順序表参照)に記載されている。抗体68のVL CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号94(VL CDR1);配列番号95(VL CDR2)、および配列番号96(VL CDR3)に記載される。アンティボディ68の鎖定常領域は、SEQ ID No:122に示されている。アンティボディ68の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:121に示されている。したがって、特定の実施例において、抗CD117の、又はその抗原結合部は、SEQ ID No:91,92,93に記載されている可変重鎖CDRセット(CDR1, CDR2, CDR3)と、SEQ ID No:94,95,96に記載されている軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 90に記載されたアミノ酸残基を含む可変軽鎖と、SEQ ID NO: 89に記載された重鎖可変領域を含む。

30

【0189】

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えば、CDR、Antibody 69に対応する可変領域を含む、アンチCD117 binding region、又はその抗原結合フラグメントからなるADCを提供する。Antibody 69(すなわちAb69)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列はSEQ ID No:99(順序表参照)に示されている。抗体69のVH CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号101(VH CDR1);配列番号102(VH CDR2)、および配列番号103(VH CDR3)に記載される。アンティボディ69の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 100(順序表参照)に記載されている。抗体69のVL CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号104(VL CDR1);配列番号105(VL CDR2)、および配列番号106(VL CDR3)に記載される。Antibody 69の鎖定常領域は、SEQ ID No:122に記載されている。アンティボディ69の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:121に示されている。したがって、特定の実施例において、抗CD117の、又はその抗原結合部は、SEQ ID No:101,102,103に記載されている可変重鎖CDRセット(CDR1, CDR2, CDR3)と、SEQ ID No:104,105,106に記載されている軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 100に記載された

40

50

アミノ酸残基を含む可変軽鎖と、SEQ ID NO: 99に記載された重鎖可変領域を含む。

【0190】

さらに、抗CD117抗体Ab77、Ab79、Ab81、Ab85、Ab86、Ab87、Ab88、およびAb89の種々の結合領域のアミノ酸配列を以下に示す配列表に記載する。これらの配列を有する反CD117抗菌は、本書に記載されているADCにおいても使用することができる。

【0191】

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117の領域、すなわち、CDR、アンチボディ77の領域に対応する可変領域からなる抗CD117の断片、又はその抗原結合フラグメントを含むADCを提供する。Antibody 77(すなわちAb77)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 147(順序表参照)に示されている。抗体77のVH CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号263(VH CDR1);配列番号2(VH CDR2)、および配列番号3(VH CDR3)に記載される。アンチボディ77の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 231(順序表参照)に記載されている。アンチボディ77のVL CDRドメインアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 264(VL CDR1)、SEQ ID NO: 265(VL CDR2)、SEQ ID NO: 266(VL CDR3)に記載されています。アンチボディ77の鎖定常領域は、SEQ ID No: 269に示されている。アンチボディ77の軽鎖定常領域は、SEQ ID No: 283に示されている。したがって、特定の実施例において、抗CD117の、又はその抗原結合部は、SEQ ID No: 263、2及び3に記載されている可変重鎖CDRセット(CDR1、CDR2及びCDR3)と、SEQ ID No: 264、265及び266に記載されている軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 231に記載されたアミノ酸残基を含む可変軽鎖と、SEQ ID NO: 147に記載された重鎖可変領域を含む。

【0192】

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えば、CDR、Antibody 79のものに対応する可変領域を含む、アンチCD117 binding region、又はその抗原結合フラグメントからなるADCを提供する。Antibody 79(すなわちAb79)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 147(順序表参照)に示されている。アンチボディ79のVH CDRドメインアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 263(VH CDR1)、SEQ ID NO: 2(VH CDR2)、SEQ ID NO: 3(VH CDR3)に記載されている。アンチボディ79の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 233(順序表参照)に記載されている。アンチボディ79のVL CDRドメインアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 267(VL CDR1)、SEQ ID NO: 265(VL CDR2)、SEQ ID NO: 266(VL CDR3)に記載されています。アンチボディ79の鎖定常領域は、SEQ ID No: 269に示されている。アンチボディ79の軽鎖定常領域は、SEQ ID No: 283に示されている。したがって、特定の実施例において、抗CD117の、又はその抗原結合部は、SEQ ID No: 263、2及び3に記載されている可変重鎖CDR設定(CDR1、CDR2及びCDR3)と、SEQ ID No: 267、265及び266に記載されている軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 233に記載されたアミノ酸残基からなる可変軽鎖と、SEQ ID NO: 147に記載された重鎖可変領域からなる。

【0193】

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えば、CDR、アンチボディ81のものに対応する可変領域から成るアンチCD117 binding region、又はその抗原結合フラグメントからなるADCを提供する。Antibody 81(すなわちAb81)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 147(順序表参照)に示されている。アンチボディ81のVH CDRドメインアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 263(VH CDR1)、SEQ ID NO: 2(VH CDR2)、SEQ ID NO: 3(VH CDR3)に記載されている。アンチボディ81の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 235(順序表参照)に記載されている。アンチボディ81のVL CDRドメインアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 264(VL CDR1)、SEQ ID NO: 268(VL CDR2)、SEQ ID NO: 266(VL CDR3)に記載されている。アンチボディ81の鎖定常領域は、SEQ ID No: 269に示されている。アン

ティボディ81の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:283に示されている。したがって、特定の実施例において、抗CD117の、又はその抗原結合部は、SEQ ID No:263、2及び3に記載されている可変重鎖CDRセット(CDR1、CDR2及びCDR3)と、SEQ ID No:264、268及び266に記載されている軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 235に記載されたアミノ酸残基からなる可変軽鎖と、SEQ ID NO: 147に記載された重鎖可変領域からなる。

【0194】

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えば、CDR、Antibody 85のものに対応する可変領域を含む、アンチCD117 binding region、又はその抗原結合フラグメントからなるADCを提供する。Antibody 85(すなわちAb86)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 243(順序表参照)に示されている。抗体85のVH CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号245(VH CDR1);配列番号246(VH CDR2)、および配列番号247(VH CDR3)に記載される。アンティボディ85の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 242(順序表参照)に記載されている。抗体85のVL CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号248(VL CDR1);配列番号249(VL CDR2)、および配列番号250(VL CDR3)に記載される。アンティボディ85の鎖定常領域は、SEQ ID No:269に示されている。アンティボディ85の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:283に示されている。したがって、特定の実施例において、反CD117の、又はその抗原結合部は、SEQ ID No:245、246及び247に記載されている可変重鎖CDRセット(CDR1、CDR2及びCDR3)と、SEQ ID No:248、249及び250に記載されている軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 244に記載されたアミノ酸残基を含む可変軽鎖と、SEQ ID NO: 243に記載された重鎖可変領域を含む。

【0195】

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えばCDR、Antibody 86に対応する可変領域からなるADC、又はその抗原結合フラグメントを提供する。Antibody 86(すなわちAb86)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 251(順序表参照)に示されている。抗体86のVH CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号245(VH CDR1);配列番号253(VH CDR2)、および配列番号3(VH CDR3)に記載される。アンティボディ86の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 252(順序表参照)に記載されている。アンチボディ86のVL CDRドメインアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 254(VL CDR1)、SEQ ID NO: 249(VL CDR2)、SEQ ID NO: 255(VL CDR3)に記載されています。アンティボディ86の鎖定常領域は、SEQ ID No:269に示されている。アンティボディ86の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:283に示されている。したがって、特定の実施例では、抗CD117の、又はその抗原結合部は、SEQ ID No:245、253及び3に規定される可変重鎖CDRセット(CDR1、CDR2及びCDR3)と、SEQ ID No:254、249及び255に規定される軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 252に記載されたアミノ酸残基を含む可変軽鎖と、SEQ ID NO: 251に記載された重鎖可変領域を含む。

【0196】

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えばCDR、Antibody 87に対応する可変領域からなるADC、又はその抗原結合フラグメントを提供する。Antibody 87(すなわちAb87)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 243(順序表参照)に示されている。抗体87のVH CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号245(VH CDR1);配列番号246(VH CDR2)、および配列番号247(VH CDR3)に記載される。アンティボディ87の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 256(順序表参照)に記載されている。アンチボディ87のVL CDRドメインアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 257(VL CDR1)、SEQ ID NO: 5(VL CDR2)、SEQ ID NO: 255(VL CDR3)に記載されています。アンティボディ87の鎖定常領域は、SEQ ID No:269に示されている。アンティボディ87の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:283に示されている。したがっ

て、特定の実施例において、抗CD117の、又はその抗原結合部は、SEQ ID No:245、246及び247に記載されている可変重鎖CDRセット(CDR1、CDR2及びCDR3)と、SEQ ID No:257、5及び255に記載されている軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 256に記載されたアミノ酸残基からなる可変軽鎖と、SEQ ID NO: 243に記載された重鎖可変領域からなる。

【0197】

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えば、CDR、アンチボディ88のものに対応する可変領域からなるADC、又はその抗原結合フラグメントを提供する。Antibody 88(すなわちAb88)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列はSEQ ID NO: 258(順序表参照)に示されている。抗体88のVH CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号245(VH CDR1);配列番号259(VH CDR2)、および配列番号3(VH CDR3)に記載される。アンチボディ88の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 256(順序表参照)に記載されている。アンチボディ88のVL CDRドメインアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 257(VL CDR1)、SEQ ID NO: 5(VL CDR2)、SEQ ID NO: 255(VL CDR3)に記載されています。アンチボディ88の鎖定常領域は、SEQ ID No:269に示されている。アンチボディ88の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:283に示されている。したがって、特定の実施形態において、抗CD117抗体またはその抗原結合部分は、配列ID番号: 245、259、および3に記載の可変重鎖CDR設定(CDR1、CDR2、およびCDR3)、ならびに配列ID番号: 257、5、および255に記載の軽鎖可変領域CDRを含む。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 256に記載されたアミノ酸残基からなる可変軽鎖と、SEQ ID NO: 258に記載された重鎖可変領域からなる。

【0198】

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えば、CDR、Antibody 89に対応する可変領域を含む、アンチCD117 binding region、又はその抗原結合フラグメントからなるADCを提供する。Antibody 89(すなわちAb89)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列はSEQ ID NO: 260(順序表参照)に示されている。抗体89のVH CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号245(VH CDR1);配列番号2(VH CDR2)、および配列番号3(VH CDR3)に記載される。アンチボディ89の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 252(順序表参照)に記載されている。アンチボディ89のVL CDRドメインアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 254(VL CDR1)、SEQ ID NO: 249(VL CDR2)、SEQ ID NO: 255(VL CDR3)に記載されています。アンチボディ89の鎖定常領域は、SEQ ID No:269に示されている。アンチボディ89の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:283に示されている。したがって、特定の実施例において、抗CD117の、又はその抗原結合部は、SEQ ID No:245,2,3に規定される可変重鎖CDR設定(CDR1, CDR2, CDR3)と、SEQ ID No:254,249,255に規定される軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 252に記載されたアミノ酸残基を含む可変軽鎖と、SEQ ID NO: 260に記載された重鎖可変領域を含む。

【0199】

一実施の形態では、本開示は、アンチCD117 binding region、例えばCDR、Antibody 249に対応する可変領域からなるADC、又はその抗原結合フラグメントを提供する。Antibody 249(すなわちAb249)の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 238(順序表参照)に示されている。抗体249のVH CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号286(VH CDR1);配列番号2(VH CDR2)、および配列番号287(VH CDR3)に記載される。アンチボディ249の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 242(順序表参照)に記載されている。抗体249のVL CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号288(VL CDR1);配列番号249(VL CDR2)、および配列番号289(VL CDR3)に記載される。アンチボディ249の鎖定常領域は、SEQ ID No:269に示されている。アンチボディ249の軽鎖定常領域は、SEQ ID No:283に示されている。したがって、特定

の実施例では、抗CD117の、又はその抗原結合部は、SEQ ID No:286、2、287に記載されている可変重鎖CDRセット(CDR1、CDR2及びCDR3)と、SEQ ID No:288、249及び289に記載されている軽鎖可変領域CDRからなる。他の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 242に記載されたアミノ酸残基を含む可変軽鎖と、SEQ ID NO: 238に記載された重鎖可変領域を含む。

【0200】

さらに、本開示には、SEQ ID No:147~168に規定される結合領域(重および軽鎖CDRまたは可変領域)から成る抗CD117薬物コンジゲート(ADC)が含まれる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 147のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 148のアミノ酸配列に示されているよう

10

【0201】

一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 147のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 152のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 147のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 153のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 147のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 154のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。

20

【0202】

一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 147のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 155のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO:147のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 156のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 147のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 157のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 147のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 158のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 147のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 159のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。

30

40

【0203】

一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 147のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 160のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 147のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 161のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 147のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 162のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。

50

10

20

30

40

50

一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 178のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 179のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 180のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 181のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 172のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 182のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 183のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 184のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 185のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 186のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。

50

一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 187のアミノ酸配列に示されるような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 188のアミノ酸配列に示されるような軽鎖可変領域を含む。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 189のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 190のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。

