

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-500335
(P2024-500335A)

(43)公表日 令和6年1月9日(2024.1.9)

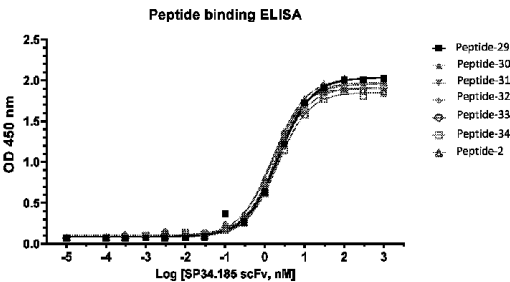
(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/11 (2006.01)	C 1 2 N	15/11	Z	4 C 0 7 6
C 0 7 K	7/08 (2006.01)	C 0 7 K	7/08	Z N A	4 C 0 8 5
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00		4 H 0 4 5
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28		
C 0 7 K	14/76 (2006.01)	C 0 7 K	14/76		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全120頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2023-534635(P2023-534635)		(71)出願人	523168825	
(86)(22)出願日	令和3年12月7日(2021.12.7)			ジャナックス セラピューティクス, インク.	
(85)翻訳文提出日	令和5年8月7日(2023.8.7)			アメリカ合衆国 9 2 1 3 0 カリフォルニア州 サンディエゴ ビスタ・ソレント・パークウェイ 1 0 9 5 5 スイート 2 0 0	
(86)国際出願番号	PCT/US2021/062233		(74)代理人	110003797	
(87)国際公開番号	WO2022/125562			弁理士法人清原国際特許事務所	
(87)国際公開日	令和4年6月16日(2022.6.16)		(72)発明者	キャンベル, デビッド	
(31)優先権主張番号	63/122,820			アメリカ合衆国 9 2 1 3 0 カリフォルニア州 サンディエゴ ビスタ・ソレント・パークウェイ 1 0 9 5 5 スイート 2 0 0	
(32)優先日	令和2年12月8日(2020.12.8)		(72)発明者	ディライモンド, トーマス アール.	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)			最終頁に続く	
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,最終頁に続く				

(54)【発明の名称】 抗 C D 3 結合ドメインのためのペプチド組成物および方法

(57)【要約】

【解決手段】 健常組織における C D 3 への抗 C D 3 結合ドメインの結合を選択的に損なうが、疾患状態では損なわないペプチドを含むポリペプチドおよびポリペプチド複合体組成物が本明細書で開示される。

【選択図】 図 5 A



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

分化抗原群 3 (CD3) への抗 CD3 結合ドメインの結合を損なうペプチドを含む、単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体であって、前記ペプチドは、配列番号 1～2 および 19～55 から選択されるアミノ酸配列を含み、または前記ペプチドは、配列番号 1～2 および 19～55 から選択されるアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含む、単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 2】

前記ペプチドは配列番号 1～2 および 19～55 から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

10

【請求項 3】

前記ペプチドは配列番号 1 のアミノ酸配列を含む、請求項 2 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 4】

前記ペプチドは配列番号 2 のアミノ酸配列を含む、請求項 2 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 5】

前記ペプチドは配列番号 54 のアミノ酸配列を含む、請求項 2 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

20

【請求項 6】

CD3 への抗 CD3 結合ドメインの結合を損なうペプチドに連結される抗 CD3 結合ドメインを含む、単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体であって、前記ペプチドは、 $Z_1-Z_2-C-Z_4-P-Z_6-Z_7-Z_8-Z_9-Z_{10}-Z_{11}-Z_{12}-C-Z_{14}$ によるアミノ酸配列を含み、 Z_1 は D、Y、F、I、N、V、H、L、A、T、S、および P から選択され、 Z_2 は D、Y、L、F、I、N、A、V、H、T、および S から選択され、 Z_4 は G および W から選択され、 Z_6 は E、D、V、および P から選択され、 Z_7 は W、L、F、V、G、M、I、および Y から選択され、 Z_8 は E、D、P、および Q から選択され、 Z_9 は E、D、Y、V、F、W、P、L、および Q から選択され、 Z_{10} は S、D、Y、T、I、F、V、N、A、P、L、および H から選択され、 Z_{11} は I、Y、F、V、L、T、N、S、D、A、および H から選択され、 Z_{12} は F、D、Y、L、I、V、A、N、T、P、S、および H から選択され、 Z_{14} は D、Y、N、F、I、P、V、A、T、H、L、および S から選択される、単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

30

【請求項 7】

Z_1 は D、Y、F、I、および N から選択され、 Z_2 は D、Y、L、F、I、および N から選択され、 Z_4 は G および W から選択され、 Z_6 は E および D から選択され、 Z_7 は W、L、F、および V から選択され、 Z_8 は E および D から選択され、 Z_9 は E、D、Y、および V から選択され、 Z_{10} は S、D、Y、T、および I から選択され、 Z_{11} は I、Y、F、V、L、および T から選択され、 Z_{12} は F、D、Y、L、I、V、A、および N から選択され、 Z_{14} は D、Y、N、F、I、および P から選択される、請求項 6 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

40

【請求項 8】

Z_1 は D、Y、および F から選択され、 Z_2 は D、Y、L、および F から選択され、 Z_4 は G および W から選択され、 Z_6 は E および D から選択され、 Z_7 は W、L、および F から選択され、 Z_8 は E および D から選択され、 Z_9 は E および D から選択され、 Z_{10} は S、D、および Y から選択され、 Z_{11} は I、Y、および F から選択され、 Z_{12} は F、D、Y、および L から選択され、 Z_{14} は D、Y、および N から選択される、請求項 7 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 9】

50

C D 3 への抗 C D 3 結合ドメインの結合を損なうペプチドに連結される抗 C D 3 結合ドメインを含む、単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体であって、前記ペプチドは、 $U_1-U_2-C-U_4-P-U_6-U_7-U_8-U_9-U_{10}-U_{11}-U_{12}-C-U_{14}$ によるアミノ酸配列を含み、 U_1 は D、Y、F、I、N、V、H、L、A、T、S、および P から選択され、 U_2 は D、Y、L、F、I、N、A、V、H、T、および S から選択され、 U_4 は G および W から選択され、 U_6 は E、D、V、および P から選択され、 U_7 は W、L、F、V、G、M、I、および Y から選択され、 U_8 は E、D、P、および Q から選択され、 U_9 は E、D、Y、V、F、W、P、L、および Q から選択され、 U_{10} は S、D、Y、T、I、F、V、N、A、P、L、および H から選択され、 U_{11} は I、Y、F、V、L、T、N、S、D、A、および H から選択され、 U_{12} は F、D、Y、L、I、V、A、N、T、P、S、G、および H から選択され、 U_{14} は D、Y、N、F、I、P、V、A、T、H、L、M、および S から選択される、単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

10

【請求項 10】

U_1 は D、Y、F、I、V、および N から選択され、 U_2 は D、Y、L、F、I、および N から選択され、 U_4 は G および W から選択され、 U_6 は E および D から選択され、 U_7 は W、L、F、G、および V から選択され、 U_8 は E および D から選択され、 U_9 は E、D、Y、および V から選択され、 U_{10} は S、D、Y、T、および I から選択され、 U_{11} は I、Y、F、V、L、および T から選択され、 U_{12} は F、D、Y、L、I、V、A、G、および N から選択され、 U_{14} は D、Y、N、F、I、M、および P から選択される、請求項 9 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

20

【請求項 11】

U_1 は D、Y、V、および F から選択され、 U_2 は D、Y、L、および F から選択され、 U_4 は G および W から選択され、 U_6 は E および D から選択され、 U_7 は W、L、G、および F から選択され、 U_8 は E および D から選択され、 U_9 は E および D から選択され、 U_{10} は S、D、T、および Y から選択され、 U_{11} は I、Y、V、L、および F から選択され、 U_{12} は F、D、Y、G、A、および L から選択され、 U_{14} は D、Y、M、および N から選択される、請求項 10 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

30

【請求項 12】

前記ペプチドは表 17 のアミノ酸配列を含む、請求項 9 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 13】

前記ペプチドは配列番号 44～55 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列を含む、請求項 9 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 14】

前記ペプチドは配列番号 2 のアミノ酸配列を含む、請求項 11 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 15】

前記ペプチドは配列番号 54 のアミノ酸配列を含む、請求項 11 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

40

【請求項 16】

前記ペプチドは、式 I : $A_1-L_1-P_1$ の構成において抗 C D 3 結合ドメインに接続され、式中、 A_1 は抗 C D 3 結合ドメインを含み、 L_1 は、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である切断可能なリンカーを含み、 P_1 は、C D 3 への抗 C D 3 結合ドメインの結合を損なうペプチドを含む、請求項 9 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 17】

P_1 は切断可能なリンカーの N 末端に接続され、 A_1 は切断可能なリンカーの C 末端に接続される、請求項 16 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

50

【請求項 18】

P₁は切断可能なリンカーのC末端に接続され、A₁は切断可能なリンカーのN末端に接続される、請求項16に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 19】

P₁は、イオン性相互作用、静電相互作用、疎水性相互作用、P iースタッキング相互作用、もしくはH-結合相互作用、またはそれらの組み合わせを介してA₁に結合される、請求項16に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 20】

A₁は、腫瘍抗原結合ドメイン(A₂)にさらに連結される、請求項16に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

10

【請求項 21】

前記ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は式I a: P₂-L₂-A₂-A₁-L₁-P₁に従い、P₂は腫瘍抗原へのA₂の結合を損なうペプチドを含み、L₂は、A₂をP₂に接続し、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である第2の切断可能なリンカーを含む、請求項16に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 22】

A₁は抗体または抗体フラグメントを含む、請求項21に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 23】

A₁は、ヒトまたはヒト化の抗体または抗体フラグメントを含む、請求項21に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

20

【請求項 24】

L₁は、A₁の抗体または抗体フラグメントのN末端に結合している、請求項22に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 25】

A₂は、A₁の抗体または抗体フラグメントのN末端に結合している、請求項22に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 26】

L₁は、A₁の抗体または抗体フラグメントのC末端に結合している、請求項22に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

30

【請求項 27】

A₂は、A₁の抗体または抗体フラグメントのC末端に結合している、請求項22に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 28】

A₁の抗体または抗体フラグメントは、単鎖可変フラグメント、単ドメイン抗体、またはFabフラグメントを含む、請求項22に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 29】

A₁は単鎖可変フラグメント(s c F v)である、請求項28に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

40

【請求項 30】

s c F vは、s c F v重鎖ポリペプチドおよびs c F v軽鎖ポリペプチドを含む、請求項29に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 31】

A₁は単ドメイン抗体である、請求項28に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 32】

抗体またはその抗体フラグメントは、ラクダ科動物由来の単ドメイン抗体の単鎖可変フラグメント(s c F v)、重鎖可変ドメイン(V Hドメイン)、軽鎖可変ドメイン(V Lドメイン)、または可変ドメイン(V H H)を含む、請求項23に記載の単離されたポ

50

リペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 3 3】

A₁は、抗CD3ε単鎖可変フラグメントを含む、請求項32に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 3 4】

A₁は、CD3発現細胞上のCD3に対する1μM以下のKD結合を有する抗CD3ε単鎖可変フラグメントを含む、請求項22に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 3 5】

A₁は、各々がヒトCD3に特異的に結合することができる、可変軽鎖と可変重鎖を含む、請求項22に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

10

【請求項 3 6】

A₁は、相補性決定領域(CDR)(HC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3)を含むscFv重鎖可変ドメインおよびscFv軽鎖可変ドメインを含むscFvを含み、scFv重鎖可変ドメインのHC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3は、HC-CDR1では配列番号3、HC-CDR2では配列番号4、HC-CDR3では配列番号5を含み、scFv軽鎖可変ドメインは、相補性決定領域(CDR)を含み(LC-CDR1、LC-CDR2、およびLC-CDR3)、scFv軽鎖可変ドメインのLC-CDR1、LC-CDR2、およびLC-CDR3は、LC-CDR1では配列番号6、LC-CDR2では配列番号7、およびLC-CDR3では配列番号8を含む、請求項30に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

20

【請求項 3 7】

A₁は、相補性決定領域(CDR)(HC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3)を含む重鎖可変ドメインおよび軽鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインのHC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3は、HC-CDR1では配列番号3、HC-CDR2では配列番号4、HC-CDR3では配列番号5を含み、軽鎖可変ドメインは、相補性決定領域(CDR)を含み(LC-CDR1、LC-CDR2、およびLC-CDR3)、軽鎖可変ドメインのLC-CDR1、LC-CDR2、およびLC-CDR3は、LC-CDR1では配列番号6、LC-CDR2では配列番号7、およびLC-CDR3では配列番号8を含む、請求項22に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

30

【請求項 3 8】

式Iのポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、L₁が腫瘍特異的プロテアーゼによって切断されると、エフェクター細胞に結合する、請求項16に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 3 9】

式Iのポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、L₁が腫瘍特異的プロテアーゼによって切断され、A₁がエフェクター細胞に結合する場合、エフェクター細胞に結合する、請求項16に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 4 0】

前記エフェクター細胞はT細胞である、請求項39に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

40

【請求項 4 1】

A₁は、前記エフェクター細胞上のTCR-CD3複合体の一部であるポリペプチドに結合する、請求項40に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 4 2】

TCR-CD3複合体の一部であるポリペプチドは、ヒトCD3εである、請求項41に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 4 3】

A₂は抗体または抗体フラグメントを含む、請求項30に記載の単離されたポリペプチ

50

ドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 4 4】

A₂の抗体またはその抗体フラグメントは、単鎖可変フラグメント、単ドメイン抗体、F a b'、またはF a bを含む、請求項 4 3 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 4 5】

A₂の抗体または抗体フラグメントは、ラクダ科動物由来の単ドメイン抗体の単鎖可変フラグメント (s c F v)、重鎖可変ドメイン (V Hドメイン)、軽鎖可変ドメイン (V Lドメイン)、または可変ドメイン (V H H)を含む、請求項 4 3 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

10

【請求項 4 6】

A₂の抗体または抗体フラグメントは、ヒト化またはヒトである、請求項 4 3 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 4 7】

A₂はF a bまたはF a b'である、請求項 4 4 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 4 8】

F a bまたはF a b'は、(a) F a b軽鎖ポリペプチドおよび(b) F a b重鎖ポリペプチドを含む、請求項 4 7 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

20

【請求項 4 9】

A₂は、上皮成長因子受容体 (E G F R) 結合ドメインを含む、請求項 4 8 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 5 0】

A₂は、癌胎児性抗原関連細胞接着分子C E A C A M 5 結合ドメインを含む、請求項 4 8 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 5 1】

P₁は、半減期延長部分 (H₁) にさらに連結される、請求項 4 8 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 5 2】

前記半減期延長部分は単ドメイン抗体である、請求項 5 1 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

30

【請求項 5 3】

H₁はポリマーを含む、請求項 5 1 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 5 4】

前記ポリマーはポリエチレングリコール (P E G) である、請求項 5 3 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 5 5】

H₁はアルブミンを含む、請求項 5 1 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

40

【請求項 5 6】

H₁はF cドメインを含む、請求項 5 1 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 5 7】

前記アルブミンは血清アルブミンである、請求項 5 5 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 5 8】

前記アルブミンはヒト血清アルブミンである、請求項 5 7 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

50

【請求項 59】

H₁ はポリペプチド、リガンド、または小分子を含む、請求項 51 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 60】

前記ポリペプチド、前記リガンド、または前記小分子は、血清タンパク質またはそのフラグメント、循環免疫グロブリンまたはそのフラグメント、あるいは C D 3 5 / C R 1 に結合する、請求項 59 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 61】

前記血清タンパク質は、チロキシン結合タンパク質、トランスサイレチン、1-酸性糖タンパク質、トランスフェリン、トランスフェリン受容体またはそのトランスフェリン結合部分、フィブリノゲン、あるいはアルブミンを含む、請求項 60 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

10

【請求項 62】

前記循環免疫グロブリンは、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、s l g A、I g M、または I g D を含む、請求項 60 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 63】

前記血清タンパク質はアルブミンである、請求項 60 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 64】

前記ポリペプチドは抗体である、請求項 59 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

20

【請求項 65】

前記抗体は、単ドメイン抗体、単鎖可変フラグメント、または F a b を含む、請求項 64 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 66】