50

一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 191のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 192のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 193のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 194のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 195の

20

30

40

50

一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 212のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 213のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 214のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 215のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 216のアミノ酸配列に示されるような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 217のアミノ酸配列に示されるような軽鎖可変領域を含む。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 218のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 219のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 220のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 221のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 222のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 223のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 224のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 225のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 226のアミノ酸配列に示されるような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 227のアミノ酸配列に示されるような軽鎖可変領域を含む。一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 147のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 228のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。

一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 147のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 229のアミノ酸配列に示

一実施の形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合部は、SEQ ID NO: 238のアミノ酸配列に示されているような重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 242のアミノ酸配列に示されているような軽鎖可変領域を含んでいる。

【0216】

ここに記載されている抗CD117の中には、CD117を表現する細胞上のCD117活性を実質的に抑制しない中性抗物質がある。たとえば、*in vitro*幹細胞因子(SCF)依存細胞拡散アッセイを用いて中性抗物質を同定することができる。SCF依存性細胞増殖アッセイにおいて、中性CD117抗体は、SCFに依存して分裂するCD34+細胞を殺さないであろう。中性抗体は、SCFがCD117活性を阻害するようなCD117に結合するのを阻止しないであろうからである。

10

【0217】

中性抗生物質は、ヒトCD117に特に結合する能力を考えると、診断目的に使用することができるが、また、本書に記載されているように、細胞毒素に接合した場合、CD117を表現する細胞を殺すのにも効果的である。典型的には、コンジュゲートに使用される抗物質は、その抗たん性に特有の敵対的または敵対的な活動を有する。しかしながら、明細書、活用に対するユニークなアプローチであり、特に、活用が幹細胞移植に先立って調整剤として使用されている状況において、そうである。細胞毒素だけでなく、細胞毒素としての細胞毒素と組み合わせることによって、反抗的な抗毒素は効果的であるが、細胞毒素の効果に対して、中性のアンチCD117の共役を条件として、抗細胞毒素の活性が副次的であるが、細胞毒素の効果効果を効果的に伝達するためには、抗毒素の内部化および親和性の特性、例えば解離速度が重要であるという代替戦略を提示している。

20

【0218】

中性抗CD117型の実施例としては、Ab58、Ab61、Ab66、Ab67、Ab68、Ab69が挙げられる。中性、反CD117のCDRのアミノ酸配列を比較したところ、同定された2つの中性抗物質群の間のコンセンサス配列が明らかになった。Ab58とAb61は、HC CDR1とHC CDR2のわずかなバリエーションで、同じL鎖CDRとHC CDR3を共有している。HC CDR1とCDR2のコンセンサス配列はSEQ ID No:133と134に記載されている。Ab66、Ab67、Ab68、およびAb69も中性抗物質である。Ab66、Ab67、Ab68、およびAb69は同じL鎖CDRと同じHC CDR3を共有しているが、これらの薬物はHC CDR1およびHC CDR2領域内で変動がある。HC CDR1およびHC CDR2地域におけるこれらの抗毒素に対するコンセンサス配列、それぞれSEQ ID No:139および140で提供される。

30

【0219】

Antagonist abidesは、Ab54、Ab55、Ab56、およびAb57を含む、ここに提供される。Ab54、Ab55、Ab56、およびAb57は同じL鎖CDRと同じHC CDR3を共有しているが、これらはHC CDR1およびHC CDR2領域内で変動がある。HC CDR1およびHC CDR2地域におけるこれらの抗毒素に対するコンセンサス配列、それぞれSEQ ID No:127および128で提供される。

【0220】

1つの側面において、本開示は、SEQ ID NO:1のT67、K69、T71、S81、Y83、T114、T119またはK129のアミノ酸残留物のうち少なくとも2つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、または8つすべてを含んでいるCD117のエピトープに結合することができる、抗原結合フラグメントに関するものである。別の側面において、本開示は、SEQ ID NO:290の少なくともアミノ酸67-83および114-129内の残渣を有するエピトープに結合するCD117を結合することができる、抗原結合フラグメントに関する。

40

【0221】

別の態様では、本開示は、配列番号290のアミノ酸残基S236、H238、Y244、S273、T277またはT279の少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、または6つすべてを含む、CD117中のエピトープに結合するCD117を結合すること

50

ができる抗体またはその抗原結合フラグメントに関する。一側面において、本開示は、SEQ ID NO: 290の少なくともアミノ酸236-244および273-279内の残留物を有するエピトープに結合するCD117に結合することができる、分離された抗CD117、又はそれらの抗原結合フラグメントを提供する。

【0222】

(SEQ ID NO: 290)

1つの実施形態において、抗CD117抗体またはその抗原結合フラグメントは、本明細書に開示される配列番号と少なくとも約95%、約96%、約97%、約98%または約99%同一であるアミノ酸配列を有する可変領域を含む。あるいは、抗CD117抗体、またはその抗原結合フラグメントは、本明細書中に開示される配列番号と少なくとも約95%、約96%、約97%、約98%または約99%同一であるアミノ酸配列を有する本明細書中に記載される可変領域のフレームワーク領域を有する本明細書中に開示される配列番号を含むCDRを含む。

10

【0223】

本明細書に記載の抗CD117全長抗体、二重特異性抗体、二重可変ドメイン抗体、多重鎖または一本鎖抗体、および/またはヒトCD117に特異的に結合する結合フラグメントの形成であり得、これらには、Fab、Fab'、(Fab')₂、Fv)、scFv (一本鎖Fv)、サロボディー(サロゲート軽鎖構築物を含む)、単ドメイン抗体、カメリー化抗体などが含まれるが、これらに限定されない。また、それらは、IgA (例:IgA1またはIgA2)、IgD、IgE、IgG (例:IgG1、IgG2、IgG3またはIgG4)、またはIgMを含む、任意のアイソタイプ、またはそれらに由来することができる。いくつかの実施形態において、抗CD117の抗たんばくはIgGである(例えば、IgG1、IgG2、IgG3又はIgG4)。

20

【0224】

ここに記載された方法と関連して使用されるアンチボディには、上記に記載された抗毒物の変形例、例えば、Fc領域を含むか欠如している抗毒物、並びにここに記載された非人類抗毒物の人類化変形例およびCDRまたはその同等領域の1つ以上または全部、又は本稿に記載されている抗毒物(例えば、10Fn3ドメイン)を含んでいる人類化変形例が含まれる。前記の抗原結合フラグメントの例としては、デュアルバリアブル・イムグロブリン・ドメイン、シングル・チェーンFv分子(scFv)、ダイアボディ、トライアボディ、ナノボディ、Andi-like protein scaffold、Fv断片、Fb断片、F(ab')₂分子、およびタンデム・ディ-scFvが含まれる。

30

【0225】

1つの実施形態では、1つ以上の放射性ラベル表示されたアミノ酸からなる反CD117物質が提供される。放射性標識された抗CD117抗体は、診断目的および治療目的の両方に使用され得る(放射性標識された分子への結合は、別の可能な特徴である)。ポリペプチドのラベルの無制限の実施例には、3H、14C、15N、35S、90Y、99Tcおよび125I、131Iおよび186Reが含まれるが、これらに限定されない。放射性ラベル表示されたアミノ酸及び関連ペプチドの派生物を調製する方法は、当技術分野で知られている(例えば、Jungmans et al., in Cancer Chemotherapy and Biotherapy 655-686 (第2版、Chafner and Longo, eds., Lippincott Raven (1996)))及び米国特許を参照されたい。第4,681,581号、米国特許第4,735,210号、米国特許第5,101,827号米国特許No.5,102,990(米国RE35,500)、米国特許。No.5,648,471及び米国特許5,697,902号。たとえば、放射性同位体はクロラミンT法によって結合することができる。

40

【0226】

更に、特定の実施例において、本記載のように、抗CD117抗薬は、約3日以下の人間被検者での血清半減期を有する。特定の実施形態において、本明細書に記載されるような抗CD117抗体は、約24時間以下、約23時間以下、約22時間以下、約21時間以下、約20時間以下、約19時間以下、約18時間以下、約17時間以下、約16時間以下、約15時間以下、約14時間以下、約13時間以下、約12時間以下または約11時間以下の半減期(例えばヒトにおける)を有する。

50

一実施の形態では、ここに説明するように、抗CD117抗毒剤は、半減期(例えば、人間)が約1~5時間、約5~10時間、約10~15時間、約15~20時間、又は約20~25時間である。

【0227】

Fc修正遺伝体

本開示は、CD117のような、例えば骨髄細胞ニッチの数学的幹細胞又はCD117+白血球又はCD117+自己感染細胞によって表現される抗原を結合することができるFcサイレンシングを可能にするFc修飾を有する、抗物質又は抗原結合フラグメントが、(i)移植治療を必要とする患者における移植血液細胞の移植を容易にし、(ii)がん及び自己感染症を治療するための治療薬として、又はADCとして使用され得るという発見に基づく部分がある。これらの治療活動は、たとえば、細胞によって表現されるCD117に結合する抗CD117の結合または抗原結合フラグメントによって引き起こされることができる。

10

【0228】

ここに記載された抗CD117抗生物質又は結合フラグメントは、また、本技術で知られるように、半減期を増加させるもの、ADCCを増加または減少させるもの等の、抗生物質及び/又は断片の特性を変化させる改変及び/又は突然性を含んでいることがある。

【0229】

一実施の形態では、当該変形例Fc領域は、野生型Fc領域に比較して少なくとも1つのアミノ酸変質を含み、当該分子はFcγ₁Rに対する変質親和性を有する変形例Fc領域を含んでいる、反CD117の、又はそれらの結合フラグメントは、変形例Fc領域を含んでいる。Fc領域内のいくつかのアミノ酸位置は、Fcに対して直接接触するための結晶学研究を通して知られている。具体的には、アミノ酸234-239(ヒンジ領域)、アミノ酸265-269(B/Cループ)、アミノ酸297-299(C'/Eループ)、アミノ酸327-332(F/G)ループである。(Sondermann et al., 2000 Nature, 406: 267-273 を参照)。幾つかの実施例において、ここに記載される防CD117抗体は、構造的及び結晶学的分析に基づき、Fcγ₁Rと直接的に接触する少なくとも1つの残渣の改造から成る変形型Fc領域を含んでいることができる。一実施形態では、抗CD117のFc領域(又はそのフラグメント)は、KabatらによるEU指数によれば、EU指数におけるアミノ酸265におけるアミノ酸置換を含んでいる。これは、引例によって明示的にここに含まれている、Kabat et al., Sequences of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, NH1, MD (1991)による。「KabatにおけるようなEUインデックス」とは、ヒトIgG1 EU抗体の番号付けを指す。EU指数またはEU指数は、カバトまたはEU番号化スキームにおけるEU指数(Edelman et al., 1969, Proc Natl Acad Sci USA 63:78-85、ここに完全に参考として組み込まれている)に言及する。ある実施形態において、Fc領域はD265A突然異変を含む。1つの実施形態において、Fc領域はD265C突然異変を含む。いくつかの実施形態において、反CD117のFc領域(又はそのフラグメント)は、カバトにおけるように、EU指数によれば、アミノ酸234におけるアミノ酸置換を含む。1つの実施形態において、Fc領域はL234A突然異変を含む。いくつかの実施形態において、反CD117のFc領域(又はそのフラグメント)は、カバトにおけるように、EU指数によれば、アミノ酸235におけるアミノ酸置換を含む。1つの実施形態において、Fc領域はL235A突然異変を含む。さらに別の実施形態では、Fc領域はL234AとL235Aの突然変異を含む。更なる実施の形態では、ここに記載されたADCの抗菌作用のFc領域は、D265C、L234AおよびL235Aの突然変異を含む。

20

30

40

【0230】

一実施の形態では、Fc領域は、D265、V205、H435、I253、および/またはH310のアミノ酸位置における突然異変を含む。例えば、これらの位置における特定の突然変わりには、D265C、V205C、H435A、I253A、および/またはH310Aが含まれる。

【0231】

1つの実施形態において、Fc領域はL234A突然異変を含む。いくつかの実施形態において、反CD117のFc領域(又はそのフラグメント)は、カバトにおけるように、EU指数に

50

よれば、アミノ酸235におけるアミノ酸置換を含む。1つの実施形態において、Fc領域はL235A突然変異を含む。さらに別の実施形態では、Fc領域はL234AとL235Aの突然変異を含む。更なる実施の形態では、Fc領域はD265C、L234AおよびL235Aの突然変異を含む。さらに別の実施形態では、Fc領域はD265C、L234A、L235AおよびH435Aの突然変異を含む。更なる実施形態では、Fc領域はD265CとH435Aの突然変異を含む。

【0232】

さらに別の実施形態では、Fc領域はL234AとL235Aの突然変異(ここでは「L234A.L235A」または「LA」とも呼ばれる)を含む。別の実施形態では、Fc領域は、Fc領域がP329G突然変異を含まないL234A及びL235A突然変異を含む。更なる実施の形態では、Fc領域は、D265C、L234AおよびL235Aの枝変わり(ここでは「D265C.L234A.L235A」とも呼ばれる)を構成する。別の実施形態では、Fc領域はD265C、L234AおよびL235Aの突然変異を含み、Fc領域はP329Gの突然変異を含まない。さらに別の実施形態では、Fc領域は、D265C、L234A、L235A、およびH435A変異(本明細書では、「D265C.L234A.L235A.H435A」とも呼ばれる)を含む。別の実施形態では、Fc領域はD265C、L234A、L235AおよびH435Aの突然変異を含み、Fc領域はP329G突然変異を含まない。更なる実施の形態では、Fc領域はD265CとH435Aの突然変異(ここでは「D265C.H435A」とも呼ばれる)を含む。さらに別の実施形態では、Fc領域は、D265A、S239C、L234AおよびL235Aの枝変わり(また、ここでは、「D265A.S239C.L234A.L235A」とも呼ばれる)を構成する。さらに別の実施形態では、Fc領域はD265A、S239C、L234AおよびL235Aの突然変異を含み、Fc領域はP329Gの突然変異を含まない。別の実施形態では、Fc領域は、D265C、N297GおよびH435Aの突然変異(本稿では「D265C.N297G.H435A」とも呼ばれる)を含む。別の実施形態では、Fc領域は、D265C、N297QおよびH435Aの突然変異(ここでは「D265C.N297Q.H435A」とも呼ばれる)を含む。別の実施形態では、Fc領域は、E233P、L234V、L235AおよびdelG236(236の削除)(ここでは「E233P.L234V.L235A.delG236」または「EPLVLA delG」としても参照される)からなる。別の実施形態では、Fc領域は、E233P、L234V、L235AおよびdelG236(236の削除)突然変異を含み、Fc領域はP329G突然変異を含まない。別の実施形態では、Fc領域は、E233P、L234V、L235A、delG236(236の削除)およびH435Aの突然変異(ここでは「E233P.L234V.L235A.delG236.H435A」または「EPLVLAdelG.H435A」としても参照される)からなる。別の実施形態では、Fc領域はE233P、L234V、L235A、delG236(236の削除)およびH435Aの突然変異を含み、Fc領域はP329G突然変異を含まない。別の実施形態では、Fc領域はL234A、L235A、S239CおよびD265Aの突然変異を含む。別の実施形態では、Fc領域はL234A、L235A、S239CおよびD265Aの突然変異を含み、Fc領域はP329Gの突然変異を含まない。別の実施形態では、Fc領域は、H435A、L234A、L235AおよびD265C突然変異を含む。別の実施形態では、Fc領域はH435A、L234A、L235AおよびD265C突然変異を含み、Fc領域はP329G突然変異を含まない。

【0233】

いくつかの実施形態では、上記抗CD117の領域は、非修正Fc領域をFc Rに含む同一の反対抗物の結合に関連して、Fcレセプター(Fc R)への結合が減少するとともに、in vitroエフェクター機能アッセイにおけるエフェクター機能を減少させるような改良されたFc領域を有する。いくつかの実施形態では、抗CD117の領域は、上記修正Fc領域を含む同一の反対Fc領域とFcimRとの結合に関連して、Fcガンマレセプター(FcimR)への結合が減少するとともに、in vitroエフェクター機能アッセイにおけるエフェクター機能の機能を減少させるような改良されたFc領域を有する。いくつかの実施形態において、FcγRは、FcγR1である。いくつかの実施形態において、FcγRは、FcγR2Aである。いくつかの実施形態において、FcγRは、FcγR2Bである。他の実施形態において、FcγRは、FcγR2Cである。いくつかの実施形態において、FcγRは、FcγR3Aである。いくつかの実施形態において、FcγRは、FcγR3Bである。他の実施形態では、結

合の減少は、FcγRに対する未修飾Fc領域を含む同一抗体の結合と比較して、FcγRに対する抗体結合の少なくとも70%の減少、少なくとも80%の減少、少なくとも90%の減少、少なくとも95%の減少、少なくとも98%の減少、少なくとも99%の減少、または100%の減少である。他の実施形態では、結合の減少は、未修飾Fc領域を含む同一抗体のFcγRへの結合と比較して、FcγRに対する抗体結合の少なくとも70%~100%の減少、少なくとも80%~100%の減少、少なくとも90%~100%の減少、少なくとも95%~100%の減少、または少なくとも98%~100%の減少である。

【0234】

いくつかの実施形態において、抗CD117抗体は、未修飾Fc領域を含む同一抗体のサイトカイン放出と比較して少なくとも50%のサイトカイン放出の減少を伴う、インビトロサイトカイン放出アッセイにおいてサイトカイン放出を減少させるように、修飾Fc領域を有する。いくつかの実施形態において、非修正Fc領域を含むサイトカイン放出と比較して、サイトカイン放出の減少は少なくとも70%減少、少なくとも80%減少、少なくとも90%減少、少なくとも95%減少、少なくとも98%減少、少なくとも99%減少、又はサイトカイン放出の100%減少である。いくつかの実施形態において、サイトカインの放出の減少は、非修正Fc領域を含む同一のサイトカインの放出と比較して、少なくとも70%から100%減少、少なくとも80%から100%減少、少なくとも90%から100%減少、少なくとも95%から100%減少するサイトカインの放出の減少である。特定の実施形態では、サイトカイン放出は、免疫細胞による。

【0235】

いくつかの実施形態において、抗CD117抗体は、未修飾Fc領域を含む同一抗体のマスト細胞脱顆粒と比較して少なくとも50%のマスト細胞脱顆粒の減少を上記in vitroマスト細胞脱顆粒アッセイにおいてマスト細胞脱顆粒を減少させるように、修飾Fc領域を有する。いくつかの実施形態において、マスト細胞の減少は、非修正Fc領域を含む同一抗マスト細胞の減少に対して、少なくとも70%減少、少なくとも80%減少、少なくとも90%減少、少なくとも95%減少、少なくとも98%減少、少なくとも99%減少、又はマスト細胞の減少を100%減少させる。いくつかの実施形態において、マスト細胞脱顆粒の減少は、非修飾Fc領域を含む同一抗体のマスト細胞脱顆粒と比較して、マスト細胞脱顆粒の少なくとも70%~100%の減少、少なくとも80%~100%の減少、少なくとも90%~100%の減少、または少なくとも95%~100%の減少である。

【0236】

いくつかの実施形態において、抗CD117抗体は、抗体が、未修飾Fc領域を含む同一抗体のADCPと比較して少なくとも50%のADCPの減少を伴う、インビトロ抗体依存性電池食作用アッセイにおいて抗体依存性電池食作用(ADCP)を減少または防止するように、修飾されたFc領域を有する。いくつかの実施形態において、ADCPの減少は、非修正Fc領域を含むサイトカインの同一の領域からのサイトカインの放出と比較して、少なくとも70%減少、少なくとも80%減少、少なくとも90%減少、少なくとも95%減少、少なくとも98%減少、少なくとも99%減少、又はサイトカインの放出の100%減少である。

【0237】

一部の実施形態では、D265C, D265C / H435C / LA, D265C / LA / H235A / L235A, D265A / L235A / L235A, D265C / L235A / L235A, D265C / N297G / N297G / H435C, D265C / H265C / EPLVLAdelG / H265C / H265C, EPLVLAdelG / H435A, D265C / N2927Q / H435A, EPLVLAdelG / H435A EPLVLAdelG / D265A, N2927Q, EPLVLAdelG / N2927G, N2927Q. ここでの抗CD117抗体は、以下の変形または組み合わせからなるFc領域から成る。D265A, D265C / H265C / LA, D265C / LA, D265C / N2927G / H435A, D265C(IgG2) / H435C / N2927Q, EPLVLAdelG / H435A, N2927A, N297G すなわち、N297Qである。

【0238】

改良Fc領域とFcガンマレセプターとの結合または親和性は、例えば、平衡法(例えば、ELISA; KinExA, Rathanaswami et al.)に限定されないが周知の様々な技術を用いて

決定することができる。分析生化学Vol.373:52-60, 2008; 2008年;または、ラジオイムノアッセイ(RIA)、または、表面プラズモン共鳴アッセイ、またはその他のキネティクススペースのメカニズム(例えば、BIA CORE.RTM分析またはOctetTM分析(forteBIO))、および他の方法、ならびに間接結合アッセイ、競争結合アッセイ、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)、ゲル電気泳動法およびクロマトグラフィー(例えば、ジェルフィルトレーション)。これらおよび他の方法は、検討中の成分の一つまたはそれ以上のラベルを利用することができる、また/または、発色性、蛍光、発光、または同位体標識を含むが、それに限らない多様な検出方法を使用することができる。結合する親和性と運動学についての詳細な記述は、Paul, W. E., ed., *Fundamental Immunology*, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)に見られる。競合結合アッセイの一例は、増大する量の非標識抗原の存在下での標識抗原と目的の抗体とのインキュベーション、および標識抗原に結合した抗体の検出を含むラジオイムノアッセイである。特定の抗原に対する興味のある標本の親和性と結合オフレートは、スキッチャードプロット分析によりデータから決定することができる。また、ラジオイムノアッセイを用いて、第二の抗菌剤との競合を判断することもできる。この場合、この抗原は、標識されていない第2のビーンズの増加量の存在の中で、標識化された複合物に接合された興味のあるビーンズと共にインキュベートされる。

10

【0239】

一実施形態では、本明細書に記載されるFc未変性の(例えば、D265C、L234A、L235A、および/またはH435A)を有する抗原修飾は、Fcガンマ受容体への非修飾Fc領域を含む同一の抗菌剤の結合に対する、少なくとも70%減少、少なくとも80%減少、少なくとも90%減少、少なくとも95%減少、少なくとも98%減少、少なくとも99%減少、または100%減少を有する(例えば、バイオレイヤー干渉法(BLI)によって評価されるように)。

20

【0240】

いかなる理論にも拘束されることを望まないが、Fcガンマ受容体とのFc領域結合相互作用は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)および補体依存性細胞傷害(CDC)を含むが、これらに限定されない、様々なエフェクター機能および下流シグナル伝達事象に必須であると考えられる。従って、特定の態様において、改良されたFc領域(例えば、L234A、L235A、および/またはD265C突然異変からなる)を含む抗菌は、エフェクター機能を実質的に減少または廃止した。効果機能は、関心応答に応じて細胞反応(例えば、マスト細胞の退化またはサイトキンの放出)を測定することによって、当該技術に知られている様々な方法を用いて評価することができる。例えば、通常の方法を用いて、例えば、ヒト周辺血液単核細胞によるように、Fc改良型抗生物質は、マスト細胞退化を引き起こすか、あるいはサイトキン放出を引き起こす能力のために、アッセイすることができる。

30

【0241】

特定の態様において、変形IgG Fcドメインは、1つ以上のアミノ酸置換を含まない野生型Fcドメインと比較して、FcγRおよび/またはC1qに対する1つ以上のアミノ酸置換又はアブレーション結合親和性の減少又はアブレーション結合親和性をもたらす1つ以上のアミノ酸置換を含んでいる。Fc結合相互作用は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)および補体依存性細胞傷害(CDC)を含むが、これらに限定されない、様々なエフェクター機能および下流シグナル伝達イベントに必須である。従って、特定の態様において、改良されたFc領域(例えば、L234A、L235A、およびD265C突然異変からなる)を含む抗菌は、エフェクター機能を実質的に減少または廃止した。

40

【0242】

Fc領域への親和性は、例えば、平衡法(例えば、ELISA;KinExA, Rathanaswami et al.)に限定されないが周知の様々な技術を用いて決定することができる。分析生化学Vol. 373:52-60, 2008; 2008年、または、ラジオイムノアッセイ(RIA)、または、表面プラズモン共鳴アッセイまたは他のキネティクススペースのアッセイのメカニズム(例:BIA CORETM分析またはOctetTM分析(forteBIO))、および間接結合アッセイ、競合結合蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)、ゲル電気泳動法およびクロマトグラフィー(例:ゲルろ過)

50

などの他の方法。これらおよび他の方法は、検討中の成分の一つまたはそれ以上のラベルを利用することができ、また/または、発色性、蛍光、発光、または同位体標識を含むが、それに限らない多様な検出方法を使用することができる。結合する親和性と運動学についての詳細な記述は、Paul, W. E., ed., *Fundamental Immunology*, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)に見られる。競合結合アッセイの一例は、増大する量の非標識抗原の存在下での標識抗原と目的の抗体とのインキュベーション、および標識抗原に結合した抗体の検出を含むラジオイムノアッセイである。特定の抗原に対する興味のある標本の親和性と結合オフレートは、スキッチャードプロット分析によりデータから決定することができる。また、ラジオイムノアッセイを用いて、第二の抗菌剤との競合を判断することもできる。この場合、この抗原は、標識されていない第2のビー