前記単ドメイン抗体は、アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む、請求項 65 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 67】

前記単ドメイン抗体はヒトまたはヒト化の抗体である、請求項 65 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

30

【請求項 68】

前記単ドメイン抗体は 6 4 5 g H 1 g L 1 である、請求項 65 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 69】

前記単ドメイン抗体は 6 4 5 d s g H 5 g L 4 である、請求項 65 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 70】

前記単ドメイン抗体は 2 3 - 1 3 - A 0 1 - s c 0 2 である、請求項 65 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

40

【請求項 71】

前記単ドメイン抗体は A 1 0 m 3 またはそのフラグメントである、請求項 65 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 72】

前記単ドメイン抗体は D O M 7 r - 3 1 である、請求項 65 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 73】

前記単ドメイン抗体は D O M 7 h - 1 1 - 1 5 である、請求項 65 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 74】

50

前記単ドメイン抗体は A l b - 1、A l b - 8、または A l b - 2 3 である、請求項 6 5 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 7 5】

前記単ドメイン抗体は 1 0 G または 1 0 G E である、請求項 6 5 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 7 6】

前記単ドメイン抗体は S A 2 1 である、請求項 6 5 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 7 7】

前記ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、修飾されたアミノ酸、非天然アミノ酸、修飾された非天然アミノ酸、またはその組み合わせを含む、請求項 1 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 7 8】

前記修飾されたアミノ酸または修飾された非天然アミノ酸は、翻訳後修飾を含む、請求項 7 7 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 7 9】

H₁ は、H₁ を P₁ に接続する連結部分 (L₃) を含む、請求項 5 1 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 8 0】

L₃ は、少なくとも 5 個～50 個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である、請求項 7 9 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 8 1】

L₃ は、少なくとも 10 個～30 個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である、請求項 7 9 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 8 2】

L₃ は、少なくとも 10 個のアミノ酸を有するペプチド配列である、請求項 7 9 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 8 3】

L₃ は、少なくとも 18 個のアミノ酸を有するペプチド配列である、請求項 7 9 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 8 4】

L₃ は、少なくとも 26 個のアミノ酸を有するペプチド配列である、請求項 7 9 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 8 5】

L₃ は、(G₂S)_n、(GS)_n、(GS GGS)_n (配列番号 9 1 7)、(GGGS)_n (配列番号 9 1 8)、(GGGG S)_n (配列番号 9 1 9)、および (GSSGS)_n (配列番号 9 2 0) からなる群から選択される式を有し、n は少なくとも 1 の整数である、請求項 7 9 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 8 6】

L₃ は、(GGGGSGGG S (配列番号 9 2 1)) に記載のアミノ酸配列を含む、請求項 7 9 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 8 7】

A₂ の F a b 軽鎖ポリペプチドは、A₁ の単鎖可変フラグメント (s c F v) の C 末端に結合する、請求項 4 8 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 8 8】

A₂ の F a b 重鎖ポリペプチドは、A₁ の単鎖可変フラグメント (s c F v) の C 末端に結合する、請求項 4 8 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 8 9】

A₂ の F a b 軽鎖ポリペプチドは、A₁ の単鎖可変フラグメント (s c F v) の N 末端に結合する、請求項 4 8 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

10

20

30

40

50

【請求項 9 0】

A₂のF a b重鎖ポリペプチドは、A₁の単鎖可変フラグメント（s c F v）のN末端に結合する、請求項 4 8に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 9 1】

A₂のF a b重鎖ポリペプチドは、A₁のs c F v重鎖ポリペプチドに結合する、請求項 4 8に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 9 2】

A₂のF a b軽鎖ポリペプチドは、A₁のs c F v重鎖ポリペプチドに結合する、請求項 4 8に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 9 3】

A₂のF a b重鎖ポリペプチドは、A₁のs c F v軽鎖ポリペプチドに結合する、請求項 4 8に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 9 4】

A₂のF a b軽鎖ポリペプチドは、A₁のs c F v軽鎖ポリペプチドに結合する、請求項 4 8に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 9 5】

A₂のF a b重鎖ポリペプチドはA₁のs c F v重鎖ポリペプチドに結合し、L₂はA₂のF a b軽鎖ポリペプチドに結合する、請求項 4 8に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 9 6】

A₂のF a b軽鎖ポリペプチドはA₁のs c F v重鎖ポリペプチドに結合し、L₂はA₂のF a b重鎖ポリペプチドに結合する、請求項 4 8に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 9 7】

A₂のF a b重鎖ポリペプチドはA₁のs c F v軽鎖ポリペプチドに結合し、L₂はA₂のF a b軽鎖ポリペプチドに結合する、請求項 4 8に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 9 8】

A₂のF a b軽鎖ポリペプチドはA₁のs c F v軽鎖ポリペプチドに結合し、L₂はA₂のF a b重鎖ポリペプチドに結合する、請求項 4 8に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 9 9】

P₂は、腫瘍抗原へのA₂の結合を損なう、請求項 2 1に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 0 0】

P₂は、イオン性相互作用、静電相互作用、疎水性相互作用、P iースタッキング相互作用、もしくはHー結合相互作用、またはそれらの組み合わせを介してA₂に結合される、請求項 2 1に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 0 1】

P₂は、抗原結合部位またはその近傍でA₂に結合される、請求項 2 1に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 0 2】

P₂は腫瘍抗原に対して7 0 %未満の配列相同性を有する、請求項 2 1に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 0 3】

P₂は、少なくとも1 0アミノ酸長のペプチド配列を含む、請求項 2 1に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 0 4】

P₂は、少なくとも1 0アミノ酸長かつ2 0アミノ酸長以下のペプチド配列を含む、請求項 2 1に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

10

20

30

40

50

【請求項 1 0 5】

P₂は、少なくとも16アミノ酸長のペプチド配列を含む、請求項21に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 0 6】

P₂は、40アミノ酸長以下のペプチド配列を含む、請求項21に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 0 7】

P₂は少なくとも2つのシステインアミノ酸残基を含む、請求項21に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 0 8】

P₂は環状ペプチドまたは直鎖ペプチドを含む、請求項21に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 0 9】

P₂は環状ペプチドを含む、請求項21に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 1 0】

P₂は直鎖ペプチドを含む、請求項21に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 1 1】

L₁はA₁のN末端に結合される、請求項16に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 1 2】

L₁はA₁のC末端に結合される、請求項16に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 1 3】

L₂はA₂のN末端に結合される、請求項21に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 1 4】

L₂はA₂のC末端に結合される、請求項21に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 1 5】

L₁またはL₂は、少なくとも5個～50個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である、請求項21に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 1 6】

L₁またはL₂は、少なくとも10個～30個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である、請求項21に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 1 7】

L₁またはL₂は、少なくとも10個のアミノ酸を有するペプチド配列である、請求項21に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 1 8】

L₁またはL₂は、少なくとも18個のアミノ酸を有するペプチド配列である、請求項21に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 1 9】

L₁またはL₂は、少なくとも26個のアミノ酸を有するペプチド配列である、請求項21に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 2 0】

L₁またはL₂は(G₂S)_n(配列番号922)を含む式を有し、nは1～3の整数である、請求項21に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 1 2 1】

L₁は、(G₂S)_n、(GS)_n、(GSGGS)_n(配列番号917)、(GGG

10

20

30

40

50

S)_n (配列番号 918)、(GGGGS)_n (配列番号 919)、および (GSSGGSS)_n (配列番号 920) からなる群から選択される式を有し、n は少なくとも 1 の整数である、請求項 21 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 122】

L₁ が腫瘍特異的プロテアーゼによって切断され、それによって A₁ を CD3 に曝露させている場合、P₁ は A₁ から結合されなくなる、請求項 21 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 123】

L₂ が腫瘍特異的プロテアーゼによって切断され、それによって A₂ を腫瘍抗原に曝露させている場合、P₂ は A₂ から結合されなくなる、請求項 21 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 124】

腫瘍特異的プロテアーゼは、メタロプロテアーゼ、セリンプロテアーゼ、システインプロテアーゼ、トレオニンプロテアーゼ、およびアスパラギン酸プロテアーゼからなる群から選択される、請求項 21 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 125】

L₁ または L₂ は、ウロキナーゼ切断可能アミノ酸配列、マトリプターゼ切断可能アミノ酸配列、マトリックスメタロプロテアーゼ切断可能アミノ酸配列、またはレグマイン切断可能アミノ酸配列を含む、請求項 21 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 126】

L₁ または L₂ は、GGGGSLSGRSDNHGSSGT (配列番号 923)、GGGSSGGSGGSGLSGRSDNHGSSGT (配列番号 924)、ASGRSDNH (配列番号 925)、LAGRSDNH (配列番号 926)、ISSGLASGRSDNH (配列番号 927)、ISSGLLAGRSDNH (配列番号 928)、LSGRSDNH (配列番号 929)、ISSGLLSGRSDNP (配列番号 930)、ISSGLLSGRSDNH (配列番号 931)、LSGRSDNHSPGLLAGS (配列番号 932)、SPLGLAGSLSGRSDNH (配列番号 933)、SPLGLLSGRSDNH (配列番号 934)、LAGRSDNHSPGLLAGS (配列番号 935)、LSGRSDNHVPLSLKMG (配列番号 936)、および LSGRSDNHVPLSLSMG (配列番号 937) からなる群から選択されたアミノ酸配列を含む、請求項 21 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 127】

L₁ または L₂ は、ASGRSDNH (配列番号 925)、LAGRSDNH (配列番号 926)、ISSGLASGRSDNH (配列番号 927)、および ISSGLLAGRSDNH (配列番号 928) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 21 に記載の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体。

【請求項 128】

医薬組成物であって、
(i) 請求項 1 のポリペプチドまたはポリペプチド複合体と、(ii) 薬学的に許容可能な賦形剤とを、含む、医薬組成物。

【請求項 129】

請求項 1 のポリペプチドまたはポリペプチド複合体をコードする、単離された組換え核酸分子。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

相互参照

本出願は、2020年12月8日に出願された米国仮特許出願第 63 / 122, 820 号の利益を主張し、その全体は引用によって本明細書に組み込まれる。

10

20

30

40

50

【0002】

配列表

本出願は配列表を包含しており、これは、ASCIIフォーマットで電子的に提出され、その全体を引用することで本明細書に組み込まれる。2021年12月2日に作成された上記ASCIIコピーは、52426-732__601__SL.txtのファイル名であり、280,999バイトのサイズである。

【発明の概要】

【0003】

CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体が本明細書で開示され、ペプチドは、ペプチド-1 (GSQCLGPEWEVCPY) 配列番号1もしくはペプチド-2 (VYCGPEFDES VGCM) 配列番号2に記載のアミノ酸配列を含み、または、ペプチドは、ペプチド-1もしくはペプチド-2のアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドはペプチド-1のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドはペプチド-2のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは、 $A_1-L_1-P_1$ (式I) に記載の構成において抗CD3結合ドメインに接続され、式中、 A_1 は抗CD3結合ドメインを含み、 L_1 は、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である切断可能なリンカーを含み、 P_1 は、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含む。いくつかの実施形態では、 P_1 は切断可能なリンカーのN末端に接続され、 A_1 は切断可能なリンカーのC末端に接続される。いくつかの実施形態では、 P_1 は切断可能なリンカーのC末端に接続され、 A_1 は切断可能なリンカーのN末端に接続される。いくつかの実施形態では、 P_1 は、イオン性相互作用、静電相互作用、疎水性相互作用、 π -スタッキング相互作用、またはH-結合相互作用、またはそれらの組み合わせを介して A_1 に結合される。いくつかの実施形態では、 A_1 は、腫瘍抗原結合ドメイン (A_2) にさらに連結される。いくつかの実施形態では、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は式Ia: $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1$ に従い、 P_2 は腫瘍抗原への A_2 の結合を損なうペプチドを含み、 L_2 は、 A_2 を P_2 に接続し、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である第2の切断可能なリンカーを含む。いくつかの実施形態では、 A_1 は、抗体または抗体フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、 A_1 は、ヒトまたはヒト化の抗体または抗体フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、 L_1 は、 A_1 の抗体または抗体フラグメントのN末端に結合している。いくつかの実施形態では、 A_2 は、 A_1 の抗体または抗体フラグメントのN末端に結合している。いくつかの実施形態では、 L_1 は、 A_1 の抗体または抗体フラグメントのC末端に結合している。いくつかの実施形態では、 A_2 は、 A_1 の抗体または抗体フラグメントのC末端に結合している。いくつかの実施形態では、 A_1 の抗体または抗体フラグメントは、単鎖可変フラグメント、単ドメイン抗体、またはFabフラグメントを含む。いくつかの実施形態では、 A_1 は単鎖可変フラグメント (scFv) である。いくつかの実施形態では、scFvは、scFv重鎖ポリペプチドおよびscFv軽鎖ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、 A_1 は単ドメイン抗体である。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗体フラグメントは、ラクダ科動物由来の単ドメイン抗体の単鎖可変フラグメント (scFv)、重鎖可変ドメイン (VHドメイン)、軽鎖可変ドメイン (VLドメイン)、または可変ドメイン (VHH) を含む。いくつかの実施形態では、 A_1 は、抗CD3e単鎖可変フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、 A_1 は、CD3発現細胞上のCD3に対する $1\mu M$ 以下のKD結合を有する抗CD3e単鎖可変フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、 A_1 は、各々がヒトCD3に特異的に結合することができる、可変軽鎖と可変重鎖を含む。いくつかの実施形態では、 A_1 は、相補性決定領域 (CDR) (HC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3) を含むscFv重鎖可変ドメインおよびscFv軽鎖可変ドメインを含むscFvを含み、scFv重鎖可変ドメインのHC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3は、HC-CDR1では配列番号3、HC-CDR2では配列番号4、およびHC-CDR3では配列番号5を含み

10

20

30

40

50

、 $s c F v$ 軽鎖可変ドメインは、相補性決定領域 (CDR) を含み ($L C-C D R 1$ 、 $L C-C D R 2$ 、および $L C-C D R 3$)、 $s c F v$ 軽鎖可変ドメインの $L C-C D R 1$ 、 $L C-C D R 2$ 、および $L C-C D R 3$ は、 $L C-C D R 1$ では配列番号 6、 $L C-C D R 2$ では配列番号 7、および $L C-C D R 3$ では配列番号 8 を含む。いくつかの実施形態では、式 I のポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、 L_1 が腫瘍特異的プロテアーゼによって切断されると、エフェクター細胞に結合する。いくつかの実施形態では、式 I のポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、 L_1 が腫瘍特異的プロテアーゼによって切断され、 A_1 がエフェクター細胞に結合する場合、エフェクター細胞に結合する。いくつかの実施形態では、エフェクター細胞は T 細胞である。いくつかの実施形態では、 A_1 は、エフェクター細胞上の $T C R-C D 3$ 複合体の一部であるポリペプチドに結合する。いくつかの実施形態では、 $T C R-C D 3$ 複合体の一部であるポリペプチドは、ヒト $C D 3 \varepsilon$ である。いくつかの実施形態では、 A_2 は、抗体または抗体フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、 A_2 の抗体またはその抗体フラグメントは、単鎖可変フラグメント、単ドメイン抗体、 $F a b'$ 、または $F a b$ を含む。いくつかの実施形態では、 A_2 の抗体またはその抗体フラグメントは、ラクダ科動物由来の単ドメイン抗体の単鎖可変フラグメント ($s c F v$)、重鎖可変ドメイン ($V H$ ドメイン)、軽鎖可変ドメイン ($V L$ ドメイン)、または可変ドメイン ($V H H$) を含む。いくつかの実施形態では、 A_2 の抗体またはその抗体フラグメントは、ヒト化またはヒトである。いくつかの実施形態では、 A_2 は $F a b$ または $F a b'$ である。いくつかの実施形態では、 $F a b$ または $F a b'$ は、(a) $F a b$ 軽鎖ポリペプチドおよび (b) $F a b$ 重鎖ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、 A_2 は、上皮成長因子受容体 ($E G F R$) 結合ドメインを含む。いくつかの態様では、 A_2 は、癌胎児性抗原関連細胞接着分子 $C E A C A M 5$ 結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、 P_1 は、半減期延長部分 (H_1) にさらに連結される。いくつかの実施形態では、半減期延長部分は単ドメイン抗体である。いくつかの実施形態では、 H_1 はポリマーを含む。いくつかの実施形態では、ポリマーはポリエチレングリコール ($P E G$) である。いくつかの実施形態では、 H_1 はアルブミンを含む。いくつかの実施形態では、 H_1 は $F c$ ドメインを含む。いくつかの実施形態では、アルブミンは血清アルブミンである。いくつかの実施形態では、アルブミンはヒト血清アルブミンである。いくつかの実施形態では、 H_1 はポリペプチド、リガンド、または小分子を含む。いくつかの実施形態では、ポリペプチド、リガンド、または小分子は、血清タンパク質またはそのフラグメント、循環免疫グロブリンまたはそのフラグメント、あるいは $C D 3 5 / C R 1$ に結合する。いくつかの実施形態では、血清タンパク質は、チロキシン結合タンパク質、トランスサイレチン、1-酸性糖タンパク質、トランスフェリン、トランスフェリン受容体またはそのトランスフェリン結合部分、フィブリノゲン、あるいはアルブミンを含む。いくつかの実施形態では、循環免疫グロブリンは、 $I g G 1$ 、 $I g G 2$ 、 $I g G 3$ 、 $I g G 4$ 、 $s l g A$ 、 $I g M$ 、または $I g D$ を含む。いくつかの実施形態では、血清タンパク質はアルブミンである。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、単ドメイン抗体、単鎖可変フラグメント、または $F a b$ を含む。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は、アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体はヒト抗体またはヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $6 4 5 g H 1 g L 1$ である。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $6 4 5 d s g H 5 g L 4$ である。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $2 3-1 3-A 0 1-s c 0 2$ である。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $A 1 0 m 3$ またはそのフラグメントである。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $D O M 7 r-3 1$ である。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $A l b-1$ 、 $A l b-8$ 、または $A l b-2 3$ である。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $1 0 G$ または $1 0 G E$ である。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $S A 2 1$ である。いくつかの実施形態では、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、修飾されたアミノ酸、非天然アミノ酸、修飾された非天然アミノ酸、またはその組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、修飾されたアミノ酸または修飾さ