10

【0243】

アンチボディは、(Dall'Acquaら(2006) *J Biol Chem* 281: 23514-24)、(Zalevskyら(2010) *Nat Biotechnol* 28: 157-9)、(Hintonら(2004) *J Biol Chem* 279: 6213-6)、(*J Immunol* 176: 346-56)、(*J Biol Chem* 276: 6591-604)、(Petkovaら(2006) *Int Immunol* 18: 1759-69)、(Datta-Mannanら(2007)) *Drug Metab Dispos* 35: 86-94)、(Vaccaroら(2005) *Nat Biotechnol* 23: 1283-8、(Yeung et al. (2010) *Cancer Res* 70: 3269-77, and (Kim et al. (1999)) *Eur J Immunol* 29: 2819-25) には、位置250、252、253、254、256、257、307、376、380、428、434、435 が含まれます。特異的に、または組み合わせて行われ得る例示的な変異は、T250Q、M252Y、I253A、S254T、T256E、P257I、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435AおよびH435R変異である。

20

【0244】

このように、一実施の形態では、Fc領域は、半減期をもたらす突然変異を含んでいる。短い半減期を有する抗菌剤は、短期間の治療として機能することが期待される場合には、ある場合には有利であろう。例えば、本書に記載されている条件付工程において、抗菌剤がHSCsによって管理されることが有利であろう。理想的には、HSCsの送達前に、この抗原は実質的にクリアされるであろう。これはまた、一般的には、ここに記載されたADCの標的となる抗原を表現する。例えば、CD117であるが、内生幹細胞とは異なり、ADCの標的ではない。1つの実施形態において、Fc領域は、位置435(カバトによるEUインデックス)の突然変異を含む。1つの実施形態において、この突然変異はH435Aの突然変異である。

30

【0245】

一実施の形態では、ここに記載されている本技術は、約24時間に等しい又はそれ以下の半減期、約22時間に等しい半減期、約20時間に等しい半減期又はそれ以下の半減期、約18時間に等しい半減期又はそれ以下の半減期、約16時間に等しい半減期、約14時間に等しい半減期、約13時間に等しい又はそれ以下の半減期、約12時間に等しい又はそれ以下の半減期、又は約11時間に等しい又はそれ以下の寿命を有する。1つの実施形態では、抗菌剤の半減期は約11時間から約24時間、約12時間から約22時間、約10時間から約20時間、約8時間から約18時間、又は約14時間から約24時間である。

40

【0246】

いくつかの側面では、Fc領域は、半減期をもたらす、また、大幅に、および、抗菌の効果的な機能を減少または完全に廃止する2つ以上の突然変異で構成される。いくつかの実施形態では、Fc領域は、半減期の減少とFcIRと直接接触できる少なくとも1つの残渣の突然変異をもたらすような(例えば、構造的及び結晶学的分析に基づく)突然変異を含む。1つの実施形態では、Fc領域はH435A突然変異、L234A突然変異、およびL235A突然変異を含む。1つの実施形態において、Fc領域はH435A突然変異とD265C突然変異を含む。1つの実施形態において、Fc領域は、H435A突然変異、L234A突然変異、L2

50

35A突然異変、およびD265C突然異変を含む。

【0247】

幾つかの実施例では、抗CD117の、又はその抗原結合フラグメントは、サイトトキシン(例えば、アントラサイクリン)に、抗原結合フラグメントのFc領域内のシステイン残留物又はその抗原結合フラグメントを経由して接合される。いくつかの実施例では、システイン残留物は、抗原結合フラグメントのFc領域における突然変異によって導入される。たとえば、システイン残基は、Cys118、Cys239、およびCys265からなる群から選ぶことができる。一実施の形態では、抗CD117のFc領域(又はそのフラグメント)は、カバトにおけるように、EU指数によれば、アミノ酸265におけるアミノ酸置換を含む。1つの実施形態において、Fc領域はD265C突然異変を含む。1つの実施形態では、Fc領域はD265CとH435Aの突然変わりを含む。1つの実施形態では、Fc領域はD265C、L234AおよびL235Aの突然変異を含む。1つの実施形態では、Fc領域はD265C、L234A、L235AおよびH435Aの突然変異を含む。一実施の形態では、カバトにおけるように、EU指数によると、抗CD117抗原結合断片のFc領域は、アミノ酸239におけるアミノ酸置換を含む。1つの実施形態では、Fc領域はS239C突然異変を含む。1つの実施形態では、Fc領域はL234A突然異変、L235A突然異変、S239C突然異変およびD265A突然異変を含む。別の実施形態では、Fc領域はS239CとH435Aの突然変わりを含む。別の実施形態では、Fc領域はL234A突然異変、L235A突然異変、およびS239C突然異変を含む。さらに別の実施形態では、Fc領域は、H435A突然異変、L234A突然異変、L235A突然異変およびS239C突然異変を含む。さらに別の実施形態では、Fc領域は、H435A突然異変、L234A突然異変、L235A突然異変、S239C突然異変およびD265A突然異変を含む。

10

20

特に、Fcアミノ酸の位置は、特に示されていない限り、EU番号指数を参考にしている。

【0248】

これらのアスペクトのいくつかの実施例において、システイン残留物は、アンチCD117のFc領域またはそれらの抗原結合フラグメントにおいて自然に生じている。例えば、Fcドメインは、ヒトIgG1 FcドメインのようなIgG Fcドメインであり、システイン残基は、Cys261、Cys321、Cys367およびCys425からなるグループから選択され得る。

【0249】

例えば、一実施の形態では、アンチボディ67のFc領域がD265C突然異変を構成するように変更される(例えば、SEQ ID NO: 111)。別の実施形態では、アンチボディ67のFc領域は、D265C、L234AおよびL235Aの突然変異(例えば、SEQ ID NO: 112)を含むように変更される。さらに別の実施形態では、アンチボディ67のFc領域は、D265CとH435Aの突然異変(例えば、SEQ ID NO: 113)を含むように変更される。更なる実施の形態では、アンチボディ67のFc領域は、D265C、L234A、L235AおよびH435Aの変わり目(例えば、SEQ ID NO: 114)を含むように変更される。

30

【0250】

アンチボディ55については、一実施の形態では、Antibody 55のFc領域がD265C突然異変を含むように改変されている(例えば、SEQ ID NO: 117)。別の実施形態では、アンチボディ55のFc領域は、D265C、L234AおよびL235Aの突然変異(例えば、SEQ ID NO: 118)を含むように変更される。さらに別の実施形態では、アンチボディ55のFc領域は、D265CとH435Aの変わり目(例えば、SEQ ID NO: 119)を構成するように変更される。更なる実施の形態では、アンチボディ55のFc領域は、D265C、L234A、L235AおよびH435Aの突然異変(例えば、SEQ ID NO: 120)を含むように変更される。

40

【0251】

アンチボディ54、アンチボディ55、アンチボディ56、アンチボディ57、アンチボディ58、アンチボディ61、アンチボディ66、アンチボディ67、アンチボディ68、またはアンチボディ69のいずれかのFc領域は、D265C変異(例えば、SEQ ID NO: 123のように); D265C、L234A、およびL235A変異(例えば、SEQ ID NO: 124のように); D265CおよびH435A変異(例えば、SEQ ID NO: 125のように); またはD265C、L234A、L

50

235A、およびH435A変異(例えば、SEQ ID NO: 126のように)を含むように修正され得る。

【0252】

ここに記載されている改良型Fc領域はそれらを構成するアミノ酸の改良に従って定義されている。Fc領域に関してここで議論したすべてのアミノ酸置換物について、番号は常にEU指数に従う。したがって、例えば、D265Cは、EU位置265におけるアスパルチン酸(D)のFc変形例であり、親Fc領域に対してシスチン(C)で置き換えられる。同様に、例えば、D265C/L234A/L235Aは、EU位置265(D~C)、234(L~A)、および、親のFcドメインに対する235(L~A)で代用した変形例Fcを定義する。変種は、EUアミノ酸の変位位置における最終アミノ酸組成によっても指定することができる。たとえば、L234A/L235AミュータントはLAと呼ぶことができる。置換が提供される順序は、任意であることに注意されたい。

10

【0253】

1つの実施形態において、抗CD117抗体またはその抗原結合フラグメントは、本明細書に開示される配列番号と少なくとも約95%、約96%、約97%、約98%または約99%同一であるアミノ酸配列を有する可変領域を含む。あるいは、抗CD117抗体、またはその抗原結合フラグメントは、本明細書中に開示される配列番号と少なくとも約95%、約96%、約97%、約98%または約99%同一であるアミノ酸配列を有する本明細書中に記載される可変領域のフレームワーク領域を有する本明細書中に開示される配列ID番号を含むCDRを含む。

20

【0254】

一実施の形態では、抗CD117の、又はその抗原結合断片は、重鎖可変領域と、本明細書で開示されるアミノ酸配列を有する重鎖不変領域を含む。別の実施の形態では、抗CD117の、又はその抗原結合断片は、本分野に開示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とライトチェーン不変領域を含む。更に別の実施形態では、抗CD117抗原、又はその抗原結合断片は、重鎖可変領域、軽鎖可変領域、鎖定常領域分野に開示されるアミノ酸配列を有する軽鎖不変領域からなる。

【0255】

抗体の同定方法

ここに提供されるのは、幹細胞移植のための調整方法のような、使用されうるADCである。本明細書に照らして、他の反CD117抗物質は、本開示のADC及び方法で利用できることを確認することができる。

30

細胞表面抗原(例えば、CD117またはCD45)を結合することができる分子のための高いスループットスクリーニングのための方法、すなわち、抗がん、自己感染症の治療に有用な成熟した抗生物質を識別し親近感を示すために、また、本書に記載されているように、血液細胞療法を必要とする患者(例えば、ヒト患者)に調整するために使用することができる。このような方法には、ファージディスプレイ、細菌ディスプレイ、酵母ディスプレイ、哺乳類細胞ディスプレイ、リボソームディスプレイ、mrnaディスプレイ、およびcDNAディスプレイなどのような、当業者に知られている体外ディスプレイ技術が含まれる。生物学的に関連のある分子を結合する配位子を分離するためのファージディスプレイの使用については、例えば、Feliciら、Biotechnolで検討されている。Annual Rev. 1:149-183, 1995; Katz, Annual Rev.生態学。バイオモル。構造。26:27-45, 1997; 1997年;およびHoogenboom et al., Immunotechnology 4:1-20, 1998年。これらの開示は、それぞれがインビトロディスプレイ技術に関連するものとして本明細書に参考として援用される。ランダム化されたコンビナトリアル・ペプチド・ライブラリは、Kay, Perspectに記載されているように、細胞表面抗原を結合するポリペプチドを選ぶために構築されている。ドラッグディスカバリー・デス2:251-268, 1995年およびKayら、Mol.多様。

40

【0256】

1:139-140, 1996, 1996, 各開示は、抗原結合分子の発見に関するものであるので、

50

ここに引用して参考文献に組み込まれている。多マー性たんぱく質のようなタンパク質は、機能分子としてファージ表示に成功した(例えば、EP 0349578、EP 4527839、およびEP 0589877、ならびにChiswellとMcCafferty, Trends Biotechnol. 10:80-84 1992、これらの各開示は、抗原結合分子の発見のためのin vitroディスプレイ技術の使用に関連して、ここに含まれている)。さらに、FabやscFvのような機能的な抗原断片は、in vitroディスプレイ形式で表現されている(例えば、McCaffertyら、Nature 348:552554, 1990; Barbasら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:7978-7982, 1991; Clacksonら、Nature 352:624-628, 1991を参照)。これらの各々の開示は、抗原結合分子の発見のためのin vitroディスプレイプラットフォームに関連するものとして、ここに含まれる。これらの技術は、特に、CD117(例:GNK+CD117)を結合する抗物質の親和性を特定し、改善するために使用することができ、これらは、逆に、血液細胞移植治療を必要とする患者(例:ヒト患者)の内生血液細胞を枯渇させるために使用することができる。

10

【0257】

体外ディスプレイ技術に加えて、計算モデル技術を用いて、細胞表面抗原(例:CD117)を結合するシリコの中で、抗物質および抗物質の断片を設計し、識別することができる。例えば、当業者は、計算モデル技法を用いて、この抗原の細胞外エピトープのような特定のエピトープを結合することができる分子のために、シリコの中で、抗物質および抗物質断片の図書館をスクリーニングすることができる。これらの計算技法によって確認された抗生物質およびそれらの抗原結合フラグメントは、ここに記載されたガンおよび自己感染症の治療法およびここに記載された患者調整手順のような、ここに記載された治療法と併用することができる。