10

20

30

40

50

20

50

有するペプチド配列である。いくつかの実施形態では、 L_1 または L_2 は、少なくとも26個のアミノ酸を有するペプチド配列である。いくつかの実施形態では、 L_1 または L_2 は $(G_2S)_n$ (配列番号922)を含む式を有し、 n は1~3の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は、 $(G_2S)_n$ 、 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (配列番号917)、 $(GGGS)_n$ (配列番号918)、 $(GGGGS)_n$ (配列番号919)、および $(GSSGGS)_n$ (配列番号920)からなる群から選択される式を有し、 n は少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 が腫瘍特異的プロテアーゼによって切断され、それによってAをCD3に曝露させている場合、 P_1 はAから結合されなくなる。いくつかの実施形態では、 L_2 が腫瘍特異的プロテアーゼによって切断され、それによって A_2 を腫瘍抗原に曝露させている場合、 P_2 は A_2 から結合されなくなる。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的プロテアーゼは、メタロプロテアーゼ、セリンプロテアーゼ、システインプロテアーゼ、トレオニンプロテアーゼ、およびアスパラギン酸プロテアーゼからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、 L_1 または L_2 は、ウロキナーゼ切断可能アミノ酸配列、マトリプターゼ切断可能アミノ酸配列、マトリックスメタロプロテアーゼ切断可能アミノ酸配列、またはレグマイン切断可能アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、 L_1 または L_2 は、GGGGSLSGRSDNHGSSSGT (配列番号923)、GGGGSSGGSGGSGLSGRSDNHGSSSGT (配列番号924)、ASGRSDNH (配列番号925)、LAGRSDNH (配列番号926)、ISSGLASGRSDNH (配列番号927)、ISSGLLAGRSDNH (配列番号928)、LSGRSDNH (配列番号929)、ISSGLLSGRSDNP (配列番号930)、ISSGLLSGRSDNH (配列番号931)、LSGRSDNHSPLGLAGS (配列番号932)、SPLGLAGSLSGRSDNH (配列番号933)、SPLGLSGRSDNH (配列番号934)、LAGRSDNHSPLGLAGS (配列番号935)、LSGRSDNHVPLSLKMG (配列番号936)、およびLSGRSDNHVPLSLSMG (配列番号937)からなる群から選択されたアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、 L_1 または L_2 は、ASGRSDNH (配列番号925)、LAGRSDNH (配列番号926)、ISSGLASGRSDNH (配列番号927)、およびISSGLLAGRSDNH (配列番号928)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【0004】

本明細書では、(i) 前述の実施形態のうちのいずれか1つのポリペプチドまたはポリペプチド複合体と、(ii) 薬学的に許容可能な賦形剤とを含む、医薬組成物が開示される。

【0005】

本明細書では、前述の実施形態のうちのいずれか1つのポリペプチドまたはポリペプチド複合体をコードする単離された組換え核酸分子が開示される。

【0006】

本明細書では、式II： $L_{1a}-P_{1a}-H_{1a}$ にかかる単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、式中、 L_1 は、切断されていない状態で P_{1a} を、CD3に結合する抗CD3結合ドメインに接続する腫瘍特異的プロテアーゼ切断結合部分を含み、 P_{1a} は、 L_{1a} が切断されていない場合にCD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含み、ペプチドは、ペプチド-1 (GSQCLGPEWEVCPY) 配列番号1もしくはペプチド-2 (VYCGPEFDES VGCM) 配列番号2に記載のアミノ酸配列を含み、または、ペプチドは、ペプチド-1もしくはペプチド-2のアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含み、 H_{1a} は半減期延長分子を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドはペプチド-1のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドはペプチド-2のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、 H_{1a} はポリマーを含む。いくつかの実施形態では、ポリマーはポリエチレングリコール (PEG) である。いくつかの実施形態では、 H_{1a} はアルブミンを含む。いくつかの実施形態では、 H_{1a} はFcドメインを含む。いく

つかの実施形態では、アルブミンは血清アルブミンである。いくつかの実施形態では、アルブミンはヒト血清アルブミンである。いくつかの実施形態では、 H_{1a} はポリペプチド、リガンド、または小分子を含む。いくつかの実施形態では、ポリペプチド、リガンド、または小分子は、血清タンパク質もしくはそのフラグメント、循環免疫グロブリンもしくはそのフラグメント、または $CD35/CR1$ に結合する。いくつかの実施形態では、血清タンパク質は、チロキシン結合タンパク質、トランスサイレチン、1-酸性糖タンパク質、トランスフェリン、トランスフェリン受容体またはそのトランスフェリン結合部分、フィブリノゲン、あるいはアルブミンを含む。いくつかの実施形態では、循環免疫グロブリン分子は、 $IgG1$ 、 $IgG2$ 、 $IgG3$ 、 $IgG4$ 、 $sIgA$ 、 IgM 、または IgD を含む。いくつかの実施形態では、血清タンパク質はアルブミンである。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、単ドメイン抗体、単鎖可変フラグメント、または Fab を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトまたはヒト化の抗体である。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $645gH1gL1$ である。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $645ds gH5gL4$ である。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $23-13-A01-sc02$ である。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $A10m3$ またはそのフラグメントである。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $DOM7r-31$ である。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $DOM7h-11-15$ である。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $Alb-1$ 、 $Alb-8$ 、または $Alb-23$ である。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $10G$ または $10GE$ である。いくつかの実施形態では、単ドメイン抗体は $SA21$ である。いくつかの実施形態では、 H_{1a} は、 H_{1a} を P_{1a} に接続する連結部分(L_{3a})を含む。いくつかの実施形態では、 L_{3a} は、少なくとも5個~50個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である。いくつかの実施形態では、 L_{3a} は、少なくとも10個~30個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である。いくつかの実施形態では、 L_{3a} は、少なくとも10個のアミノ酸を有するペプチド配列である。いくつかの実施形態では、 L_{3a} は、少なくとも18個のアミノ酸を有するペプチド配列である。いくつかの実施形態では、 L_{3a} は、少なくとも26個のアミノ酸を有するペプチド配列である。いくつかの実施形態では、 L_{3a} は、 $(G_2S)_n$ 、 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (配列番号917)、 $(GGGS)_n$ (配列番号918)、 $(GGGGS)_n$ (配列番号919)、および $(GSSGGS)_n$ (配列番号920)からなる群から選択される式を有し、 n は少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_{3a} は、 $(GGGGSGGGS)$ (配列番号921)に記載のアミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【図面の簡単な説明】

【0007】

本発明の新規な特徴はとりわけ添付の請求項で説明される。本発明の特徴と利点をより良く理解するには、本発明の原理が用いられる例示的な実施形態を説明する以下の詳細な説明と添付図面とを参照されたい。

【図1A】ELISAによって $SP34.185$ $scFv$ に対するペプチド-1ペプチド結合データを示す。

【図1B】ELISAによって $SP34.185$ $scFv$ に対するペプチド-1アラニンスキャニングペプチド結合データを示す。

【図1C】ELISAによって $SP34.185$ $scFv$ に対するペプチド-1アラニンスキャニングペプチド結合データを示す。

【図1D】ELISAによって $SP34.185$ $scFv$ に対するペプチド-2ペプチド結合データを示す。

【図1E】ELISAによって $SP34.185$ $scFv$ に対するペプチド-2アラニンスキャニングペプチド結合データを示す。

【図1F】ELISAによって $SP34.185$ $scFv$ に対するペプチド-2アラニ

ンスキャンニングペプチド結合データを示す。

【図 2 A】CD 3 e に対する SP 3 4 . 1 8 5 結合のペプチド-1 阻害データを示す。

【図 2 B】CD 3 e に対する SP 3 4 . 1 8 5 結合のペプチド-1 アラニンスキャンニングペプチド阻害データを示す。

【図 2 C】CD 3 e に対する SP 3 4 . 1 8 5 結合のペプチド-1 アラニンスキャンニングペプチド阻害データを示す。

【図 2 D】CD 3 e に対する SP 3 4 . 1 8 5 結合のペプチド-2 阻害データを示す。

【図 2 E】CD 3 e に対する SP 3 4 . 1 8 5 結合のペプチド-2 アラニンスキャンニングペプチド阻害データを示す。

【図 2 F】CD 3 e に対する SP 3 4 . 1 8 5 結合のペプチド-2 アラニンスキャンニングペプチド阻害データを示す。 10

【図 3】本開示のいくつかのポリペプチド複合体についての CD 3 ε 結合の滴定データを示す。

【図 4】PC-1、PC-2、および PC-3 の機能的な腫瘍細胞死滅を示す。

【図 5 A】ELISA によって SP 3 4 . 1 8 5 s c F v に対するペプチド（ペプチド-29～ペプチド-34）ペプチド結合データを示す。ペプチド-2 を陽性対照として使用する。

【図 5 B】ELISA によって SP 3 4 . 1 8 5 s c F v に対するペプチド（ペプチド-35～ペプチド-40）ペプチド結合データを示す。ペプチド-2 を陽性対照として使用する。 20

【図 6 A】ELISA によって CD 3 に対する SP 3 4 . 1 8 5 s c F v の結合を阻害するペプチド（ペプチド-29～ペプチド-34）を示す。ペプチド-2 を陽性対照として使用する。

【図 6 B】ELISA によって CD 3 に対する SP 3 4 . 1 8 5 s c F v の結合を阻害するペプチド（ペプチド-35～ペプチド-40）を示す。ペプチド-2 を陽性対照として使用する。

【図 7】Web Logo 3 によって生成されたペプチド-2 のコア配列モチーフを示す。

【発明を実施するための形態】

【0008】

抗体および二重特異性抗体または多特異性抗体、例えば、T 細胞エンゲージャーなどのタンパク質ベースの治療薬は、様々な疾患および障害に有効であることが証明されている。任意の治療と同様に、疾患組織中ではタンパク質ベースの治療薬の活性を維持しながら、健康な組織中ではタンパク質ベースの治療薬のオフターゲット効果を最小限に抑えることに対するニーズがある。1 つのそのような方策は、タンパク質ベースの治療薬上の必要な結合部位がタンパク質ベースの治療薬に連結するペプチドで遮断され、これによって、健康な組織中にある場合に、タンパク質ベースの治療薬がその同属の受容体または標的抗原に結合するかまたは相互作用するのを防ぐ、タンパク質ベースの治療薬の不活性形態を作製することである。所望の疾患状態の微小環境中のタンパク質ベースの治療薬を活性化するために、ペプチドは、疾患状態の微小環境に特異的なプロテアーゼによる切断が可能であるリンカーを用いてタンパク質ベースの治療薬に連結される。ペプチドは、その後、疾患状態の微小環境中にある場合に、タンパク質ベースの治療薬から放出される。 30 40

【0009】

したがって、分化抗原群 3（CD 3）に対する抗 CD 3 結合ドメインの結合を損なうペプチドが本明細書に開示される。本明細書に開示されるペプチドは、疾患組織における抗 CD 3 抗体の活性を維持しながら、健康組織において抗体のオフターゲット効果を低減するために抗 CD 3 に結合する様々な抗体フォーマットに適用することができる。ペプチドは、プロテアーゼ切断可能リンカーを介して抗 CD 3 結合ドメインに結合される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体は、癌を処置する方法において使用される。いくつかの例では、癌は固形腫瘍癌である。いくつかの実施形態では、癌は、肺癌、乳癌（例えば、HER 2 +、ER / PR +、TNBC）、子宮頸癌、卵巣癌、大腸癌、膵臓 50

癌、または胃癌である。

【0010】

CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含む単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体が本明細書で開示され、ペプチドは、ペプチド-1 (G S Q C L G P E W E V C P Y) 配列番号1もしくはペプチド-2 (V Y C G P E F D E S V G C M) 配列番号2に記載のアミノ酸配列を含み、または、ペプチドは、ペプチド-1もしくはペプチド-2のアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含む。

【0011】

CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含む単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体が本明細書で開示され、ペプチドは配列番号1～2および19～55から選択されるアミノ酸配列を含み、または、ペプチドは、配列番号1～2および19～55から選択されるアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号1～2および19～55から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号1のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号2のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号54のアミノ酸配列を含む。

【0012】

本明細書には、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドに連結される抗CD3結合ドメインを含む単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、ペプチドは、Z₁-Z₂-C-Z₄-P-Z₆-Z₇-Z₈-Z₉-Z₁₀-Z₁₁-Z₁₂-C-Z₁₄によるアミノ酸配列を含み、Z₁はD、Y、F、I、N、V、H、L、A、T、S、およびPから選択され、Z₂はD、Y、L、F、I、N、A、V、H、T、およびSから選択され、Z₄はGおよびWから選択され、Z₆はE、D、V、およびPから選択され、Z₇はW、L、F、V、G、M、I、およびYから選択され、Z₈はE、D、P、およびQから選択され、Z₉はE、D、Y、V、F、W、P、L、およびQから選択され、Z₁₀はS、D、Y、T、I、F、V、N、A、P、L、およびHから選択され、Z₁₁はI、Y、F、V、L、T、N、S、D、A、およびHから選択され、Z₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、N、T、P、S、およびHから選択され、Z₁₄はD、Y、N、F、I、P、V、A、T、H、L、およびSから選択される。いくつかの実施形態では、Z₁はD、Y、F、I、およびNから選択され、Z₂はD、Y、L、F、I、およびNから選択され、Z₄はGおよびWから選択され、Z₆はEおよびDから選択され、Z₇はW、L、F、およびVから選択され、Z₈はEおよびDから選択され、Z₉はE、D、Y、およびVから選択され、Z₁₀はS、D、Y、T、およびIから選択され、Z₁₁はI、Y、F、V、L、およびTから選択され、Z₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、およびNから選択され、Z₁₄はD、Y、N、F、I、およびPから選択される。いくつかの実施形態では、Z₁はD、Y、およびFから選択され、Z₂はD、Y、L、およびFから選択され、Z₄はGおよびWから選択され、Z₆はEおよびDから選択され、Z₇はW、L、およびFから選択され、Z₈はEおよびDから選択され、Z₉はEおよびDから選択され、Z₁₀はS、D、およびYから選択され、Z₁₁はI、Y、およびFから選択され、Z₁₂はF、D、Y、およびLから選択され、Z₁₄はD、Y、およびNから選択される。いくつかの実施形態では、ペプチドは表17のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号44～55のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号2のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号54のアミノ酸配列を含む。