20

【0258】

さらに、細胞の表面(例、ガン細胞、自己感染細胞、あるいは血液細胞)に結合し、たとえば、レセプターを媒介とした内細胞によって内在化されている細胞表面抗原(例、CD117)を結合する抗原結合断片や抗原結合断片を同定するために、追加の技法を用いることができる。例えば、上述のin vitroディスプレイ技術は、抗物質および抗原結合フラグメントのスクリーニングに適応することができ、これは、細胞表面抗原(例:CD117)をガン細胞、自己感染細胞または血液細胞の表面に結合し、後に内在化する。フェイジ・ディスプレイは、この選別のパラダイムと併用できるそのような手法の一つである。細胞表面抗原(例、CD117)を結合し、その後ガン細胞、自己細胞、あるいは血液細胞によって内在化される、抗毒素およびそのフラグメントを同定するために、当業者は、例えば、Williamsら、Leukemia 19:1432-1438、2005に記載されているファージディスプレイ技術を適応することができる。この開示は、その全体をここに引用することによりここに組み込まれている。例えば、当技術分野で知られているミュージネーション・ファージ・ライブラリーは、特に、scFvフラグメント、Fabフラグメント、ダイアボディ、トリアボディ、¹⁰のFn3ドメインのような抗生物質、あるいはランダム化されたアミノ酸カセットを含むリガンド(例えば、CDRまたは同等の領域の1つ以上または全部、またはそれに相当する領域、あるいはそれに相当する領域、または、抗生物質または断片)をエンコードする再結合ファージ・ライブラリーを作ることができる。フレームワーク領域、ヒンジ、Fcドメイン、および抗生他断片の他の領域は、例えば、ヒトのゲルムライン抗生他と比較してわずかな変化を示すヒトゲルムラインの配列を有することにより、それらがヒトにおいて非遺伝子性であるように設計されることができる。

30

40

【0259】

本技術に記載されている、又は本技術に知られているファージディスプレイ技術を用いて、ランダム化された抗物質、又はファージ粒子に同価結合しているファージライブラリーは、ファージターゲット抗原(例:CD117)と共にインキュベートすることができる。これは、ファージライブラリーを、最初にブロック剤(例:ミルクプロテイン、ウビーンセラルアルバミン、又はIgG)と共にインキュベートし、ファージエンコードしている抗物質、又はその断片を除去することにより、Fcドメインを結合している非固有のタンパク

50

質結合及びファージを示す、そして、ファージライブラリーを数多くの血液細胞とインキュベートすることによって、インキュベートすることができる。ファージライブラリーは、癌細胞、自己免疫細胞、または造血幹細胞のようなターゲット細胞と、細胞表面抗原特異的抗体、またはその抗原結合フラグメント(例えば、CD117特異的抗体、またはその抗原結合フラグメント)が、細胞表面抗原(例えば、細胞表面CD117)抗原に結合し、続いて癌細胞、自己免疫細胞、または造血幹細胞によって内在化されるのに十分な時間(例えば、4℃で1時間など、4℃で30分から6時間)、インキュベートすることができ、癌細胞、自己免疫細胞、または造血幹細胞に結合し、内在化させるのに十分な親和性を示さない抗体、またはその断片を含有し、癌細胞、自己免疫細胞、または造血幹細胞によって、細胞を、例えば、pH 2.8の低温(4℃)0.1Mグリシン緩衝液で洗浄することによって、その後除去することができる。たとえば、細胞を分解し、細胞媒体から内部化されたファージを取り戻すことによって、癌細胞、自己感染細胞、あるいは血液細胞によって内在化されたファージに結合されたファージ、あるいはそのフラグメントを同定することができる。次に、ファージは、例えば、当業者に知られている方法を用いて、回収されたファージと一緒に2xYT媒体で菌細胞をインキュベートすることによって、細菌細胞内で増幅することができる。この媒体から回収されたファージは、例えば、ファージゲノム内に挿入された、抗物質をエンコードする遺伝子またはそのフラグメントの核酸配列を決定することによって特徴づけることができる。コード化された抗生物質またはその断片は、その後、化学合成(例えば、scFvの断片のような抗菌断片のような)または組換え式(例えば、全長の抗上記の)によって新しく調製することができる。

10

20

【0260】

ここに記載された組成物及び方法で使用するための細胞表面抗原(例、抗CD117)抗毒素の体内進化のための例示的な方法はファージディスプレイである。ファージディスプレイライブラリーは、抗体のCDRまたは抗体様スキュフォールドの類似領域(例えば、10 F_n 3ドメインのBC、CD、およびDEループ)のコード配列内の設計された一連の変異または変異を作製することによって作製することができる。これらの突然変異が導入されるテンプレート・エコノミー・コード化のシーケンスは、例えば、純粋なヒトの生殖ラインシーケンスである。これらの突然変異は、当技術分野で公知の標準的突然変異誘発技術を用いて行うことができる。このようにして、各ミュータント配列は、1つ以上のアミノ酸の変形のための保存に対応するテンプレートに対応する1つの抗菌をコード化する。レトロバイラル及びファージディスプレイベクトルは、本技術で知られる通常のベクトル建設技術を用いてエンジニアリングすることができる。P3ファージディスプレイベクトルは、相性のあるタンパク質表現ベクトルとともに、ファージディスプレイベクトルを生成し、多様化させることができる。

30

【0261】

突然変異したDNAは配列の多様性を提供し、各形質転換ファージはDNAによってコードされる最初のテンプレートアミノ酸配列の1つの変形例を示し、膨大な数の異なるが構造的に関連したアミノ酸配列を示すファージ集団(ライブラリー)を生じる。このように、各領域の特徴が明確になっているため、ファージディスプレイスクリーンに導入されたアミノ酸のバリエーションは、結合ペプチドや領域の結合特性を変化させるものであり、その全体的な分子構造を著しく変化させるものではないと考えられている。

40

【0262】

典型的なスクリーンでは、ファージライブラリーは上記の抗原の1つまたはそのエピトープと接触し、結合することができる。バインダと非バインダの分離を容易にするために、固い保持体で標的を固定することが便利である。細胞結合部ベアリングのファージは、固い保持体上の標的と錯体を形成することができるが、非結合ファージは液体中にとどまり、余分な緩衝剤で洗い流すことができる。その後、緩衝液を極限のpH(pH 2またはpH 10)に変えたり、緩衝液のイオン強度を変えたり、デナチュランを加えたり、他の既知手段を加えたりして、バウンドファージを標的から放出することができる。

【0263】

50

その後、回収されたファージは細菌細胞の感染によって増幅されることができ、スクリーニングの過程を繰り返すことができる。新しいプールは、結合していない抗生物質で消耗し、標的抗原を結合する抗物質(例:CD117)のために強化される。少数の結合したファージでさえ回復することは、その後のスクリーニングを繰り返すためにファージを増幅するのに十分である。何回かの選択の後、結合プールの中で選択されたファージクローンから派生した、抗物質又は抗原結合フラグメントをエンコードする遺伝子配列は、通常の方法により決定される。それゆえ、ファージの標的への結合親和性を付与するペプチド配列を明らかにする。パンニング処理の間、集団の配列の多様性は、望ましいペプチド結合抗薬が残るまで、選択ラウンドごとに減少する。シーケンスは、少数の関連する抗生物質またはそれらの抗原結合フラグメントに収束することがある。選択の各ラウンドで回収されるファージの数の増加は、図書館の収束が画面に起こったことを示している。

10

【0264】

たとえば、以下の手順に従い、細胞表面の標的抗原(たとえばCD117)を結合する非人間の抗生物質を人間化することも、抗物質を識別するための別の方法である。コンセンサスのあるヒトの重鎖および軽鎖配列が本技術で知られている(例えば、「VBASE」のヒトゲルムライン配列データベース; Kabatらを参照)。Immunological Interest のタンパク質 Sequences, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242, 1991; Tomlinson et al., J生涯. 227:776-798, 1992; 1992年、Coxらユール。J. イミューノール。24:827836, 1994, 1994, これらの各々の開示は、本文中で引用することにより、それらが、コンセンサスである人間の検出重鎖および軽鎖配列に関するものであることを示している。確立された手順を用いて、当業者の1人は、コンセンサス・ニーズ・配列(例、配列・アラインメント)の可変ドメインフレームワーク残基およびCDRを識別することができる。本書に記載されているように、ヒトのコンセンサスとなっているコンセンサスとなっているヒトの有する重鎖および/または軽鎖可変領域のCDRを、細胞表面抗原(例:CD117)を結合する非ヒトの1つ以上の対応するCDRに置き換えることができる。このCDR交換は、ここに記載された、又は本技術に知られている遺伝子編集技術を用いて行うことができる。

20

【0265】

人間化抗物質を生成するために、1つ以上の可変領域CDRが細胞表面標的抗原(例:CD117)を結合する非ヒト抗原の1つ以上の可変領域CDR配列に置き換えられた、上記コンセンサス配列をエンコードするポリヌクレオチドを再結合して表現することができる。血液細胞抗原への抗原の親和性は、主としてCDR配列によって決定されるので、その結果生まれたヒト化された抗原は、ヒト化された抗原の由来となった非ヒト化された抗原とほぼ同じ数の血液細胞抗原との親和性を示すことが期待される。標的抗原に対する抗原の親和性を決定する方法は、特に、本技術で記載され周知のELISAに基づく技術、並びに表面プラズモン共鳴、蛍光アニソトロピー、同位体チテーションカロリメトリーを含む。

30

【0266】

例えば、当該技術に知られている放射性核種内部化アッセイを用いて、自己内在化能力、又はそのフラグメントを評価することができる。例えば、本明細書に記載される、または当技術分野で公知のインビトロディスプレイ技術を用いて同定される抗体またはその断片は、¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁷I、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹²⁹I、²¹¹I、⁶⁷At、⁷²Ga、¹¹¹In、¹²²Tc、¹⁶⁹Yb、¹⁸⁶Re、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、²²⁵Lu、⁷⁷As、⁸⁶Y、⁹⁹Y、⁸⁹Zr、²¹²Bi、²¹³Bi、または⁶⁷Acなどの放射性同位元素の取り込みにより官能化することができる。例えば、¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁷Br、¹²²I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹²⁹I、¹³¹I、²¹¹Aなどの放射性ハロジェンは、電気的ハロジェン試薬(例えば、イオディネーションビード、サーモフィッシャーサイエンティフィック、ケンブリッジ、マサ)を含むポリスチレンビードなどのビードを使用して、上記のビーズ、またはフラグメントに組み込むことができる。放射性標識された抗体、またはそのフラグメントは、癌細胞、自己免疫細胞、または造血幹細胞と、内部移行を可能にするのに十分な時間(

40

50

例えば、4℃で30分間～6時間、例えば、4℃で1時間)、インキュベートされ得る。その後、電池を洗浄して、内蔵されていない抗非、またはそれらの断片を除去することができる(例えば、pH 2.8の冷(4℃)0.1Mのグリシン緩衝液を使用する)。内部化された抗体またはそのフラグメントは、回収された洗浄バッファの放出された照射(例えば、γ照射)と比較して、得られた癌細胞、自己免疫細胞、または造血幹細胞の放出された照射(例えば、γ照射)を検出することによって同定することができる。

【0267】

アンチボディーは、例えば米国特許に記載されているように、組み換え方法及び組成を用いて製造され得る。4,816,567号。一実施の形態では、ここに記載されている抗菌をエンコードしている孤立した核酸が提供される。このような核酸は、VL及び/又は/又は、VHを含むアミノ酸配列(例えば、上記の軽鎖及び/又は重鎖)を含んでいるアミノ酸配列をコード化することができる。更なる実施の形態では、上記核酸を含む1つ以上のベクトル(例えば、表現ベクトル)が提供される。更なる実施の形態では、上記核酸を含む宿主細胞が提供される。上記実施形態の一例では、宿主細胞は、(1) VLを含むアミノ酸の配列を含むアミノ酸配列と、VHを含むアミノ酸の配列を示すアミノ酸の配列を示すベクトル、(2) および(2) VLを含むアミノ酸の配列を示すアミノ酸を含む第1ベクトルと、および、(VHを含むアミノ酸の配列を示すアミノ酸の配列を示す第2ベクトルを含む、(1) 宿主細胞を構成するベクトルから成る。1つの実施例において、宿主細胞は真核生物である。例えば、中国のハムスターオヴァリー(CHO)細胞又はリンゴ細胞(例えば、Y0、NS0、Sp20セル)。一実施の形態では、抗CLL-1抗菌を作る方法が提供される。この方法は、上記のように、当該抗菌の表現に適した条件下で、また任意にホスト細胞(又はホスト細胞培地)からの抗菌を回収することにより、核酸からなるホスト細胞を作る。

【0268】

例えば、上述のように、抗菌をエンコードしている核酸は、抗菌の組み換え生成のために、1つ以上のベクトルに分離され、さらにクローン化および/またはホスト細胞内での表現のために挿入される。このような核酸は、従来する方法(例えば、上記の重鎖および軽鎖をコード化する遺伝子に特定の結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用すること)を用いて、容易に分離および配列決定される。

【0269】

抗菌ベクトルのクローンまたは表現に適した宿主細胞には、ここに記載されている原核細胞または真核細胞が含まれる。例えば、特にグリコシル化とFcエフェクター機能が不要な場合、抗生物質がバクテリアで生産されることがある。バクテリア中の抗菌断片及びポリペプチドの表現については、例えば、米国特許を参照されたい。No.5,648,237, 5,789,199, 5,789,199、および5,840,523。(Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J., 2003), pp. 245-254、E. coliの中の抗菌断片の表現を参照のこと) 表現後、この抗菌は溶解分に含まれる細胞ペーストから分離され、さらに浄化される可能性がある。

【0270】

垂直電池は宿主としても使用される。例えば、懸濁状態で成長するように適応した哺乳類細胞系が有用である。有用な哺乳類宿主細胞系の他の例としては、SV40(COS-7)によって変換されたサルのキドニー細胞(Grahamら、J. Gen Virol. 36:59(1977))、マウスセルトリ細胞(Mather, Biol. Reprodなどに記載されたTM4細胞)がある。23:243-251 (1980); サルのキドニー細胞(VERO-76); ヒトの内臓細胞(HELA); イヌのキドニー細胞(MDCK; バッファローの肝臓細胞(BRL 3A); ヒトの肺細胞(Hep G2); マウスのママリー細胞(MMT 060562); TRI細胞(Mather et al. N.Y.)アカド。科学383:44-68 (1982); (1982); MRC 5細胞; およびFS4細胞。その他の有用な哺乳類宿主細胞系には、DHFRCHO細胞(Urlaubら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980))を含む中国ハムスター卵巣(CHO)細胞、およびY0、NS0およびSp2/0のような骨髄細胞系が含まれる。抗菌製造に適した哺乳動物のホスト細胞系のレビューについては、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C.