【0013】

本明細書には、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドに連結される抗CD3結合ドメインを含む単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、ペプチドは、U₁-U₂-C-U₄-P-U₆-U₇-U₈-U₉-U₁₀-U₁₁-

U₁₂-C-U₁₄によるアミノ酸配列を含み、U₁はD、Y、F、I、N、V、H、L、A、T、S、およびPから選択され、U₂はD、Y、L、F、I、N、A、V、H、T、およびSから選択され、U₄はGおよびWから選択され、U₆はE、D、V、およびPから選択され、U₇はW、L、F、V、G、M、I、およびYから選択され、U₈はE、D、P、およびQから選択され、U₉はE、D、Y、V、F、W、P、L、およびQから選択され、U₁₀はS、D、Y、T、I、F、V、N、A、P、L、およびHから選択され、U₁₁はI、Y、F、V、L、T、N、S、D、A、およびHから選択され、U₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、N、T、P、S、G、およびHから選択され、U₁₄はD、Y、N、F、I、P、V、A、T、H、L、M、およびSから選択される。いくつかの実施形態では、U₁はD、Y、F、I、V、およびNから選択され、U₂はD、Y、L、F、I、およびNから選択され、U₄はGおよびWから選択され、U₆はEおよびDから選択され、U₇はW、L、F、G、およびVから選択され、U₈はEおよびDから選択され、U₉はE、D、Y、およびVから選択され、U₁₀はS、D、Y、T、およびIから選択され、U₁₁はI、Y、F、V、L、およびTから選択され、U₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、G、およびNから選択され、U₁₄はD、Y、N、F、I、M、およびPから選択される。いくつかの実施形態では、U₁はD、Y、V、およびFから選択され、U₂はD、Y、L、およびFから選択され、U₄はGおよびWから選択され、U₆はEおよびDから選択され、U₇はW、L、G、およびFから選択され、U₈はEおよびDから選択され、U₉はEおよびDから選択され、U₁₀はS、D、T、およびYから選択され、U₁₁はI、Y、V、L、およびFから選択され、U₁₂はF、D、Y、G、A、およびLから選択され、U₁₄はD、Y、M、およびNから選択される。いくつかの実施形態では、ペプチドは表17のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号44~55のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号2のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号54のアミノ酸配列を含む。

10

20

【0014】

本明細書には、癌を処置する方法が開示され、上記方法は、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含む単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を、それを必要とする対象に投与する工程を含み、ペプチドは、ペプチド-1 (GSQCLGPEWEVCPY) 配列番号1もしくはペプチド-2 (VYCGPEFDES VGC M) 配列番号2に記載のアミノ酸配列を含み、または、ペプチドは、ペプチド-1もしくはペプチド-2のアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含む。

30

【0015】

本明細書には、癌を処置する方法が開示され、上記方法は、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含む単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を、それを必要とする対象に投与する工程を含み、ペプチドは、配列番号1~2および19~55から選択されるアミノ酸配列を含み、またはペプチドは、配列番号1~2および19~55のアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号1~2および19~55から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号1のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号2のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号54のアミノ酸配列を含む。

40

【0016】

本明細書には、癌を処置する方法が開示され、上記方法は、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドに連結する抗CD3結合ドメインを含む単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を、それを必要とする対象に投与する工程を含み、ペプチドは、Z₁-Z₂-C-Z₄-P-Z₆-Z₇-Z₈-Z₉-Z₁₀-Z₁₁-Z₁₂-C-Z₁₄によるアミノ酸配列を含み、Z₁はD、Y、F、I、N、V、H、L、A、T、S、およびPから選択され、Z₂はD、Y、L、F、I、N、A、V、H、T、および

50

Sから選択され、Z₄はGおよびWから選択され、Z₆はE、D、V、およびPから選択され、Z₇はW、L、F、V、G、M、I、およびYから選択され、Z₈はE、D、P、およびQから選択され、Z₉はE、D、Y、V、F、W、P、L、およびQから選択され、Z₁₀はS、D、Y、T、I、F、V、N、A、P、L、およびHから選択され、Z₁₁はI、Y、F、V、L、T、N、S、D、A、およびHから選択され、Z₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、N、T、P、S、およびHから選択され、Z₁₄はD、Y、N、F、I、P、V、A、T、H、L、およびSから選択される。いくつかの実施形態では、Z₁はD、Y、F、I、およびNから選択され、Z₂はD、Y、L、F、I、およびNから選択され、Z₄はGおよびWから選択され、Z₆はEおよびDから選択され、Z₇はW、L、F、およびVから選択され、Z₈はEおよびDから選択され、Z₉はE、D、Y、およびVから選択され、Z₁₀はS、D、Y、T、およびIから選択され、Z₁₁はI、Y、F、V、L、およびTから選択され、Z₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、およびNから選択され、Z₁₄はD、Y、N、F、I、およびPから選択される。いくつかの実施形態では、Z₁はD、Y、およびFから選択され、Z₂はD、Y、L、およびFから選択され、Z₄はGおよびWから選択され、Z₆はEおよびDから選択され、Z₇はW、L、およびFから選択され、Z₈はEおよびDから選択され、Z₉はEおよびDから選択され、Z₁₀はS、D、およびYから選択され、Z₁₁はI、Y、およびFから選択され、Z₁₂はF、D、Y、およびLから選択され、Z₁₄はD、Y、およびNから選択される。いくつかの実施形態では、ペプチドは表17のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号44～55のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号2のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号54のアミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【0017】

本明細書には、癌を処置する方法が開示され、上記方法は、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドに連結する抗CD3結合ドメインを含む単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を、それを必要とする対象に投与する工程を含み、ペプチドは、U₁-U₂-C-U₄-P-U₆-U₇-U₈-U₉-U₁₀-U₁₁-U₁₂-C-U₁₄によるアミノ酸配列を含み、U₁はD、Y、F、I、N、V、H、L、A、T、S、およびPから選択され、U₂はD、Y、L、F、I、N、A、V、H、T、およびSから選択され、U₄はGおよびWから選択され、U₆はE、D、V、およびPから選択され、U₇はW、L、F、V、G、M、I、およびYから選択され、U₈はE、D、P、およびQから選択され、U₉はE、D、Y、V、F、W、P、L、およびQから選択され、U₁₀はS、D、Y、T、I、F、V、N、A、P、L、およびHから選択され、U₁₁はI、Y、F、V、L、T、N、S、D、A、およびHから選択され、U₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、N、T、P、S、G、およびHから選択され、U₁₄はD、Y、N、F、I、P、V、A、T、H、L、M、およびSから選択される。いくつかの実施形態では、U₁はD、Y、F、I、V、およびNから選択され、U₂はD、Y、L、F、I、およびNから選択され、U₄はGおよびWから選択され、U₆はEおよびDから選択され、U₇はW、L、F、G、およびVから選択され、U₈はEおよびDから選択され、U₉はE、D、Y、およびVから選択され、U₁₀はS、D、Y、T、およびIから選択され、U₁₁はI、Y、F、V、L、およびTから選択され、U₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、G、およびNから選択され、U₁₄はD、Y、N、F、I、M、およびPから選択される。いくつかの実施形態では、U₁はD、Y、V、およびFから選択され、U₂はD、Y、L、およびFから選択され、U₄はGおよびWから選択され、U₆はEおよびDから選択され、U₇はW、L、G、およびFから選択され、U₈はEおよびDから選択され、U₉はEおよびDから選択され、U₁₀はS、D、T、およびYから選択され、U₁₁はI、Y、V、L、およびFから選択され、U₁₂はF、D、Y、G、A、およびLから選択され、U₁₄はD、Y、M、およびNから選択される。いくつかの実施形態では、ペプチドは表17のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号44～55のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペ

プチドは配列番号 2 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号 54 のアミノ酸配列を含む。

【0018】

いくつかの実施形態では、ペプチドは、 $A_1-L_1-P_1$ (式 I) に記載の構成において抗 CD3 結合ドメインに接続され、式中、 A_1 は抗 CD3 結合ドメインを含み、 L_1 は、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である切断可能なリンカーを含み、 P_1 は、CD3 への抗 CD3 結合ドメインの結合を損なうペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは、 $A_1-L_1-P_1$ (式 I) に記載の構成において抗 CD3 結合ドメインに接続され、式中、 A_1 は抗 CD3 結合ドメインであり、 L_1 は、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である切断可能なリンカーであり、 P_1 は、CD3 への抗 CD3 結合ドメインの結合を損なうペプチドである。いくつかの実施形態では、ペプチドは、式 I: $A_1-L_1-P_1$ (式 I) の構成において抗 CD3 結合ドメインに接続され、式中、 A_1 は抗 CD3 結合ドメインを含み、 L_1 は、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である切断可能なリンカーを含み、 P_1 は、CD3 への抗 CD3 結合ドメインの結合を損なうペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは、式 I: $A_1-L_1-P_1$ (式 I) の構成において抗 CD3 結合ドメインに接続され、式中、 A_1 は抗 CD3 結合ドメインであり、 L_1 は、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である切断可能なリンカーであり、 P_1 は、CD3 への抗 CD3 結合ドメインの結合を損なうペプチドである。いくつかの実施形態では、 A_1 は、腫瘍抗原結合ドメイン (A_2) にさらに連結される。いくつかの実施形態では、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、式 Ia: $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1$ (式 Ia) によるものであり、 P_2 は腫瘍抗原への A_2 の結合を損なうペプチドを含み、 L_2 は、 A_2 を P_2 に接続し、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である第 2 の切断可能なリンカーを含む。

10

20

【0019】

いくつかの実施形態では、 P_1 は切断可能なリンカーの N 末端に接続され、 A_1 は切断可能なリンカーの C 末端に接続される。いくつかの実施形態では、 P_1 は切断可能なリンカーの C 末端に接続され、 A_1 は切断可能なリンカーの N 末端に接続される。いくつかの実施形態では、 P_1 は、イオン性相互作用、静電相互作用、疎水性相互作用、 π -スタッキング相互作用、または H-結合相互作用、またはそれらの組み合わせを介して A_1 に結合される。

【0020】

本明細書では、式 II: $L_{1a}-P_{1a}-H_{1a}$ (式 II) にかかる単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、式中、 L_1 は、切断されていない状態で P_{1a} を、CD3 に結合する抗 CD3 結合ドメインに接続する腫瘍特異的プロテアーゼ切断結合部分を含み、 P_{1a} は、 L_{1a} が切断されていない場合に CD3 への抗 CD3 結合ドメインの結合を損なうペプチドを含み、ペプチドは、配列番号 1~2、19~55 から選択されるアミノ酸配列を含み、またはペプチドは、配列番号 1~2、19~55 のアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含み、 H_{1a} は半減期延長分子を含む。いくつかの実施形態では、 P_{1a} は配列番号 1~2 および 19~55 から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、 P_{1a} は配列番号 1 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、 P_{1a} は配列番号 2 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、 P_{1a} は配列番号 54 のアミノ酸配列を含む。

30

40

【0021】

本明細書では、式 III: $L_{1b}-P_{1b}-H_{1b}$ にかかる単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、式中、 L_1 は、切断されていない状態で P_{1b} を、CD3 に結合する抗 CD3 結合ドメインに接続する腫瘍特異的プロテアーゼ切断結合部分を含み、 P_{1b} は、 L_{1b} が切断されていない場合に CD3 への抗 CD3 結合ドメインの結合を損なうペプチドを含み、ペプチドは、 $Z_1-Z_2-C-Z_4-P-Z_6-Z_7-Z_8-Z_9-Z_{10}-Z_{11}-Z_{12}-C-Z_{14}$ によるアミノ酸配列を含み、 Z_1 は D、Y、F、I、N、V、H、L、A、T、S、および P から選択され、 Z_2 は D、Y、L、F

50

、I、N、A、V、H、T、およびSから選択され、Z₄はGおよびWから選択され、Z₆はE、D、V、およびPから選択され、Z₇はW、L、F、V、G、M、I、およびYから選択され、Z₈はE、D、P、およびQから選択され、Z₉はE、D、Y、V、F、W、P、L、およびQから選択され、Z₁₀はS、D、Y、T、I、F、V、N、A、P、L、およびHから選択され、Z₁₁はI、Y、F、V、L、T、N、S、D、A、およびHから選択され、Z₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、N、T、P、S、およびHから選択され、Z₁₄はD、Y、N、F、I、P、V、A、T、H、L、およびSから選択され、H_{1b}は半減期延長分子を含む。いくつかの実施形態では、Z₁はD、Y、F、I、およびNから選択され、Z₂はD、Y、L、F、I、およびNから選択され、Z₄はGおよびWから選択され、Z₆はEおよびDから選択され、Z₇はW、L、F、およびVから選択され、Z₈はEおよびDから選択され、Z₉はE、D、Y、およびVから選択され、Z₁₀はS、D、Y、T、およびIから選択され、Z₁₁はI、Y、F、V、L、およびTから選択され、Z₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、およびNから選択され、Z₁₄はD、Y、N、F、I、およびPから選択される。いくつかの実施形態では、Z₁はD、Y、およびFから選択され、Z₂はD、Y、L、およびFから選択され、Z₄はGおよびWから選択され、Z₆はEおよびDから選択され、Z₇はW、L、およびFから選択され、Z₈はEおよびDから選択され、Z₉はEおよびDから選択され、Z₁₀はS、D、およびYから選択され、Z₁₁はI、Y、およびFから選択され、Z₁₂はF、D、Y、およびLから選択され、Z₁₄はD、Y、およびNから選択される。いくつかの実施形態では、P_{1b}は表17のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、P_{1b}は配列番号44～55のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、P_{1b}は配列番号2に記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、P_{1b}は配列番号54に記載のアミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【0022】

本明細書では、式IV：L_{1c}—P_{1c}—H_{1c}にかかる単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、式中、L_{1c}は、切断されていない状態でP_{1c}を、CD3に結合する抗CD3結合ドメインに接続する腫瘍特異的プロテアーゼ切断結合部分を含み、P_{1c}は、L_{1b}が切断されていない場合にCD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含み、ペプチドは、U₁—U₂—C—U₄—P—U₆—U₇—U₈—U₉—U₁₀—U₁₁—U₁₂—C—U₁₄によるアミノ酸配列を含み、U₁はD、Y、F、I、N、V、H、L、A、T、S、およびPから選択され、U₂はD、Y、L、F、I、N、A、V、H、T、およびSから選択され、U₄はGおよびWから選択され、U₆はE、D、V、およびPから選択され、U₇はW、L、F、V、G、M、I、およびYから選択され、U₈はE、D、P、およびQから選択され、U₉はE、D、Y、V、F、W、P、L、およびQから選択され、U₁₀はS、D、Y、T、I、F、V、N、A、P、L、およびHから選択され、U₁₁はI、Y、F、V、L、T、N、S、D、A、およびHから選択され、U₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、N、T、P、S、G、およびHから選択され、U₁₄はD、Y、N、F、I、P、V、A、T、H、L、M、およびSから選択され、H_{1c}は半減期延長分子を含む。いくつかの実施形態では、U₁はD、Y、F、I、V、およびNから選択され、U₂はD、Y、L、F、I、およびNから選択され、U₄はGおよびWから選択され、U₆はEおよびDから選択され、U₇はW、L、F、G、およびVから選択され、U₈はEおよびDから選択され、U₉はE、D、Y、およびVから選択され、U₁₀はS、D、Y、T、およびIから選択され、U₁₁はI、Y、F、V、L、およびTから選択され、U₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、G、およびNから選択され、U₁₄はD、Y、N、F、I、M、およびPから選択される。いくつかの実施形態では、U₁はD、Y、V、およびFから選択され、U₂はD、Y、L、およびFから選択され、U₄はGおよびWから選択され、U₆はEおよびDから選択され、U₇はW、L、G、およびFから選択され、U₈はEおよびDから選択され、U₉はEおよびDから選択され、U₁₀はS、D、T、およびYから選択され、U₁₁はI、Y、V、L、およびFから選択され、U₁₂はF、D、Y、G、A、およびLから選択され、U₁₄

はD、Y、M、およびNから選択される。いくつかの実施形態では、P_{1c}は表17のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、P_{1c}は配列番号44～55のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、P_{1c}は配列番号2に記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、P_{1c}は配列番号54に記載のアミノ酸配列を含む。