10

20

30

40

50

Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J.), pp. 255-268 (2003)を参照。

【0271】

医薬組成物

ここに記載されるADCは、様々な量の形態で、患者(例えば、感染症またはガンに苦しむ人)に管理することができる。例えば、ここに記載されるADCは、1種以上の薬事的に受け入れられる補助剤を含む水性液体のような水性液体の形成で、病気またはガンに苦しむ患者に与えられる。本明細書中に記載される組成物および方法と共に使用するための適切な薬学的に許容される賦形剤は、粘度改变剤を含む。水溶液は、既知の技術を用いて殺菌することができる。

【0272】

本明細書に記載されるようなADCを含む医薬製剤は、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で、このようなADCを1つ以上の任意の薬学的に許容可能な担体(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980))と混合することによって調製される。薬学的に許容される担体は、一般に、使用される用量および濃度でレシピエントに対して非毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩および他の有機酸などの緩衝液;酸化防止(オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライドなど;塩化ベンザルコニウム;フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール;メチルまた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;3-ペンタノール;およびm-クレゾール);低分子量(約10残基未満)ポリペプチド;タンパク質(例えば、血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリン);親水性ポリマー(例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、またはリジン);単糖、二糖類を含むが、これらに限定されない およびグルコース、マンノースまたはデキストリンを含む他の炭水化物;EDTAのようなキレート剤;スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトールのような糖;ナトリウムのような塩を形成する対イオン;金属錯体(例えば、Zn-タンパク質複合体);および/または非イオン性界面活性剤 ポリエチレングリコール(PEG)など。

【0273】

使用の方法

本書に記載されるADCは、口頭、経皮、皮下、皮内、静脈、筋肉内、眼内、親愛のような様々な経路によって管理され得る。任意の所与の場合における投与のための最も適切な経路は、投与される特定の抗体、または抗原結合フラグメント、患者、医薬製剤方法、投与方法(例えば、投与時間および投与経路)、患者の年齢、体重、性別、治療される疾患の重症度、患者の食事、および患者の排泄速度に依存する。

【0274】

ここに記載されたADCの有効量、つまり、抗原結合フラグメントは、例えば、シングル(ボラス)の行政、複数の行政、または継続的な行政、または、最適な血清濃度(例えば、0.0001-5000mm/mlの血清濃度)、抗原結合フラグメントを達成するために、約0.001~約100kg/kgの範囲である。1日に1回以上(例:2~10回)、週に1回、月に1回以上、ガン、自己感染症、血液細胞移植の準備のためのコンディショニングセラピーなどに苦しむ被検者(例:ヒト)に治療を行う。造血幹細胞移植前のコンディショニング手順の場合、ADC、抗体、またはその抗原結合フラグメントは、外因性造血幹細胞の生着を最適に促進する時間、例えば、外因性造血幹細胞移植の投与前の1時間~1週間(例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日)以上、患者に投与することができる。

【0275】

本稿に述べるように、血液細胞移植治療は、治療を必要とする被検者に1種類以上の血球を移入または再定着させるために実施することができる。造血幹細胞は一般的に多分化能を示し、したがって、顆粒球(例えば、前骨髄球、好中球、好酸球、好塩基球)、赤血球(

10

20

30

40

50

例えば、網状赤血球、赤血球)、血小板(例えば、巨核芽球、血小板産生巨核球、血小板)、単球(例えば、単球、マクロファージ)、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、およびリンパ球(例えば、NK細胞、B細胞およびT細胞)を含むが、これらに限定されない複数の異なる血液系統に分化することができる。さらに、造血幹細胞は、自己複製能力を有し、したがって、母細胞と同等の能力を有する娘細胞を生じさせることができ、また、移植レシピエントに再導入される能力を特徴とし、その際、それらが造血幹細胞ニッチに帰着し、再増殖的かつ持続的な造血を確立することができる。

【0276】

したがって、造血幹細胞は、インビボで細胞の欠損または欠損集団を再構成するために、造血系列の1つ以上の細胞型が欠損または欠損している患者に投与することができ、それにより、内因性血球集団における欠損または欠損に関連する病理を治療する。したがって、本明細書に記載の組成物および方法は、非悪性異常ヘモグロビン症(例えば、鎌状赤血球貧血、サラセミア、ファンコニ貧血、再生不良性貧血、およびウイスコットアルドリッチ症候群からなる群から選択される異常ヘモグロビン症)を治療するために使用することができる。加えて、または、代替的に、ここに記載される組成物及び方法は、例えば先天性のウイルスのような、ウイルスを治療するために使用することができる。加えて、または、代替的に、ここに記載される組成物及び方法は、後天的なウイルス(例えば、HIV及び助剤から成るグループから選択された後天的なウイルス)を治療するために使用することができる。本明細書に記載の組成物および方法は、代謝障害(例えば、グリコーゲン蓄積症、ムコ多糖症、ゴーシェ病、ハーラーズ病、スフィンゴ脂質症、および異染性白質ジストロフィーからなる群から選択される代謝障害)を治療するために使用することができる。

加えて、または、代替的に、ここに記載される組成物及び方法は、悪性または拡散性障害、例えば、数学的ガン、ミロロリフェラティブ病を治療するために使用することができる。癌治療の場合には、移植細胞が内生細胞枯渇工程によって作られたニッチに帰着し、生産的な血液細胞を確立することができる、血液細胞移植治療の前に内生血液細胞の集団を減少させるために、ここに記載された組成及び方法を患者に施すことができる。これは、次に、全身化学療法の間のような、癌細胞根絶の間に枯渇した細胞の集団を再構成することができる。記載された組成物および方法を用いて治療することができる例示的な血液がんには、急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、多発性骨髄腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、および非ホジキンリンパ腫、ならびに神経芽細胞腫を含む他の癌性状態が含まれるが、これらに限定されない。

【0277】

本明細書に記載される組成物および方法で治療することができるさらなる疾患は、限定されるものではないが、アデノシンデアミナーゼ欠損症および重度複合免疫不全症、高免疫グロブリンM症候群、チェディアック-東病、遺伝性リンパ組織球症、大理石骨病、骨形成不全症、蓄積症、主要サラセミア、全身性硬化症、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、および若年性関節リウマチを含む。

【0278】

ここに記載された抗原結合フラグメント、および共役は、固形臓器移植耐性を誘発するために使用されうる。例えば、ここに記載された組成物及び方法は、標的組織からの細胞の集団を枯渇させるか、または消耗させるために使用され得る(例えば、骨髄細胞ニッチからの赤血球細胞を枯渇させるため)。標的組織からの細胞がこのように枯渇した後、臓器供与者(例えば、臓器供与者からの造血幹細胞)の集団を移植受取人に施すことができ、また、そのような茎または前駆細胞の接ぎ木後、一時的または安定した混合キメラズムが達成され、それによって、さらなる予防剤の必要なしに長期的な移植臓器耐性を可能にする。例えば、ここに記載された組成物及び方法は、固形臓器移植の受取人(例えば、移植、肺移植、肝臓移植、心臓移植など)に移植耐性を誘発するために用いられることができる。本書に記載されている組成物及び方法は、固形臓器移植耐性の誘導に接続して使用するのに適している。例えば、一時的又は安定した供与者の接ぎ木の割合が低く、移植臓器の

10

20

30

40

50

長期耐性を誘発するのに適しているからである。

【0279】

加えて、ここに記載された組成物及び方法は、CD117+の細胞によって特徴づけられるガンのような、がんを直接治療するために使用することができる。例えば、本書に記載された組成物及び方法は、特にCD117+白血病細胞を示す患者において、白血病を治療するために使用することができる。白血球のようなCD117+のガン細胞を枯渇させることによって、本書に記載される組成物及び方法は、各種ガンを直接治療するために使用することができる。このようにして治療され得る例示的な癌は、急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、多発性骨髄腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、および非ホジキンリンパ腫などの血液がんを含む。

10

【0280】

急性骨髄性白血病(AML)は血球の骨髄系のがんで、異常な白色血球が急速に成長して骨髄中に蓄積し、正常な血球の産生を妨げることを特徴とします。AMLは大人が罹患する最も一般的な急性白血病であり、その発生率は年齢とともに増加する。急性骨髄性白血病の症状は、正常な骨髄が白血病細胞に置換されることによって引き起こされ、その結果、赤血球、血小板、正常な白血球の血球が低下します。急性白血病として、AMLは急速に進行し、放置すると数週間またはヶ月以内に致死的となることがある。一実施の形態において、ここに記載される反CD117ADCは、それを必要としている人間の患者のAMLを治療するために使用される。特定の実施形態において、反CD117 ADC処理は、処理された被検者のAML細胞を枯渇させる。ある実施例では、AML細胞の50%以上が枯渇する。他の実施形態では、AML細胞の60%以上が枯渇するか、またはAML細胞の70%以上が枯渇するか、またはAML細胞の80%以上または90%以上、または95%以上が枯渇する。特定の実施形態においては、CD117 ADC対策は1回の治療である。特定の実施形態において、シングルドレージ・防CD117 ADC処理は、AML細胞の60%、70%、80%、90%又は95%以上を枯渇させる。

20

【0281】

加えて、本書に記載された組成物及び方法は、自治体障害を治療するために使用することができる。たとえば、CD117+の細胞を殺すために、自己感染症に苦しむ人のような被検者に、抗原結合フラグメント、すなわち抗原結合フラグメントを与えることができる。CD117+免疫細胞は、T細胞レセプターを発現し、自己抗原に対する免疫応答を実行するT細胞のような自己反応性リンパ球であってもよい。自己反応性のCD117+電池を枯渇させることによって、本書に記載されている組成物及び方法は、以下に述べるような自己反応性病理を治療するために使用することができる。さらに、または、代替的に、ここに記載される組成と方法は、移植細胞が内生細胞枯渇工程によって作られたニッチに帰着し、生産的な血液貯留を確立することができる、血液細胞移植治療の前に内生の血液細胞の集団を減少させることによって、自己感染病を治療するために使用することができる。これは、次に、自己免疫細胞根絶の間に枯渇した細胞の集団を再構成することができる。

30

【0282】

本明細書に記載される組成物および方法を用いて治療することができる自己免疫疾患には、限定されるものではないが、乾癬、1型糖尿病(RA)、関節リウマチ(SLE)、ヒト全身性ループス(MS)、炎症性腸疾患(IBD)、リンパ球性大腸炎、急性散在性脳脊髄炎(ADDEM)、アジソン病、強直性脊椎炎、抗リン脂質抗体症候群(APS)、再生不良性貧血、自己免疫性内耳疾患(AIED)、自己免疫性リンパ増殖性症候群(ALPS)、自己免疫性卵巣炎、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、慢性疲労性免疫不全症候群(CFIDS)、慢性炎症性脱髓鞘性多発ニューロパチーが含まれる クローン病、瘢痕性類天疱瘡、コエリアックスブルー皮膚炎、寒冷凝集素症、デゴス病、円板状エリテマトーデス、自律神経異常症、本態性混合クリオグロブリン血症、線維筋痛症-線維筋炎、グッドパスチャー症候群、Guillain-Barre症候群(GBS)), 橋本甲状腺炎、化膿性汗腺炎、特発性及び/又は急性血小板減少性紫斑病、IgAニューロパチー、若年性関節炎、川崎病、ライム病、メニエール病、混合性結合組織病(MCTD)、重症筋無力症、神経筋強直症、視神経炎、尋常性天疱瘡、悪