【0023】

いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-1のアミノ酸配列を含む。

【0024】

いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-2のアミノ酸配列を含む。

【0025】

いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-1に対して1つのアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-1に対して2つのアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-1に対して3つのアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む。

【0026】

いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-2に対して1つのアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-2に対して2つのアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-2に対して3つのアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む。

【0027】

いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-1に対して1つのアミノ酸欠失を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-1に対して2つのアミノ酸欠失を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-1に対して3つのアミノ酸欠失を有するアミノ酸配列を含む。

【0028】

いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-2に対して1つのアミノ酸欠失を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-2に対して2つのアミノ酸欠失を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-2に対して3つのアミノ酸欠失を有するアミノ酸配列を含む。

【0029】

いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-1に対して1つのアミノ酸付加を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-1に対して2つのアミノ酸付加を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-1に対して3つのアミノ酸付加を有するアミノ酸配列を含む。

【0030】

いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-2に対して1つのアミノ酸付加を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド（P₁、P_{1a}、P_{1b}、またはP_{1c}）は、ペプチド-2に対して2つ

10

20

30

40

50

のアミノ酸付加を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド（ P_1 、 P_{1a} 、 P_{1b} 、または P_{1c} ）は、ペプチド-2に対して3つのアミノ酸付加を有するアミノ酸配列を含む。

【0031】

いくつかの実施形態では、ペプチド（ P_1 、 P_{1a} 、 P_{1b} 、または P_{1c} ）は、ペプチド-39に対して1つのアミノ酸付加を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド（ P_1 、 P_{1a} 、 P_{1b} 、または P_{1c} ）は、ペプチド-39に対して2つのアミノ酸付加を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド（ P_1 、 P_{1a} 、 P_{1b} 、または P_{1c} ）は、ペプチド-39に対して3つのアミノ酸付加を有するアミノ酸配列を含む。

10

【0032】

いくつかの実施形態では、 P_1 は、イオン性相互作用、静電相互作用、疎水性相互作用、 π -スタッキング相互作用、またはH-結合相互作用、またはそれらの組み合わせを介して A_1 に結合される。

【0033】

いくつかの実施形態では、 P_{1a} は、 L_{1a} が切断されていない場合に、イオン性相互作用、静電相互作用、疎水性相互作用、 π -スタッキング相互作用、またはH-結合相互作用、またはそれらの組み合わせを介して抗CD3結合ドメインに結合される。

【0034】

いくつかの実施形態では、 P_1 、 P_{1a} 、 P_{1b} 、または P_{1c} は、修飾されたアミノ酸もしくは非天然アミノ酸、もしくは修飾された非天然アミノ酸、またはその組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、修飾されたアミノ酸または修飾された非天然アミノ酸は、翻訳後修飾を含む。いくつかの実施形態では、 P_1 、 P_{1a} 、 P_{1b} 、または P_{1c} は、限定されないが、アセチル化、アシル化、ADP-リボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム部分の共有結合、ヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質または脂質誘導体の共有結合、ホスファチジルイノシトールの共有結合、架橋結合、環化、ジスルフィド結合形成、脱メチル化、共有結合の架橋の形成、シスチンの形成、ピログルタメートの形成、ホルミル化、ガンマカルボキシル化、グリコシル化、GPIアンカー形成、ヒドロキシル化、ヨウ素化、メチル化、ミリスチル化、酸化、タンパク質プロセッシング、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化（selenoylation）、硫酸化、アミノ酸のタンパク質への転移RNA媒介性の付加、例えば、アルギニル化（arginylation）、およびユビキチン化を含む修飾を含んでいる。修飾は、ペプチド骨格、アミノ酸側鎖、および末端を含むいかなる場所で、 P_1 、 P_{1a} 、 P_{1b} 、または P_{1c} に対してなされる。

20

30

【0035】

【表1】

表1. ペプチド-1及びペプチド-2のアミノ酸配列

構築物の記述	アミノ酸配列 (NからC)	配列番号
ペプチド-1	GSQCLGPEWEVCPY	1
ペプチド-2	VYCGPEFDES VGCM	2

40

【0036】

抗CD3結合ドメイン（ A_1 ）

いくつかの実施形態では、 A_1 は、抗体または抗体フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、 A_1 は、ヒトまたはヒト化の抗体または抗体フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、 L_1 は、 A_1 の抗体または抗体フラグメントのN末端に結合している。いくつかの実施形態では、 A_2 は、 A_1 の抗体または抗体フラグメントのN末端に結合し

50

ている。いくつかの実施形態では、 L_1 は、 A_1 の抗体または抗体フラグメントのC末端に結合している。いくつかの実施形態では、 A_2 は、 A_1 の抗体または抗体フラグメントのC末端に結合している。いくつかの実施形態では、抗体または抗体フラグメントは、単鎖可変フラグメント、単ドメイン抗体、またはFabフラグメントを含む。いくつかの実施形態では、 A_1 は単鎖可変フラグメント(scfv)である。いくつかの実施形態では、scfvは、scfv重鎖ポリペプチドおよびscfv軽鎖ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、 A_1 は単ドメイン抗体である。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗体フラグメントは、ラクダ科動物由来の単ドメイン抗体の単鎖可変フラグメント(scfv)、重鎖可変ドメイン(VHドメイン)、軽鎖可変ドメイン(VLドメイン)、または可変ドメイン(VHH)を含む。

10

【0037】

いくつかの実施形態では、第1の標的抗原はCD3である。いくつかの実施形態では、 A_1 は、抗CD3e単鎖可変フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、 A_1 は、CD3発現細胞上のCD3に対する $1\mu M$ 以下のKD結合を有する抗CD3e単鎖可変フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、 A_1 は、各々がヒトCD3に特異的に結合することができる、可変軽鎖と可変重鎖を含む。いくつかの実施形態では、 A_1 はsp34scfvからの相補性決定領域(CDR)を含む。いくつかの実施形態では、scfvは、scfv重鎖可変ドメインおよびscfv軽鎖可変ドメインを含む。いくつかの実施形態では、式Iのポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、 L_1 が腫瘍特異的プロテアーゼによって切断されると、エフェクター細胞に結合する。いくつかの実施形態では、式Iのポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、 L_1 が腫瘍特異的プロテアーゼによって切断され、 A_1 がエフェクター細胞に結合する場合、エフェクター細胞に結合する。いくつかの実施形態では、エフェクター細胞はT細胞である。いくつかの実施形態では、 A_1 は、エフェクター細胞上のTCR-CD3複合体の一部であるポリペプチドに結合する。いくつかの実施形態では、TCR-CD3複合体の一部であるポリペプチドは、ヒトCD3εである。

20

【0038】

いくつかの実施形態では、scfv重鎖可変ドメインは、相補性決定領域(CDR)を含み(HC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3)、scfv重鎖可変ドメインのHC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3は、HC-CDR1では配列番号3、HC-CDR2では配列番号4、HC-CDR3では配列番号5を含み、CDRは、HC-CDR1、HC-CDR2、またはHC-CDR3の少なくとも1つに0~2個のアミノ酸修飾を含む。

30

【0039】

いくつかの実施形態では、scfv軽鎖可変ドメインは相補性決定領域(CDR)を含み(LC-CDR1、LC-CDR2、およびLC-CDR3)、scfv軽鎖可変ドメインのLC-CDR1、LC-CDR2、およびLC-CDR3は、LC-CDR1では配列番号6、LC-CDR2では配列番号7、およびLC-CDR3では配列番号8を含み、CDRは、LC-CDR1、LC-CDR2、またはLC-CDR3の少なくとも1つに0~2個のアミノ酸修飾を含む。

40

【0040】

いくつかの実施形態では、scfv重鎖可変ドメインは、相補性決定領域(CDR)を含み(HC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3)、scfv重鎖可変ドメインのHC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3は、HC-CDR1では配列番号3、HC-CDR2では配列番号4、HC-CDR3では配列番号5を含み、scfv軽鎖可変ドメインは、相補性決定領域(CDR)を含み(LC-CDR1、LC-CDR2、およびLC-CDR3)、scfv軽鎖可変ドメインのLC-CDR1、LC-CDR2、およびLC-CDR3は、LC-CDR1では配列番号6、LC-CDR2では配列番号7、およびLC-CDR3では配列番号8を含む。

【0041】

50

【 0 0 4 2 】

10

【 0 0 4 3 】

20

【 0 0 4 4 】

30

40

【 0 0 4 5 】

50

号 9 の少なくとも 80 個の連続したアミノ酸残基のアミノ酸配列を含み、配列番号 9 の少なくとも 80 個の連続したアミノ酸残基に対して少なくとも 95 % の配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、s c F v 重鎖可変ドメインは、配列番号 9 の少なくとも 90 個の連続したアミノ酸残基のアミノ酸配列を含み、配列番号 9 の少なくとも 90 個の連続したアミノ酸残基に対して少なくとも 95 % の配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、s c F v 重鎖可変ドメインは、配列番号 9 の少なくとも 100 個の連続したアミノ酸残基のアミノ酸配列を含み、配列番号 9 の少なくとも 100 個の連続したアミノ酸残基に対して少なくとも 95 % の配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、s c F v 重鎖可変ドメインは、配列番号 9 の少なくとも 105 個の連続したアミノ酸残基のアミノ酸配列を含み、配列番号 9 の少なくとも 105 個の連続したアミノ酸残基に対して少なくとも 95 % の配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、s c F v 重鎖可変ドメインは、配列番号 9 の少なくとも 110 個の連続したアミノ酸残基のアミノ酸配列を含み、配列番号 9 の少なくとも 110 個の連続したアミノ酸残基に対して少なくとも 95 % の配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、s c F v 重鎖可変ドメインは、配列番号 9 の少なくとも 115 個の連続したアミノ酸残基のアミノ酸配列を含み、配列番号 9 の少なくとも 115 個の連続したアミノ酸残基に対して少なくとも 95 % の配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、s c F v 重鎖可変ドメインは、配列番号 9 の少なくとも 120 個の連続したアミノ酸残基のアミノ酸配列を含み、配列番号 9 の少なくとも 120 個の連続したアミノ酸残基に対して少なくとも 95 % の配列同一性を有する。

10

20

【0046】

【表 2】

表 2. 抗 CD3 結合ドメイン(A₁)の例示的なアミノ酸配列 (IMGT 定義によって決定された CDR)

構築物の記述	アミノ酸配列 (N から C)	配列番号
CD3: HC: CDR1	GFTFNKYA	3
CD3: HC: CDR2	IRSKYNNYAT	4
CD3: HC: CDR3	VRHGNFGNSYISYWAY	5
CD3: LC: CDR1	TGAVTSGNY	6
CD3: LC: CDR2	GTK	7
CD3: LC: CDR3	VLWYSNRWV	8
抗-CD3 SP34.185 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS <u>GFTFNK</u> <u>YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT</u> YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTE DTAVYYC <u>VRHGNFGNSYISYWAY</u> WGQGTL VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLT VSPGGITVLTTCGSS <u>TGAVTSGNYPNWWQKQP</u> GQAPRGLIG <u>GTK</u> FLAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYC <u>VLWYSNRWV</u> FGGGT KLTVL	9

30

40

【0047】

腫瘍抗原結合ドメイン (A₂)

いくつかの実施形態では、A₂ は、抗体または抗体フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、A₂ の抗体またはその抗体フラグメントは、単鎖可変フラグメント、単ドメイン抗体、F a b'、または F a b を含む。いくつかの実施形態では、A₂ の抗体またはその抗体フラグメントは、ラクダ科動物由来の単ドメイン抗体の単鎖可変フラグメント (s c F v)、重鎖可変ドメイン (V H ドメイン)、軽鎖可変ドメイン (V L ドメイン

50

）、または可変ドメイン（VHH）を含む。いくつかの実施形態では、A₂の抗体またはその抗体フラグメントは、ヒト化またはヒトである。いくつかの実施形態では、A₂はFabまたはFab'である。いくつかの実施形態では、FabまたはFab'は、（a）Fab軽鎖ポリペプチドおよび（b）Fab重鎖ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第2の標的抗原は腫瘍抗原を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗体フラグメントは、上皮成長因子受容体（EGFR）結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗体フラグメントは、メソテリン結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、A₂は表3に開示されるような配列、または実質的にそれと同一の配列（例えば、表3で開示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%、95%、96%、97%、98%、または99%の配列同一性を有する配列）を含む。

【0048】

【表3】

表 3. 抗 EGFR Fab の例示的なアミノ酸配列

構築物の記述	アミノ酸配列 (NからC)	配列番号
抗-EGFR Fab 軽鎖	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIH WYQQRINGSPRLLIK Y ASESISGIPSRFSGSGS GIDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTF GAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	10
抗-EGFR Fab 重鎖	QVQLKQSGPGLVQPSSLSITCTVSGFSLTNY GVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNT PFTSRLSINKDNSKSKVFFKMNSLQSQDTAIY YCARALTYDYEFAYWGQGTLVTVSAASTK GPSVFEPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSC	11

【0049】

半減期延長分子（H₁、H_{1a}、H_{1b}、H_{1c}）

いくつかの実施形態では、P₁は、半減期延長部分（H₁）にさらに連結される。

【0050】

いくつかの実施形態では、半減期延長部分は単ドメイン抗体である。

【0051】

いくつかの実施形態では、H₁は、P₁がCD3に結合するのを阻害しない。いくつかの実施形態では、H_{1a}は、抗CD3結合ドメインがCD3に結合するのを阻害しない。いくつかの実施形態では、H_{1b}は、抗CD3結合ドメインがCD3に結合するのを阻害しない。いくつかの実施形態では、H_{1c}は、抗CD3結合ドメインがCD3に結合するのを阻害しない。いくつかの実施形態では、半減期延長分子（H₁、H_{1a}、H_{1b}、またはH_{1c}）は、CD3に対する結合親和性を有していない。いくつかの実施形態では、半減期延長分子（H₁、H_{1a}、H_{1b}、またはH_{1c}）は、CD3に対する結合親和性を有していない。いくつかの実施形態では、半減期延長分子（H₁、H_{1a}、H_{1b}、またはH_{1c}）は、CD3から抗CD3結合ドメインを遮蔽しない。

【0052】

いくつかの実施形態では、H₁、H_{1a}、H_{1b}、またはH_{1c}は、反復配列モチーフ

を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、 H_1 、 H_{1a} 、 H_{1b} 、または H_{1c} は、高度に秩序化された二次構造を有するアミノ酸配列を含む。「高度に秩序化された二次構造」とは、この文脈で使用されるように、 H_1 または H_{1a} のアミノ酸残基の少なくとも約50%、または約70%、または約80%、または約90%が、限定されないが、分光光度法（例えば、「遠紫外線」スペクトル領域（190～250 nm）における円偏光二色性分光法によるもの）、ならびにコンピュータプログラムまたはアルゴリズム、例えば、Chou-FasmanアルゴリズムおよびGarnier-Osguthorpe-Robsonアルゴリズムを含む手段によって測定または決定されるように、二次構造に寄与することを意味する。

【0053】

いくつかの実施形態では、 H_1 、 H_{1a} 、 H_{1b} 、または H_{1c} は高分子を含む。いくつかの実施形態では、ポリマーはポリエチレングリコール（PEG）である。いくつかの実施形態では、 H_1 または H_{1a} はアルブミンを含む。いくつかの実施形態では、 H_1 または H_{1a} はFcドメインを含む。いくつかの実施形態では、アルブミンは血清アルブミンである。いくつかの実施形態では、アルブミンはヒト血清アルブミンである。いくつかの実施形態では、 H_1 、 H_{1a} 、 H_{1b} 、または H_{1c} はポリペプチド、リガンド、または小分子を含む。いくつかの実施形態では、ポリペプチド、リガンド、または小分子は、血清タンパク質またはそのフラグメント、循環免疫グロブリンまたはそのフラグメント、あるいはCD35/CR1に結合する。いくつかの実施形態では、血清タンパク質は、チロキシン結合タンパク質、トランスサイレチン、1-酸性糖タンパク質、トランスフェリン、トランスフェリン受容体またはそのトランスフェリン結合部分、フィブリノゲン、あるいはアルブミンを含む。いくつかの実施形態では、循環免疫グロブリン分子は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、sIgA、IgM、またはIgDを含む。いくつかの実施形態では、血清タンパク質はアルブミンである。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、単ドメイン抗体、単鎖可変フラグメント、またはFabを含む。いくつかの実施形態では、抗体は単ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト血清アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトまたはヒト化の抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、645gH1gL1、645ds gH5gL4、23-13-A01-s c02、A10m3、またはそのフラグメント、DOM7r-31、DOM7h-11-15、Alb-1、Alb-8、Alb-23、10G、10GE、およびSA21からなる群から選択される。