40

50

性貧血、多発性軟骨炎及び皮膚筋炎、原発性胆汁性肝硬変、結節性多発動脈炎、リウマチ性多発筋痛症、原発性無ガンマグロブリン血症、レイター症候群、リウマチ熱、強皮症シェーグレン症候群、こわばり人症候群、高安動脈炎、側頭動脈炎(「巨細胞性動脈炎」としても知られる)、潰瘍性大腸炎、ぶどう膜炎、血管炎、白斑、外陰部痛(「外陰前庭炎」)、ヴェーゲナー肉芽腫症。

【0283】

実施例

以下の実施例は、ここに記載された組成物及び方法がどのように使用され、作られ、評価され、本開示の純粋に模範的なものであることを意図し、発明者が発明とみなす範囲を限定することを意図したものではないことを、当業者に提供するために、提示されている。

【0284】

実施例1.抗CD117-PNU ADCによるin vitro細胞死滅アッセイ

ヒトCD34+骨髄細胞を用いたin vitro細胞殺菌アッセイのために、ヒトCD34+骨髄細胞をPNU(防CD117-PNU)に結合された抗CD117(CK6)の存在下で5日間にわたって栽培し、ADCを形成した。対照として、電池をヒトIgG1同型PNU ADC(すなわちIsotype-PNU)と交互にインキュベートし、フローサイトメトリーによりすべての電池またはCD34+CD90+ゲート電池について生電池数を決定した。

その結果、図が得られた。1A-1Cは、抗CD117-PNU ADCが、インビトロで初代ヒトCD34+CD90+骨髄細胞を殺傷するのに非常に効果的であったことを示す。図1Cに示すように、同型ADCのための1000倍の殺人窓がある。

[表3]

【0285】

実施例2.in vitro細胞死滅アッセイ

Anti-CD117 bid CK6(Fc改良S239C付き)をPNU、PBD、D4(カリケアマイシン)、またはDM1(デュオカルミシン)に結合した。各ADCは、霞-1細胞または一次ヒト幹細胞における細胞殺害分析で評価された。

【0286】

霞-1細胞を用いた体内殺菌法では、ATCCガイドラインに従って霞-1細胞を育成した。より具体的には、Kasumi-1細胞を、示されたCD117-ADCまたは制御(アイソタイプADC)の存在下で培養した。CellTiter-Gloにより、すべての電池またはCD117(-)電池の電池生存性を測定した。ヒトHSC(すなわち、単離された初代ヒトCD34+選択された骨髄細胞(BMC))を用いるin vitro殺傷アッセイのために、ヒトCD34+BMCを、示されたCD117-ADCまたは制御(アイソタイプ-ADC)とともに培養した。フローサイトメトリーにより、CD34+CD90+ゲート化細胞について生細胞数を測定した。

【0287】

霞電池殺菌法の結果は下表(表4)と図表のようになっている。2Aと2B。図2Aに示すように、反CD117ADCは、霞電池の殺菌能力の度合い(PNU>PBD)>>D4、DMの順)を異にした。これらの結果は、PNUが強力な殺傷を示すが、他の毒素は示さないことを示している。図2Bに示すように、CD117(-)細胞において活性は観察されなかった。

【0288】

[表4]

ヒトCD34+電池殺害アッセイの結果は下の表(すなわち表5)と図2Cに示されている。抗CD117 ADCは、hCD34電池において異なる程度の殺傷効力を示した(効力の順が最大から最小: PBD > PNU = デュオカルマイシン > カリケアマイシン)。

【0289】

[表5]

【0290】

実施例3.抗CD117 ADCを有するhNSGマウスにおけるin vivo HSC枯渇

血液細胞に対して強力な活性を持つ毒素を同定するために、異なる毒素(PNU、PBD、D4およびDM1)に結合した反CD117によるin vivo HSC減少をhNSGマウスで評価した

10

20

30

40

50

。防CD117-3100は、PNU (DNAトポイソメリアーズI/II阻害剤)、PBD (DNA架橋剤)、D4(カリケアミン)、またはDM1(デュオカルマイシン)に結合した(DAR 2 ss)。標準人間化NSG雌マウス(Jackson Laboratories)に、下表に概略した量の1つに抗CD117 ADC(n=3マウス/群)を点滴で与えた。投与7日目、14日目又は21日目に血液及び骨髓を採取し、フローサイトメトリー(Blood FC: mCD45、hCD45、CD33、CD19、CD3; Bone Marrow FC: mCD45、hCD45、CD33、CD19、CD3、CD38、CD34、CD117、CD90、CD45RA)により評価した。

【0291】

[表6]

【0292】

図3Aは、投与1週間後、2週間後、または3週間後に、示されたADCで処置されたマウスにおいて、ベースラインに対して正常化されたhCD33細胞の割合を示す。以上の結果から、抗CD117-PNU、抗CD117-PBD及び抗CD117-D4は0.3mg/kgで骨髓系細胞を枯渇させた。

【0293】

示されたADCで処置し、投与1週後、2週後、または3週後の投与量で処置したマウスにおけるhCD34+細胞のパーセンテージおよび大腿骨あたりのhCD34+数を図に示す。3Bと3C。これらの結果は、防CD117-PNU、防CD117-PBD、および防CD117-D4が0.3mg/kgでCD34+電池を枯渇させたことを示す。

配列表

【0294】

その他の実施形態

本明細書で言及されている全ての出版物、特許、特許出願は、各独立出版物又は特許出願が、引用により具体的かつ個別に組み込まれることを指摘されたかのように、ここに同程度の引用文献として組み込まれている。

【0295】

本開示は、その特定の実施形態に関連して発明されてきたが、それはさらなる修正が可能であり、本出願は、本開示の原則に従い、また、本開示に関する既知の又は慣習的な実施からの逸脱を含む、本開示のあらゆるバリエーション、使用、又は、本開示の適応をカバーすることを意図していると理解される。本開示は、先にここに記載された本来の特徴に関連しており、上記、本請求の範囲に従うであろう本技術における本開示からの逸脱を含む。他の実施形態は、請求項の範囲内である。

10

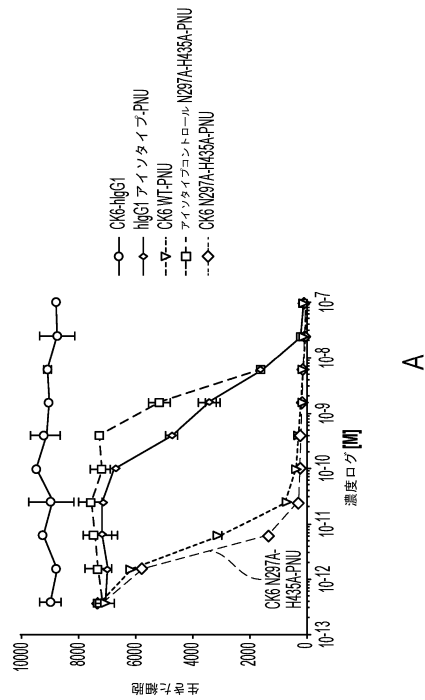
20

30

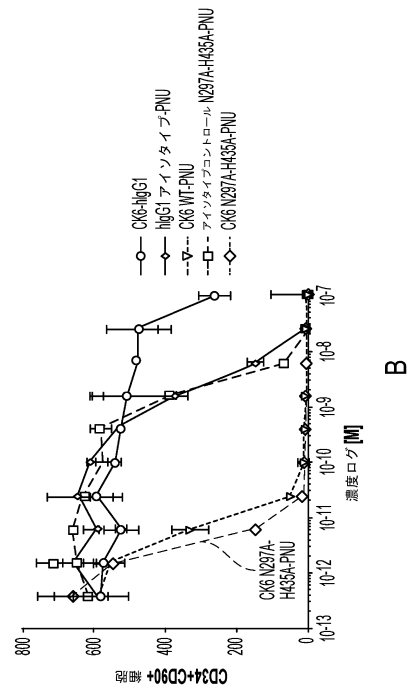
40

50

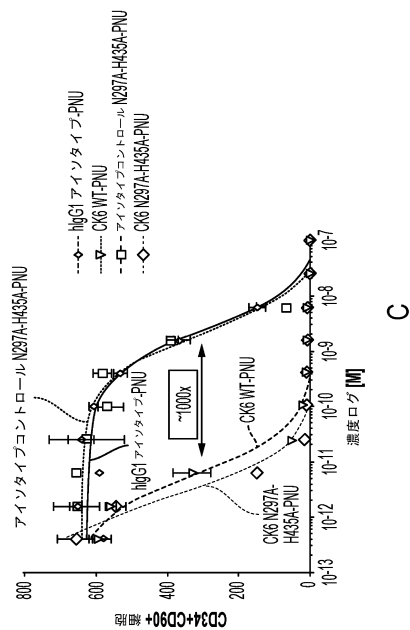
【図面】
【図 1 A】



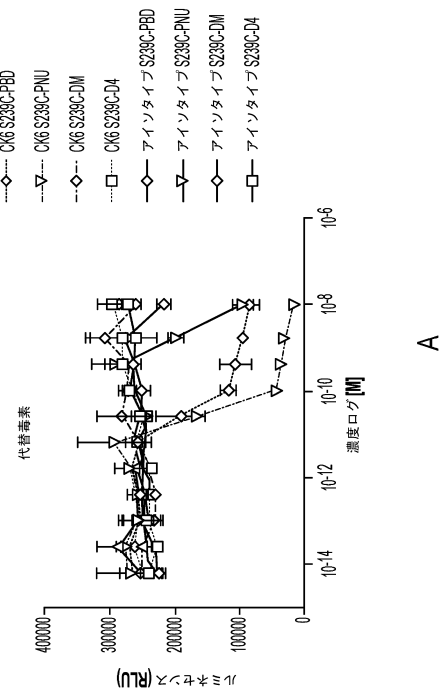
【図 1 B】



【図 1 C】



【図 2 A】



10

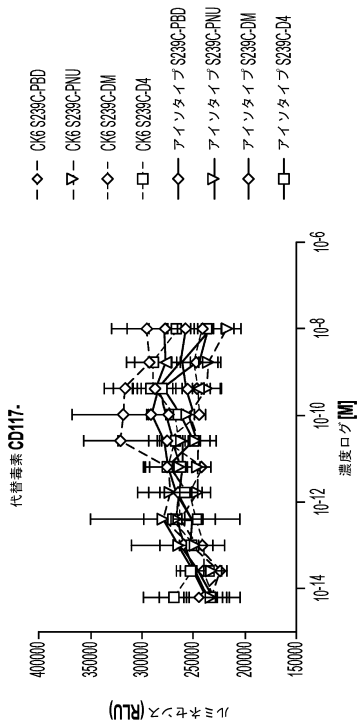
20

30

40

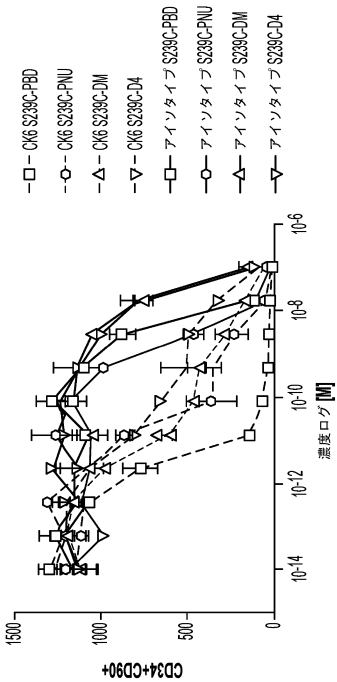
50

【図 2 B】



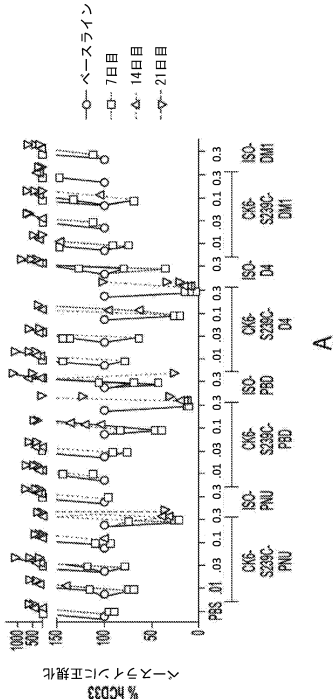
B

【図 2 C】



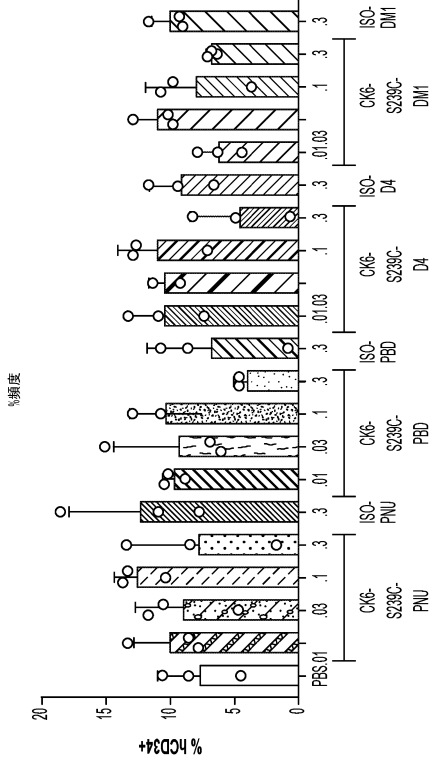
C

【図 3 A】



A

【図 3 B】



B

10

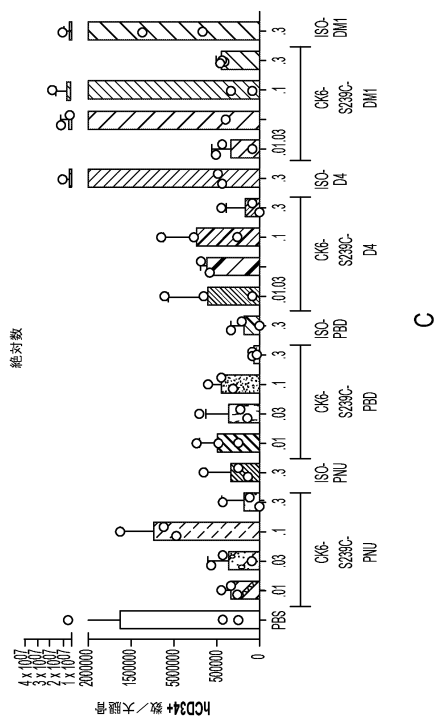
20

30

40

50

【図 3 C】



【配列表】

2022530442000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US20/29656

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - C07K 16/28; C07C 13/62; A61K 31/122; 39/395; 47/68 (2020.01)

CPC - C07K 16/2896; C07C 13/62; A61K 31/122; 39/39533; 47/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

See Search History document

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

See Search History document

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

See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2017/0360954 A1 (MAGENTA THERAPEUTICS INC.) 21 December 2017; abstract; paragraphs [0003], [0004], [0008], [0009], [0016], [0124]	1-4, 5/1-4, 6/1-4
A	STEFAN, N. et al. 'Highly Potent, Anthracycline-based Antibody-Drug Conjugates Generated by Enzymatic, Site-specific Conjugation'. Mol. Can. Therapeutics; May 2017; Vol. 16(5); pg. 879-892; DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-16-0688; abstract, page 880, second column, second paragraph; page 881, first column, third paragraph; page 882, first column, third paragraph - second column, second paragraph; Figures 1C, 1D.	1-4, 5/1-4, 6/1-4
A	US 2016/0324982 A1 (PRESIDENT AND FELLOWS OF HARVARD COLLEGE et al.) 20 November 2016; abstract, paragraphs [0005], [0011], [0017], [0024]	1-4, 5/1-4, 6/1-4
A	US 2017/0247440 A1 (HOFFMANN-LA ROCHE INC.) 31 August 2017; abstract, paragraphs [0009], [0049], [0050], [0065], SEQ ID NOs: 88 (97.8% identical to SEQ ID NO: 10), 89 (100% identical to SEQ ID NO: 14); and 90 (100% identical to SEQ ID NO: 15)	1, 2, 4, 5/1, 5/2, 5/4, 6/1, 6/22, 6/4
A	US 2012/0058906 A1 (SMIDER V et al.) 08 March 2012; abstract, paragraphs [0007], [0009], [0020]; SEQ ID NO: 1719 (89.0% identical) and SEQ ID NO: 12 (93.8% identical - SEQ 1719, residues 51-68).	1, 2, 4, 5/1, 5/2, 5/4, 6/1, 6/22, 6/4
A	US 8,722,587 B2 (MASON, N.) 13 May 2014; abstract, Column 5, lines 14-21; Column 60, lines 3-7; SEQ ID NO: 101, residues 27-35 are 87.5% identical to SEQ ID NO: 11	1, 4, 5/1, 5/4, 6/1, 6/4
A	US 2007/0044171 A1 (KOVALIC, D.K. et al.) 22 February 2007; abstract, paragraphs [0006], [0010]; SEQ ID NO: 139,098 is 67.1% identical to SEQ ID NO: 13	1, 4, 5/1, 5/4, 6/1, 6/4

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 September 2020 (11.09.2020)

Date of mailing of the international search report

01 OCT 2020

Name and mailing address of the ISA/US
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Shane Thomas

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US20/29656

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2017/0088620 A1 (AMGEN INC.) 30 March 2017; abstract, paragraph [0006], SEQ ID NO: 17,332 is a 91.7% match to SEQ ID NO: 16	1, 4, 5/1, 5/4, 6/1, 6/4
A	US 2017/0342169 A1 (ABBVIE BIOTHERAPEUTICS INC.) 30 November 2017 abstract; paragraphs [0137], [0403]; SEQ 372 is 99.1% identical to SEQ ID NO: 109	3, 4, 5/3, 5/4, 6/3, 6/4
A	US 2006/0121580 A1 (Ter Meulen, J.H. et al.) 08 June 2006; abstract; SEQ 125 is 96.7% identical to SEQ ID NO: 110	3, 4, 5/3, 5/4, 6/3, 6/4
P,Y	US 2019/0153114 A1 (MAGENTA THERAPEUTICS INC.) 23 May 2019; abstract, paragraphs [0010], [0011], [0015], [0138]	1-4, 5/1-4, 6/1-4
P,Y	WO 2019/084053 A1 (MAGENTA THERAPEUTICS INC.) 02 May 2019; abstract, page 2, first paragraph; page 3, seventh paragraph;	1-4, 5/1-4, 6/1-4
P,X	WO 2019/084057 A2 (MAGENTA THERAPEUTICS INC.) 02 May 2019; abstract, page 2, lines 19-31; page 4, lines 14-21; page 6, lines 17-20; page 8, lines 16-18; page 9, lines 9-12; page 10, lines 1-5; page 22, lines 7-11; SEQ ID NOs: 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16,	1-4, 5/1-4, 6/1-4
P,Y	WO 2019/084064 A2 (MAGENTA THERAPEUTICS INC.) 02 May 2019; abstract, page 2, second paragraph; page 3, first paragraph; page 3, fifth paragraph; page 14, second paragraph	1-4, 5/1-4, 6/1-4
P,Y	WO 2019/084067 A1 (MAGENTA THERAPEUTICS INC.) 02 May 2019; abstract; page 2, lines 19-30; page 6, lines 17-20; page 7, lines 24-26; SEQ ID NOs: 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16	1-4, 5/1-4, 6/1-4
P,X	WO 2020/086776 A1 (MAGENTA THERAPEUTICS INC.) 30 April 2020; abstract; page 2, lines 8-10; page 10, lines 24-26; page 13, lines 12-15; page 15, lines 11-13; page 16, lines 1-9; page 17, lines 8-24; page 49, line 20 - page 50, line 6; page 120, line 24 - page 121, line 14; SEQ ID NOs: 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355,	1-4, 5/1-4, 6/1-4
P,X	WO 2020/092655 A1 (MAGENTA THERAPEUTICS INC.) page 1, line 30 - page 2, line 7; page 5, lines 8-14; page 99, line 23 - page 101, line 5; Table 3; SEQ ID NOs: 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16	1-4, 5/1-4, 6/1-4

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US20/29656

Box No. II	Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:	
1. ☐	Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐	Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒	Claims Nos.: 7-24 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).
Box No. III	Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:	
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.	
Groups I+, Claims 1-6, Ab67 (antibody); SEQ ID No: 110 (HC), SEQ ID No: 9 (HVR), SEQ ID No: 11 (HCDR1), SEQ ID No: 12 (HCDR2), SEQ ID No: 13 (HCDR3); SEQ ID No: 109 (LC), SEQ ID No: 11 (LVR), SEQ ID No: 14 (LCDR1), SEQ ID No: 15 (LCDR2), and SEQ ID No: 16 (LCDR3) are directed toward antibody-drug conjugates.	
-***Please See Extra Sheet-***	
1. ☐	As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐	As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐	As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒	No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-6 (each in-part)
Remark on Protest	☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee. ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation. ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US20/29656

-***-Continued from Box III: Observations where unity of invention is lacking -***-

The antibody-drug conjugates will be searched to the extent they encompass Ab67 (first exemplary antibody); SEQ ID No: 110 (first exemplary HC), SEQ ID No: 9 (first exemplary HVR), SEQ ID No: 11 (first exemplary HCDR1), SEQ ID No: 12 (first exemplary HCDR2), SEQ ID No: 13 (first exemplary HCDR3); SEQ ID No: 109 (first exemplary LC), SEQ ID No: 11 (first exemplary LVR), SEQ ID No: 14 (first exemplary LCDR1), SEQ ID No: 15 (first exemplary LCDR2), and SEQ ID No: 16 (first exemplary LCDR3). Applicant is invited to elect additional antibody(ies), with specified name thereof, and associated SEQ ID NOs: for each, such that the sequence of each elected species is fully specified (i.e. no optional or variable residues or substituents), and where available as an option within at least one searchable claim, to be searched. Additional antibody(ies) will be searched upon the payment of additional fees. It is believed that claims 1-6 (each in-part) encompass this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass Ab67 (antibody); SEQ ID No: 110 (HC), SEQ ID No: 9 (HVR), SEQ ID No: 11 (HCDR1), SEQ ID No: 12 (HCDR2), SEQ ID No: 13 (HCDR3); SEQ ID No: 109 (LC), SEQ ID No: 11 (LVR), SEQ ID No: 14 (LCDR1), SEQ ID No: 15 (LCDR2), and SEQ ID No: 16 (LCDR3). Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be Ab85 (antibody); SEQ ID No: 275 (HC), SEQ ID No: 243 (HVR), SEQ ID No: 245 (HCDR1), SEQ ID No: 246 (HCDR2), SEQ ID No: 247 (HCDR3); SEQ ID No: 284 (LC), SEQ ID No: 244 (LVR), SEQ ID No: 248 (LCDR1), SEQ ID No: 249 (LCDR2), and SEQ ID No: 250 (LCDR3).

No technical features are shared between the antibody sequences of Groups I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features including: an antibody-drug conjugate (ADC) comprising an anti-CD117 antibody, or an antigen binding portion thereof (Ab), conjugated to a cytotoxin (Cy) via a linker (L), wherein the cytotoxin comprises an anthracycline, and wherein the anti-CD117 antibody, or antigen binding portion thereof, comprises a heavy chain comprising a heavy chain variable region comprising a CDR1, CDR2, and CDR3; and a light chain comprising a light chain variable region comprising a CDR1, CDR2, and CDR3; however, these shared technical features are previously disclosed by US 2017/0360954 A1 to Magenta Therapeutics, Inc. (hereinafter 'Magenta').

Magenta discloses an antibody-drug conjugate (ADC) comprising an anti-CD117 antibody, conjugated to a cytotoxin (an antibody-drug conjugate (ADC) comprising an anti-CD117 antibody, conjugated to a cytotoxin; paragraph [0004]) via a linker (via a linker; paragraph [0032], [0276]), wherein the cytotoxin comprises an anthracycline (wherein the cytotoxin comprises an anthracycline; paragraphs [0009], [0124]), and wherein the anti-CD117 antibody, or antigen binding portion thereof, comprises a heavy chain comprising a heavy chain variable region comprising a CDR1, CDR2, and CDR3 (wherein the anti-CD117 antibody, or antigen binding portion thereof, comprises a heavy chain comprising a heavy chain variable region comprising a CDR1, CDR2, and CDR3; paragraph [0279]); and a light chain comprising a light chain variable region comprising a CDR1, CDR2, and CDR3 (a light chain comprising a light chain variable region comprising a CDR1, CDR2, and CDR3; paragraph [0279]).

Since none of the special technical features of the Groups I+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Magenta reference, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

(51)国際特許分類

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

F I

C 1 2 N 15/13

テーマコード (参考)

Z N A

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

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 1 8 9 0 ウィンチェスター フェルズ ロード 2 7

(72)発明者 アンソニー ボイタノ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 6 8 ニュートン イブリン ロード 2 7

(72)発明者 マイケル クック

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 0 ボストン パーキンズ ドライブ 2 4 1 ビー 2 0 1

(72)発明者 ガナパシー エヌ サーマ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 7 8 ベルモント クリーリー ロード 6 0

(72)発明者 ラジブ パンワール

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 1 7 2 0 アクトン アデライン ウェイ 1 1

F ターム (参考) 4C076 AA95 CC27 EE59

4C085 AA14 BB11 CC23 EE01 GG01 GG02 GG03 GG04

4C086 AA01 AA02 CB22 GA09 GA16 MA01 MA04 MA55 MA58 MA63
MA66 NA14 ZB27

4H045 AA11 AA30 BA10 BA50 DA76 EA28 FA74