【0054】

いくつかの実施形態では、 H_1 は単ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、 H_1 は、アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、 H_1 は、ヒト血清アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、 H_{1a} は、単ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、 H_{1a} は、アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、 H_{1a} は、ヒト血清アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、 H_{1b} は、単ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、 H_{1b} は、アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、 H_{1b} は、ヒト血清アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、 H_{1c} は、単ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、 H_{1c} は、アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、 H_{1c} は、ヒト血清アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む。

【0055】

いくつかの実施形態では、 H_1 、 H_{1a} 、 H_{1b} 、または H_{1c} は、修飾されたアミノ酸もしくは非天然アミノ酸、もしくは修飾された非天然アミノ酸、またはその組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、修飾されたアミノ酸または修飾された非天然アミノ酸

10

20

30

40

50

は、翻訳後修飾を含む。いくつかの実施形態では、H₁、H_{1a}、H_{1b}、またはH_{1c}は、限定されないが、アセチル化、アシル化、ADP-リボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム部分の共有結合、ヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質または脂質誘導体の共有結合、ホスファチジルイノシトールの共有結合、架橋結合、環化、ジスルフィド結合形成、脱メチル化、共有結合の架橋の形成、シスチンの形成、ピログルタメートの形成、ホルミル化、ガンマカルボキシル化、グリコシル化、GPIアンカー形成、ヒドロキシル化、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化、酸化、タンパク質プロセッシング、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化 (selenoylation)、硫酸化、アミノ酸のタンパク質への転移RNA媒介性の付加、例えば、アルギニル化 (arginylation)、およびユビキチン化を含む修飾を含んでいる。修飾は、ペプチド骨格、アミノ酸側鎖、および末端を含むいかなる場所で、H₁、H_{1a}、H_{1b}、またはH_{1c}に対してなされる。いくつかの実施形態では、H₁、H_{1a}、H_{1b}、またはH_{1c}は、表4に開示されるようなアミノ酸配列、または実質的にそれと同一の配列 (例えば、表4で開示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%、95%、96%、97%、98%、または99%の配列同一性を有する配列) を含む。

【0056】

【表4】

表4. 半減期延長分子(H₁、H_{1a}、H_{1b}、H_{1c})の例示的なアミノ酸配列

構築物の記述	アミノ酸配列 (NからC)	配列番号
10G 単ドメイン抗体	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAASGFTFSK FGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTILYA DSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTA VYYCTIGGSLSVSSQGTILVTVSS	12

【0057】

ペプチド (P₂)

いくつかの実施形態では、P₂は腫瘍抗原へのA₂の結合を損なう。いくつかの実施形態では、P₂は、イオン性相互作用、静電相互作用、疎水性相互作用、P iースタッキング相互作用、またはH-結合相互作用、またはそれらの組み合わせを介してA₂に結合される。いくつかの実施形態では、P₂は、抗原結合部位またはその近傍でA₂に結合される。いくつかの実施形態では、P₂は腫瘍抗原に対して70%未満の配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、P₂は腫瘍抗原に対して75%未満の配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、P₂は腫瘍抗原に対して80%未満の配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、P₂は腫瘍抗原に対して85%未満の配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、P₂は腫瘍抗原に対して90%未満の配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、P₂は腫瘍抗原に対して95%未満の配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、P₂は腫瘍抗原に対して98%未満の配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、P₂は腫瘍抗原に対して99%未満の配列同一性を有する。

【0058】

いくつかの実施形態では、P₂は、少なくとも10アミノ酸長のペプチド配列を含む。いくつかの実施形態では、P₂は、少なくとも10アミノ酸長かつ20アミノ酸長以下のペプチド配列を含む。いくつかの実施形態では、P₂は、少なくとも16アミノ酸長のペプチド配列を含む。いくつかの実施形態では、P₂は、40アミノ酸長以下のペプチド配列を含む。いくつかの実施形態では、P₂は少なくとも2つのシステインアミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態では、P₂は環状ペプチドまたは直鎖ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、P₂は直鎖ペプチドを含む。

【0059】

いくつかの実施形態では、 P_2 は修飾されたアミノ酸または非天然アミノ酸、もしくは修飾された非天然アミノ酸、あるいはその組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、修飾されたアミノ酸または修飾された非天然アミノ酸は、翻訳後修飾を含む。いくつかの実施形態では、 P_2 は、限定されないが、アセチル化、アシル化、ADP-リボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム部分の共有結合、ヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質または脂質誘導体の共有結合、ホスファチジルイノシトールの共有結合、架橋結合、環化、ジスルフィド結合形成、脱メチル化、共有結合の架橋の形成、シスチンの形成、ピログルタメートの形成、ホルミル化、ガンマカルボキシル化、グリコシル化、GPIアンカー形成、ヒドロキシル化、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化、酸化、タンパク質プロセッシング、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化 (selenoylation)、硫酸化、アミノ酸のタンパク質への転移RNA媒介性の付加、例えば、アルギニル化 (arginylation)、およびユビキチン化を含む修飾を含んでいる。修飾は、ペプチド骨格、アミノ酸側鎖、および末端を含むいかなる場所でも P_2 に対してなされる。

10

【0060】

いくつかの実施形態では、 P_2 は、アルブミンまたはアルブミンフラグメントを含まない。いくつかの実施形態では、 P_2 はアルブミン結合ドメインを含まない。

【0061】

切断可能なリンカー (L_1 または L_2)

いくつかの実施形態では、 L_1 または L_2 は、少なくとも5個～50個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である。いくつかの実施形態では、 L_1 または L_2 は、少なくとも10個～30個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である。いくつかの実施形態では、 L_1 または L_2 は、少なくとも10個のアミノ酸を有するペプチド配列である。いくつかの実施形態では、 L_1 または L_2 は、少なくとも18個のアミノ酸を有するペプチド配列である。いくつかの実施形態では、 L_1 または L_2 は、少なくとも26個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

20

【0062】

いくつかの実施形態では、 L_1 は、 $(G_2S)_n$ 、 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (配列番号917)、 $(GGGS)_n$ (配列番号918)、 $(GGGGS)_n$ (配列番号919)、および $(GSSGGS)_n$ (配列番号920) からなる群から選択される式を有し、 n は少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は、 $(G_2S)_n$ 、 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (配列番号917)、 $(GGGS)_n$ (配列番号918)、 $(GGGGS)_n$ (配列番号919)、および $(GSSGGS)_n$ (配列番号920) からなる群から選択される式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は、 $(G_2S)_n$ (配列番号922)、 $(GS)_n$ (配列番号938)、 $(GSGGS)_n$ (配列番号939)、 $(GGGS)_n$ (配列番号940)、 $(GGGGS)_n$ (配列番号941)、および $(GSSGGS)_n$ (配列番号942) からなる群から選択される式を有し、 n は1～3の整数である。

30

【0063】

いくつかの実施形態では、 L_1 は $(G_2S)_n$ の式を有し、 n は少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は $(GS)_n$ の式を有し、 n は少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は $(GSGGS)_n$ (配列番号917) の式を有し、 n は少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は $(GGGS)_n$ (配列番号918) の式を有し、 n は少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は $(GGGGS)_n$ (配列番号919) の式を有し、 n は少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は $(GSSGGS)_n$ (配列番号920) の式を有し、 n は少なくとも1の整数である。

40

【0064】

いくつかの実施形態では、 L_1 は $(G_2S)_n$ の式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は $(GS)_n$ の式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実

50

施形態では、 L_1 は $(GSGGS)_n$ （配列番号917）の式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は $(GGGS)_n$ （配列番号918）の式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は $(GGGGS)_n$ （配列番号919）の式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は $(GSSGGS)_n$ （配列番号920）の式を有し、 n は1の整数である。

【0065】

いくつかの実施形態では、 L_1 は $(G_2S)_n$ （配列番号922）の式を有し、 n は1～3の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は $(GS)_n$ （配列番号938）の式を有し、 n は1～3の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は $(GSGGS)_n$ （配列番号939）の式を有し、 n は1～3の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は $(GGGS)_n$ （配列番号940）の式を有し、 n は1～3の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は $(GGGGS)_n$ （配列番号941）の式を有し、 n は1～3の整数である。いくつかの実施形態では、 L_1 は $(GSSGGS)_n$ （配列番号942）の式を有し、 n は1～3の整数である。

【0066】

いくつかの実施形態では、 L_1 は腫瘍特異的プロテアーゼの基質である。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的プロテアーゼは、メタロプロテアーゼ、セリンプロテアーゼ、システインプロテアーゼ、トレオニンプロテアーゼ、およびアスパラギン酸プロテアーゼからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、 L_1 は、ウロキナーゼ切断可能アミノ酸配列、マトリプターゼ切断可能アミノ酸配列、マトリックスメタロプロテアーゼ切断可能アミノ酸配列、またはレグマイン切断可能アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、 L_1 は、GGGGSLSGRSDNHGSSGT（配列番号923）、GGGGSSGGSSGGSLSGRSDNHGSSGT（配列番号924）、ASGRSDNH（配列番号925）、LAGRSDNH（配列番号926）、ISSGLASGRSDNH（配列番号927）、ISSGLLAGRSDNH（配列番号928）、LSGRSDNH（配列番号929）、ISSGLLSGRSDNP（配列番号930）、ISSGLLSGRSDNH（配列番号931）、LSGRSDNHSPPLGLAGS（配列番号932）、SPLGLAGSLSGRSDNH（配列番号933）、SPLGLSGRSDNH（配列番号934）、LAGRSDNHSPPLGLAGS（配列番号935）、LSGRSDNHVPLSLKMG（配列番号936）、およびLSGRSDNHVPLSLSMG（配列番号937）からなる群から選択されたアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、 L_1 は、ASGRSDNH（配列番号925）、LAGRSDNH（配列番号926）、ISSGLASGRSDNH（配列番号927）、およびISSGLLAGRSDNH（配列番号928）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【0067】

いくつかの実施形態では、 L_2 は、 $(G_2S)_n$ 、 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ （配列番号917）、 $(GGGS)_n$ （配列番号918）、 $(GGGGS)_n$ （配列番号919）、および $(GSSGGS)_n$ （配列番号920）からなる群から選択される式を有し、 n は少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は、 $(G_2S)_n$ 、 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ （配列番号917）、 $(GGGS)_n$ （配列番号918）、 $(GGGGS)_n$ （配列番号919）、および $(GSSGGS)_n$ （配列番号920）からなる群から選択される式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は、 $(G_2S)_n$ （配列番号922）、 $(GS)_n$ （配列番号938）、 $(GSGGS)_n$ （配列番号939）、 $(GGGS)_n$ （配列番号940）、 $(GGGGS)_n$ （配列番号941）、および $(GSSGGS)_n$ （配列番号942）からなる群から選択される式を有し、 n は1～3の整数である。

【0068】

いくつかの実施形態では、 L_2 は $(G_2S)_n$ の式を有し、 n は少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は $(GS)_n$ の式を有し、 n は少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は $(GSGGS)_n$ （配列番号917）の式を有

し、 n は少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は $(GGGS)_n$ （配列番号918）の式を有し、 n は少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は $(GGGGS)_n$ （配列番号919）の式を有し、 n は少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は $(GSSGGS)_n$ （配列番号920）の式を有し、 n は少なくとも1の整数である。

【0069】

いくつかの実施形態では、 L_2 は $(G_2S)_n$ の式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は $(GS)_n$ の式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は $(GSSGGS)_n$ （配列番号917）の式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は $(GGGS)_n$ （配列番号918）の式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は $(GGGGS)_n$ （配列番号919）の式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は $(GSSGGS)_n$ （配列番号920）の式を有し、 n は1の整数である。

【0070】

いくつかの実施形態では、 L_2 は $(G_2S)_n$ （配列番号922）の式を有し、 n は1～3の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は $(GS)_n$ （配列番号938）の式を有し、 n は1～3の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は $(GSSGGS)_n$ （配列番号939）の式を有し、 n は1～3の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は $(GGGS)_n$ （配列番号940）の式を有し、 n は1～3の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は $(GGGGS)_n$ （配列番号941）の式を有し、 n は1～3の整数である。いくつかの実施形態では、 L_2 は $(GSSGGS)_n$ （配列番号942）の式を有し、 n は1～3の整数である。

【0071】

いくつかの実施形態では、 L_2 は腫瘍特異的プロテアーゼの基質である。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的プロテアーゼは、メタロプロテアーゼ、セリンプロテアーゼ、システインプロテアーゼ、トレオニンプロテアーゼ、およびアスパラギン酸プロテアーゼからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、 L_2 は、ウロキナーゼ切断可能アミノ酸配列、マトリプターゼ切断可能アミノ酸配列、マトリックスメタロプロテアーゼ切断可能アミノ酸配列、またはレグマイン切断可能アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、 L_2 は、GGGGSLSGRSDNHGSSGT（配列番号923）、GGGGSSGGSGGSLSGRSDNHGSSGT（配列番号924）、ASGRSDNH（配列番号925）、LAGRSDNH（配列番号926）、ISSGLASGRSDNH（配列番号927）、ISSGLLAGRSDNH（配列番号928）、LSGRSDNH（配列番号929）、ISSGLLSGRSDNP（配列番号930）、ISSGLLSGRSDNH（配列番号931）、LSGRSDNHSPPLGLAGS（配列番号932）、SPPLGLAGSLSGRSDNH（配列番号933）、SPPLGLSGRSDNH（配列番号934）、LAGRSDNHSPPLGLAGS（配列番号935）、LSGRSDNHVPLSLKMG（配列番号936）、およびLSGRSDNHVPLSLSMG（配列番号937）からなる群から選択されたアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、 L_2 は、ASGRSDNH（配列番号925）、LAGRSDNH（配列番号926）、ISSGLASGRSDNH（配列番号927）、ISSGLLAGRSDNH（配列番号928）、またはGGGGSSGGGSISSGLLSGRSDNHGGS（配列番号943）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【0072】

いくつかの実施形態では、 L_1 または L_2 は修飾されたアミノ酸または非天然アミノ酸、もしくは修飾された非天然アミノ酸、あるいはその組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、修飾されたアミノ酸または修飾された非天然アミノ酸は、翻訳後修飾を含む。いくつかの実施形態では、 L_1 または L_2 は、限定されないが、アセチル化、アシル化、ADP-リボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム部分の共有結合、ヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質または脂質誘導体の共有結合、ホスファチ

10

20

30

40

50

ジリノシトールの共有結合、架橋結合、環化、ジスルフィド結合形成、脱メチル化、共有結合の架橋の形成、シスチンの形成、ピログルタメートの形成、ホルミル化、ガンマカルボキシル化、グリコシル化、GPIアンカー形成、ヒドロキシル化、ヨウ素化、メチル化、ミリスチル化、酸化、タンパク質プロセッシング、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化 (selenoylation)、硫酸化、アミノ酸のタンパク質への転移RNA媒介性の付加、例えば、アルギニル化 (arginylation)、およびユビキチン化を含む修飾を含んでいる。いくつかの実施形態では、修飾は、ペプチド骨格またはアミノ酸側鎖を含むいかなる場所でL₁またはL₂に対してなされる。

【0073】

連結部分 (L₃、L_{3a}、L_{3b}、またはL_{3c})

いくつかの実施形態では、H₁は、H₁をP₁に接続する連結部分 (L₃) を含む。いくつかの実施形態では、H_{1a}は、H_{1a}をP_{1a}に接続する連結部分 (L_{3a}) を含む。いくつかの実施形態では、H_{1b}は、H_{1b}をP_{1b}に接続する連結部分 (L_{3b}) を含む。いくつかの実施形態では、H_{1c}は、H_{1c}をP_{1c}に接続する連結部分 (L_{3c}) を含む。

【0074】

いくつかの実施形態では、L₃、L_{3a}、L_{3b}、またはL_{3c}は、少なくとも5個～50個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である。いくつかの実施形態では、L₃、L_{3a}、L_{3b}、またはL_{3c}は、少なくとも10個～30個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である。いくつかの実施形態では、L₃、L_{3a}、L_{3b}、またはL_{3c}は、少なくとも10個のアミノ酸を有するペプチド配列である。いくつかの実施形態では、L₃、L_{3a}、L_{3b}、またはL_{3c}は、少なくとも18個のアミノ酸を有するペプチド配列である。いくつかの実施形態では、L₃、L_{3a}、L_{3b}、またはL_{3c}は、少なくとも26個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0075】

いくつかの実施形態では、L₃、L_{3a}、L_{3b}、またはL_{3c}は、(G₂S)_n、(GS)_n、(GS₂GS)_n (配列番号917)、(GGGS)_n (配列番号918)、(GGGGGS)_n (配列番号919)、および(GSSGGGS)_n (配列番号920) からなる群から選択される式を有し、nは少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、L₃、L_{3a}、L_{3b}、またはL_{3c}は、(G₂S)_n、(GS)_n、(GS₂GS)_n (配列番号917)、(GGGS)_n (配列番号918)、(GGGGGS)_n (配列番号919)、および(GSSGGGS)_n (配列番号920) からなる群から選択される式を有し、nは1の整数である。いくつかの実施形態では、L₃、L_{3a}、L_{3b}、またはL_{3c}は、(G₂S)_n (配列番号922)、(GS)_n (配列番号938)、(GS₂GS)_n (配列番号939)、(GGGS)_n (配列番号940)、(GGGGGS)_n (配列番号941)、および(GSSGGGS)_n (配列番号942) からなる群から選択される式を有し、nは1～3の整数である。

【0076】

いくつかの実施形態では、L₃、L_{3a}、L_{3b}、またはL_{3c}は、(G₂S)_nの式を有し、nは少なくとも1の整数である。

【0077】

いくつかの実施形態では、L₃、L_{3a}、L_{3b}、またはL_{3c}は、(G₂S)_nの式を有し、nは少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、L₃、L_{3a}、L_{3b}、またはL_{3c}は、(GS₂GS)_n (配列番号917) の式を有し、nは少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、L₃、L_{3a}、L_{3b}、またはL_{3c}は、(GGGS)_n (配列番号918) の式を有し、nは少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、L₃、L_{3a}、L_{3b}、またはL_{3c}は、(GGGGGS)_n (配列番号919) の式を有し、nは少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、L₃、L_{3a}、L_{3b}、またはL_{3c}は、(GSSGGGS)_n (配列番号920) の式を有し、nは少なくとも1の整数である。

【0078】

いくつかの実施形態では、 L_3 または L_{3a} は、 $(G_2S)_n$ の式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_3 、 L_{3a} 、 L_{3b} 、または L_{3c} は、 $(G_2S)_n$ の式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_3 、 L_{3a} 、 L_{3b} 、または L_{3c} は、 $(GSGGS)_n$ （配列番号917）の式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_3 、 L_{3a} 、 L_{3b} 、または L_{3c} は、 $(GGGS)_n$ （配列番号918）の式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_3 、 L_{3a} 、 L_{3b} 、または L_{3c} は、 $(GGGGS)_n$ （配列番号919）の式を有し、 n は1の整数である。いくつかの実施形態では、 L_3 、 L_{3a} 、 L_{3b} 、または L_{3c} は、 $(GSSGGS)_n$ （配列番号920）の式を有し、 n は1の整数である。

10

【0079】

いくつかの実施形態では、 L_3 、 L_{3a} 、 L_{3b} 、または L_{3c} は、 $(G_2S)_n$ （配列番号922）の式を有し、 n は1～3の整数である。いくつかの実施形態では、 L_3 、 L_{3a} 、 L_{3b} 、または L_{3c} は、 $(GS)_n$ （配列番号938）の式を有し、 n は1～3の整数である。いくつかの実施形態では、 L_3 、 L_{3a} 、 L_{3b} 、または L_{3c} は、 $(GSGGS)_n$ （配列番号939）の式を有し、 n は1～3の整数である。いくつかの実施形態では、 L_3 、 L_{3a} 、 L_{3b} 、または L_{3c} は、 $(GGGS)_n$ （配列番号940）の式を有し、 n は1～3の整数である。いくつかの実施形態では、 L_3 、 L_{3a} 、 L_{3b} 、または L_{3c} は、 $(GGGGS)_n$ （配列番号941）の式を有し、 n は1～3の整数である。いくつかの実施形態では、 L_3 、 L_{3a} 、 L_{3b} 、または L_{3c} は、 $(GSSGGS)_n$ （配列番号942）の式を有し、 n は1～3の整数である。

20

【0080】

構成

いくつかの実施形態では、 A_2 のFab軽鎖ポリペプチドは、 A_1 の単鎖可変フラグメント(scfv)のC末端に結合する。いくつかの実施形態では、 A_2 のFab重鎖ポリペプチドは、 A_1 の単鎖可変フラグメント(scfv)のC末端に結合する。いくつかの実施形態では、 A_2 のFab軽鎖ポリペプチドは、 A_1 の単鎖可変フラグメント(scfv)のN末端に結合する。いくつかの実施形態では、 A_2 のFab重鎖ポリペプチドは、 A_1 の単鎖可変フラグメント(scfv)のN末端に結合する。いくつかの実施形態では、 A_2 のFab重鎖ポリペプチドは、 A_1 のscfv重鎖ポリペプチドに結合する。いくつかの実施形態では、 A_2 のFab軽鎖ポリペプチドは、 A_1 のscfv重鎖ポリペプチドに結合する。いくつかの実施形態では、 A_2 のFab重鎖ポリペプチドは、 A_1 のscfv軽鎖ポリペプチドに結合する。いくつかの実施形態では、 A_2 のFab軽鎖ポリペプチドは、 A_1 のscfv軽鎖ポリペプチドに結合する。いくつかの実施形態では、 A_2 のFab重鎖ポリペプチドは A_1 のscfv重鎖ポリペプチドに結合し、 L_2 は A_2 のFab軽鎖ポリペプチドに結合する。いくつかの実施形態では、 A_2 のFab軽鎖ポリペプチドは A_1 のscfv重鎖ポリペプチドに結合し、 L_2 は A_2 のFab重鎖ポリペプチドに結合する。いくつかの実施形態では、 A_2 のFab重鎖ポリペプチドは A_1 のscfv重鎖ポリペプチドに結合し、 L_2 は A_2 のFab軽鎖ポリペプチドに結合する。いくつかの実施形態では、 A_2 のFab軽鎖ポリペプチドは A_1 のscfv軽鎖ポリペプチドに結合し、 L_2 は A_2 のFab重鎖ポリペプチドに結合する。

30

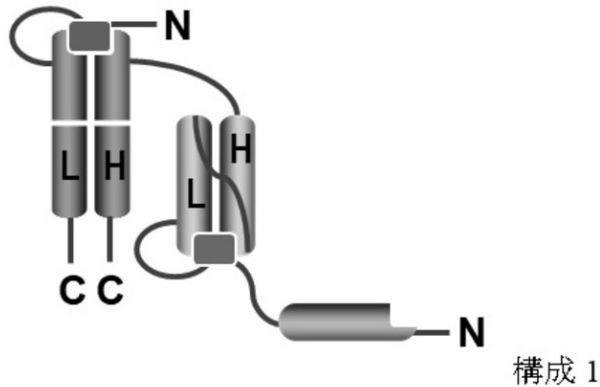
40

【0081】

本明細書では、いくつかの実施形態において、構成1にかかる構造的な配置を含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、

【0082】

【化 1】



10

ここで、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインを含む単鎖可変フラグメント（s c F v）と、腫瘍細胞抗原に結合する F a b とを含み、s c F v はペプチド（P₁）に連結され、ペプチドは、ペプチドー 1（G S Q C L G P E W E V C P Y）配列番号 1 もしくはペプチドー 2（V Y C G P E F D E S V G C M）配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含み、または、ペプチドは、ペプチドー 1 もしくはペプチドー 2 のアミノ酸配列に対して、1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含み、P₁ は s c F v の C D 3 への結合を損ない、P₁ は腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分（L₁）によって s c F v の軽鎖可変ドメインの N 末端に連結され、P₁ は半減期延長分子にさらに連結され、F a b は F a b 軽鎖ポリペプチドおよび F a b 重鎖ポリペプチドを含み、F a b 重鎖ポリペプチドは s c F v の重鎖可変ドメインの C 末端に連結され、F a b は P₂ および L₂ に連結され、P₂ は腫瘍細胞抗原への F a b の結合を損なうペプチドを含み、L₂ は F a b 軽鎖ポリペプチドを P₂ に接続し、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分を含む。

20

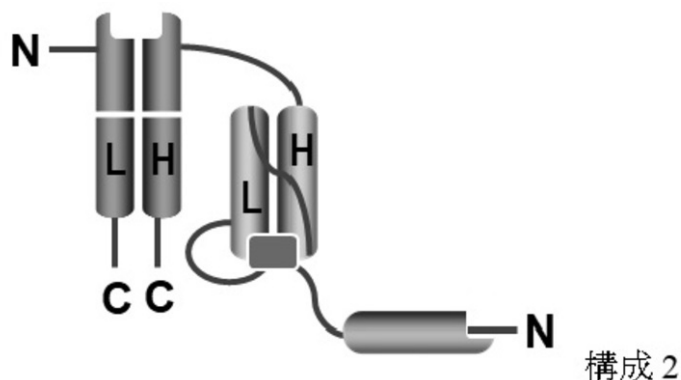
【0083】

本明細書では、いくつかの実施形態において、構成 2 にかかる構造的な配置を含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、

【0084】

30

【化 2】



40

ここで、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインを含む単鎖可変フラグメント（s c F v）と、腫瘍細胞抗原に結合する F a b とを含み、s c F v はペプチドに連結され、ペプチドは、ペプチドー 1（G S Q C L G P E W E V C P Y）配列番号 1 もしくはペプチドー 2（V Y C G P E F D E S V G C M）配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含み、または、ペプチドは、ペプチドー 1 もしくはペプチドー 2 のアミノ酸配列に対して、1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含み、ペプチドは s c F v の C D 3 への結合を損ない、ペプチドは腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分によって s c F v の軽鎖可変ドメインの末端に連結さ

50

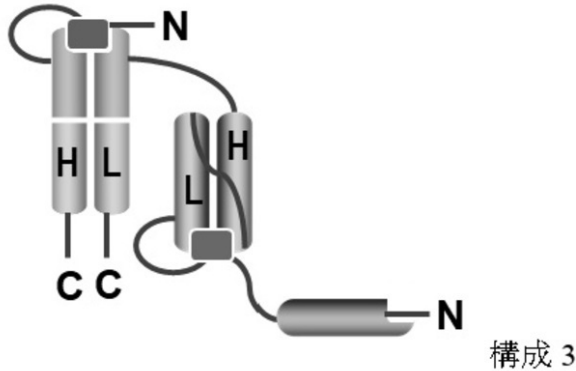
れ、ペプチドは、半減期延長分子にさらに連結され、F a b は F a b 軽鎖ポリペプチド鎖および F a b 重鎖ポリペプチド鎖を含み、F a b 重鎖ポリペプチド鎖は s c F v の重鎖可変ドメインの C 末端に連結される。

【0085】

本明細書では、いくつかの実施形態において、構成 3 にかかる構造的な配置を含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、

【0086】

【化 3】



10

20

ここで、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインを含む単鎖可変フラグメント (s c F v) と、腫瘍細胞抗原に結合する F a b とを含み、s c F v はペプチド (P₁) に連結され、ペプチドは、ペプチド-1 (G S Q C L G P E W E V C P Y) 配列番号 1 もしくはペプチド-2 (V Y C G P E F D E S V G C M) 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含み、または、ペプチドは、ペプチド-1 もしくはペプチド-2 のアミノ酸配列に対して、1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含み、P₁ は s c F v の C D 3 への結合を損ない、P₁ は腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分によって s c F v の軽鎖可変ドメインの N 末端に連結され、P₁ は半減期延長分子にさらに連結され、F a b は F a b 軽鎖ポリペプチドおよび F a b 重鎖ポリペプチドを含み、F a b 軽鎖ポリペプチドは s c F v の重鎖可変ドメインの C 末端に連結され、F a b は P₂ および L₂ に連結され、P₂ は腫瘍細胞抗原への結合を損なうペプチドを含み、L₂ は F a b 重鎖ポリペプチドを P₂ に接続し、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分を含む。

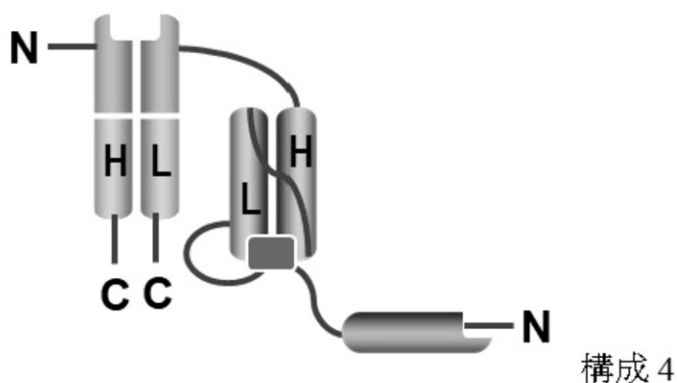
30

【0087】

本明細書では、いくつかの実施形態において、構成 4 にかかる構造的な配置を含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、

【0088】

【化 4】



40

50

ここで、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインを含む単鎖可変フラグメント（s c F v）と、腫瘍細胞抗原に結合する F a b とを含み、s c F v はペプチドにさらに連結され、ペプチドは、ペプチド-1（G S Q C L G P E W E V C P Y）配列番号 1 もしくはペプチド-2（V Y C G P E F D E S V G C M）配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含み、または、ペプチドは、ペプチド-1 もしくはペプチド-2 のアミノ酸配列に対して、1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含み、ペプチドは s c F v の C D 3 への結合を損ない、ペプチドは腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分によって s c F v の軽鎖可変ドメインの N 末端に連結され、ペプチドは半減期延長分子にさらに連結され、F a b は F a b 軽鎖ポリペプチドおよび F a b 重鎖ポリペプチドを含み、F a b 軽鎖ポリペプチドは s c F v の重鎖可変ドメインの C 末端に連結される。

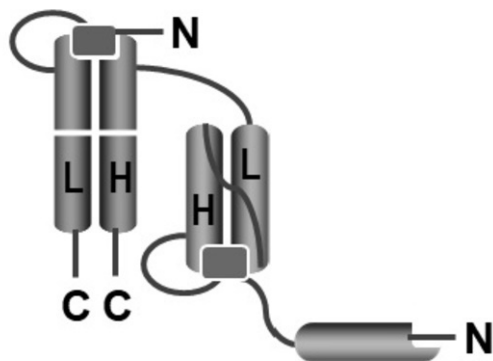
10

【0089】

本明細書では、いくつかの実施形態において、構成 5 にかかる構造的な配置を含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、

【0090】

【化 5】



20

構成 5

ここで、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインを含む単鎖可変フラグメント（s c F v）と、腫瘍細胞抗原に結合する F a b とを含み、s c F v はペプチド（P₁）に連結され、ペプチドは、ペプチド-1（G S Q C L G P E W E V C P Y）配列番号 1 もしくはペプチド-2（V Y C G P E F D E S V G C M）配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含み、または、ペプチドは、ペプチド-1 もしくはペプチド-2 のアミノ酸配列に対して、1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含み、P₁ は s c F v の C D 3 への結合を損ない、P₁ は腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分（L₁）によって s c F v の重鎖可変ドメインの N 末端に連結され、P₁ は半減期延長分子にさらに連結され、F a b は F a b 軽鎖ポリペプチドおよび F a b 重鎖ポリペプチドを含み、F a b 重鎖ポリペプチドは s c F v の軽鎖可変ドメインの C 末端に連結され、F a b は P₂ および L₂ に連結され、P₂ は腫瘍細胞抗原への F a b の結合を損なうペプチドを含み、L₂ は F a b 軽鎖ポリペプチドを P₂ に接続し、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分を含む。

30

40

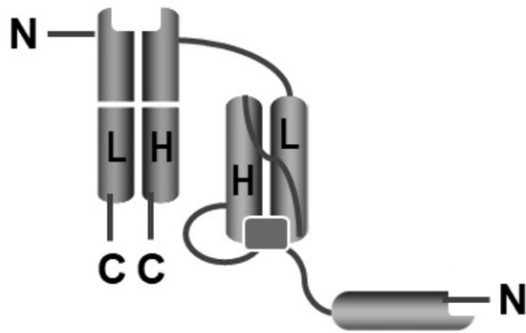
【0091】

本明細書では、いくつかの実施形態において、構成 6 にかかる構造的な配置を含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、

【0092】

50

【化 6】



構成 6

10

ここで、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインを含む単鎖可変フラグメント（s c F v）と、腫瘍細胞抗原に結合する F a b とを含み、s c F v はペプチドに連結され、ペプチドは、ペプチド-1（G S Q C L G P E W E V C P Y）配列番号 1 もしくはペプチド-2（V Y C G P E F D E S V G C M）配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含み、または、ペプチドは、ペプチド-1 もしくはペプチド-2 のアミノ酸配列に対して、1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含み、ペプチドは s c F v の C D 3 への結合を損ない、ペプチドは腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分によって s c F v の重鎖可変ドメインに連結され、ペ

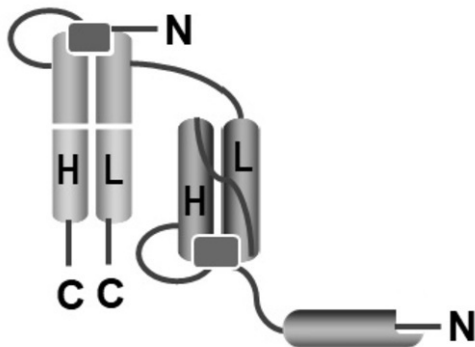
20

【0093】

本明細書では、いくつかの実施形態において、構成 7 にかかる構造的な配置を含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、

【0094】

【化 7】



構成 7

30

40

ここで、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインを含む単鎖可変フラグメント（s c F v）と、腫瘍細胞抗原に結合する F a b とを含み、s c F v はペプチド（P₁）に連結され、ペプチドは、ペプチド-1（G S Q C L G P E W E V C P Y）配列番号 1 もしくはペプチド-2（V Y C G P E F D E S V G C M）配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含み、または、ペプチドは、ペプチド-1 もしくはペプチド-2 のアミノ酸配列に対して、1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含み、P₁ は s c F v の C D 3 への結合を損ない、P₁ は腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分（L₁）によって s c F v の重鎖可変ドメインの N 末端に連結され、P₁ は半減期延長分子にさらに連結され、F a b は F a b 軽鎖ポリペプチ

50

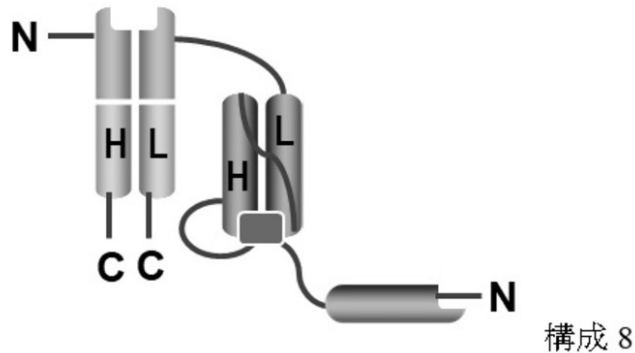
ドおよび F a b 重鎖ポリペプチドを含み、F a b 軽鎖ポリペプチドは s c F v の軽鎖可変ドメインの C 末端に連結され、F a b は P₂ および L₂ に連結され、P₂ は腫瘍細胞抗原への F a b の結合を損なうペプチドを含み、L₂ は F a b 重鎖ポリペプチドを P₂ に接続し、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分を含む。

【0095】

本明細書では、いくつかの実施形態において、構成 8 にかかる構造的な配置を含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、

【0096】

【化 8】



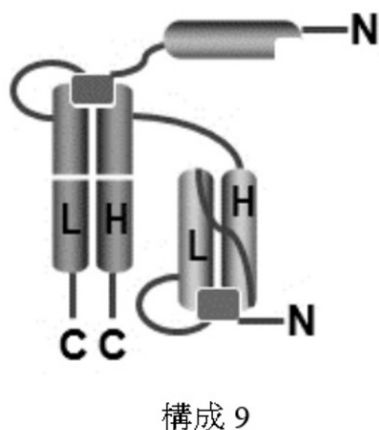
ここで、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインを含む単鎖可変フラグメント (s c F v) と、腫瘍細胞抗原に結合する F a b とを含み、s c F v はペプチドに連結され、ペプチドは、ペプチド-1 (G S Q C L G P E W E V C P Y) 配列番号 1 もしくはペプチド-2 (V Y C G P E F D E S V G C M) 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含み、または、ペプチドは、ペプチド-1 もしくはペプチド-2 のアミノ酸配列に対して、1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含み、ペプチドは s c F v の C D 3 への結合を損ない、ペプチドは腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分によって s c F v の重鎖可変ドメインの N 末端に連結され、ペプチドは半減期延長分子にさらに連結され、F a b は F a b 軽鎖ポリペプチドおよび F a b 重鎖ポリペプチドを含み、F a b 軽鎖ポリペプチドは s c F v の軽鎖可変ドメインの C 末端に連結される。

【0097】

本明細書では、いくつかの実施形態において、構成 9 にかかる構造的な配置を含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、

【0098】

【化 9】



ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、腫瘍細胞抗原に結合する F a b と、エフェク

ター細胞抗原に結合する単鎖可変フラグメント (s c F v) とを含み、F a b は F a b 軽鎖ポリペプチドおよび F a b 重鎖ポリペプチドを含み、F a b は F a b の腫瘍細胞抗原への結合を損なうペプチド (P₁) に連結され、P₁ は腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分 (L₁) によって F a b 軽鎖ポリペプチドの N 末端に連結され、P₁ は半減期延長分子にさらに連結され、s c F v は軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインを含み、s c F v の重鎖可変ドメインは F a b 重鎖ポリペプチドの N 末端に連結され、s c F v は P₂ および L₂ に連結され、P₂ は、ペプチド-1 (G S Q C L G P E W E V C P Y) 配列番号 1 もしくはペプチド-2 (V Y C G P E F D E S V G C M) 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列にかかるペプチドを含み、または、P₂ は、ペプチド-1 もしくはペプチド-2 のアミノ酸配列に対して、1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含み、P₂ は C D 3 への s c F v の結合を損ない、L₂ は P₂ に s c F v の軽鎖可変ドメインを接続し、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分を含む。

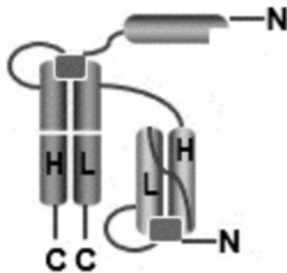
10

【0099】

本明細書では、いくつかの実施形態において、構成 10 にかかる構造的な配置を含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、

【0100】

【化 10】



20

構成 10

ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、腫瘍細胞抗原に結合する F a b と、エフェクター細胞抗原に結合する単鎖可変フラグメント (s c F v) とを含み、F a b は F a b 軽鎖ポリペプチドおよび F a b 重鎖ポリペプチドを含み、F a b は F a b の腫瘍細胞抗原への結合を損なうペプチド (P₁) に連結され、P₁ は腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分 (L₁) によって F a b 重鎖ポリペプチドの N 末端に連結され、P₁ は半減期延長分子にさらに連結され、s c F v は軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインを含み、s c F v の重鎖可変ドメインは F a b 軽鎖ポリペプチドの N 末端に連結され、s c F v は P₂ および L₂ にさらに連結され、P₂ は、ペプチド-1 (G S Q C L G P E W E V C P Y) 配列番号 1 もしくはペプチド-2 (V Y C G P E F D E S V G C M) 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列にかかるペプチドを含み、または、P₂ は、ペプチド-1 もしくはペプチド-2 のアミノ酸配列に対して、1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含み、P₂ は C D 3 への s c F v の結合を損ない、L₂ は P₂ に s c F v の軽鎖可変ドメインを接続し、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分を含む。

30

40

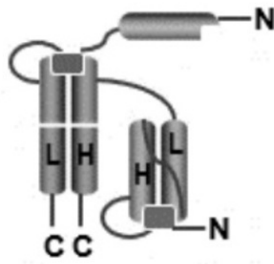
【0101】

本明細書では、いくつかの実施形態において、構成 11 にかかる構造的な配置を含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、

【0102】

50

【化 1 1】



構成 11

10

ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、腫瘍細胞抗原に結合する F a b と、エフェクター細胞抗原に結合する単鎖可変フラグメント (s c F v) とを含み、F a b は、F a b 軽鎖ポリペプチドおよび F a b 重鎖ポリペプチドを含み、F a b は F a b の腫瘍細胞抗原への結合を損なうペプチド (P₁) に連結され、P₁ は腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分 (L₁) によって F a b 軽鎖ポリペプチドの N 末端に連結され、P₁ は半減期延長分子にさらに連結され、s c F v は軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインを含み、s c F v の軽鎖可変ドメインは F a b 重鎖ポリペプチドの N 末端に連結され、s c F v は P₂ および L₂ に連結され、P₂ は、ペプチドー 1 (G S Q C L G P E W E V C P Y) 配列番号 1 もしくはペプチドー 2 (V Y C G P E F D E S V G C M) 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列にかかるペプチドを含み、または、P₂ は、ペプチドー 1 もしくはペプチドー 2 のアミノ酸配列に対して、1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含み、P₂ は C D 3 への s c F v の結合を損ない、L₂ は P₂ に s c F v の重鎖可変ドメインを接続し、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分を含む。

20

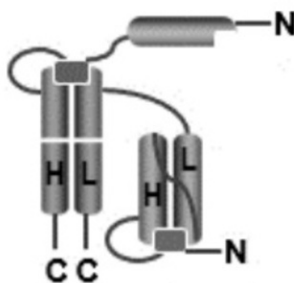
【0 1 0 3】

本明細書では、いくつかの実施形態において、構成 1 2 にかかる構造的な配置を含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体が開示され、

【0 1 0 4】

【化 1 2】

30



構成 12

40

ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、腫瘍細胞抗原に結合する F a b と、エフェクター細胞抗原に結合する単鎖可変フラグメント (s c F v) とを含み、F a b は F a b 軽鎖ポリペプチドおよび F a b 重鎖ポリペプチドを含み、F a b は F a b の腫瘍細胞抗原への結合を損なう (P₁) に連結され、P₁ は腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分 (L₁) によって F a b 重鎖ポリペプチドの N 末端に連結され、P₁ は半減期延長分子にさらに連結され、s c F v は軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインを含み、s c F v の軽鎖可変ドメインは F a b 軽鎖ポリペプチドの N 末端に連結され、s c F v は P₂ および L₂ に連結され、P₂ は、ペプチドー 1 (G S Q C L G P E W E V C P Y) 配列番号

50

1 もしくはペプチドー 2 (V Y C G P E F D E S V G C M) 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列にかかるペプチドを含み、または、P₂ は、ペプチドー 1 もしくはペプチドー 2 のアミノ酸配列に対して、1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含み、P₂ は、C D 3 への s c F v の結合を損ない、L₂ は P₂ に s c F v の重鎖可変ドメインを接続し、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である連結部分を含む。ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、いくつかの実施形態では、表 5 において記載される配列を含む。いくつかの実施形態では、配列は、配列番号 13 ~ 18 のいずれか 1 つに対して少なくともまたは約 70 %、80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の配列同一性を含む。

【0105】

10

20

30

40

50

【表 5 - 1】

表 5. ペプチド-1またはペプチド-2を含む単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体(PC)
の例示的なアミノ酸配列

構築物の記述	アミノ酸配列 (N から C)	配列番号
PC-1 - 軽鎖	QQQSGQLSCEGWAMNREQCRAGSSGGSGGS GGSGISSGLLSGRSDNHGSSGTDILLTQSPVILS VSPGERVSFSCRAS QSIGTNI HWYQQRINGSP RLLIK YASE SISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVE SEDIADYYC QONNNWPTT FGAGTKLELKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC	13
PC-1 - 重鎖	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAAS GFTFSK FG MSWVRQAPGKGLEWVSS ISGSGRDT LYA DSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTA VYYC TIGGSLSV SSQGTLVTVSSGGGGSGGG SGGGSQLGPWEVCPYGGGGSGGGSGGISS GLLSGRSDNHGGGSEVQLVESGGGLVQPGGS LKLSCAAS GFTFNKY AMNWVRQAPGKGLE WVAR IRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDAVYYC VRHGNFGN SYISYWAY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGSG GGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGA VTSGNYP NWVQKPGQAPRGLIG GTK FLAP GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWV FGGGTKLTVLGGGGSQVQL KQSGPGLVQPSQSLITCTVS GFSLTNYG VH WVRQSPGKGLEWLGVI WSGGNT DYNTPFTS RLSINKDNSKSKVFFKMNSLQSQDTAIYYC AR ALTYDYEFAY WGQGLTVTVSAASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	14
PC-2 - 軽鎖	QQQSGQLSCEGWAMNREQCRAGSSGGSGGS GGSGISSGLLSGRSDNHGSSGTDILLTQSPVILS VSPGERVSFSCRAS QSIGTNI HWYQQRINGSP RLLIK YASE SISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVE SEDIADYYC QONNNWPTT FGAGTKLELKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC	15
PC-2 - 重鎖	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAAS GFTFSK FG MSWVRQAPGKGLEWVSS ISGSGRDT LYA DSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTA VYYC TIGGSLSV SSQGTLVTVSSGGGGSGGG SGGVYCGPEFDESVCMMGGGGSGGGSGGISS GLLSGRSDNHGGGSEVQLVESGGGLVQPGGS LKLSCAAS GFTFNKY AMNWVRQAPGKGLE WVAR IRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDAVYYC VRHGNFGN SYISYWAY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGSG GGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGA VTSGNYP NWVQKPGQAPRGLIG GTK FLAP GTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY	16

【 0 1 0 6 】

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

	CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGSQVQL KQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSSGGNTDYNTPFTS RLSINKDNSKSKQVFFKMNSLQSQDTAIYYCAR ALTYDYEFAYWGQGTILVTVSAASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSC	
PC-3 - 軽鎖	QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIH WYQQRNGSPRLLIKVASISGISRFSGSGS GTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTF GAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	17
PC-3 - 重鎖	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTE DTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTIL VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGTIVVTQEPSLT VSPGGTVTLTCGSSIGAVTSGNYPNWVQOKP GQAPRGLIGTIKFLAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT KLTVLGGGGSQVQLKQSGPGLVQPSQSLITC TVSGFSLTNYGVHWRQSPGKGLEWLGVIW SSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSKQVFFKMNS LQSQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTIL VTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSTLTQTYICNVNHNKPSN TKVDKKVEPKSC	18

10

20

【0107】

ポリペプチドまたはポリペプチド複合体をコードするポリヌクレオチド

本明細書では、いくつかの実施形態において、本明細書で開示されるようなポリペプチドまたはポリペプチド複合体をコードする単離された組換え核酸分子が開示される。いくつかの実施形態では、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、抗体または抗体フラグメントを含む。

30

【0108】

本明細書では、いくつかの実施形態において、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体をコードする単離された組換え核酸分子が開示され、ペプチドは、ペプチド-1 (GSQCLGPEWEVCPY) 配列番号1もしくはペプチド-2 (VYCGPEFDES VGCM) 配列番号2に記載のアミノ酸配列を含み、または、ペプチドは、ペプチド-1もしくはペプチド-2のアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含む。本明細書では、いくつかの実施形態において、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体をコードする単離された組換え核酸分子が開示され、ペプチドは、ペプチド-1 (GSQCLGPEWEVCPY) 配列番号1またはペプチド-2 (VYCGPEFDES VGCM) 配列番号2に記載のアミノ酸配列を含む。

40

【0109】

本明細書では、いくつかの実施形態において、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体をコードする単離された組換え核酸分子が開示され、ペプチドは、配列番号1~2、19~55から選択されるアミノ酸配列を含み、またはペプチドは、配列番号1~2、19~55から選択されるアミ

50

ノ酸配列に対して、1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号1～2および19～55から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号1のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号2のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号54のアミノ酸配列を含む。

【0110】

本明細書では、いくつかの実施形態において、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドに連結される抗CD3結合ドメインを含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体をコードする単離された組換え核酸分子が開示され、ペプチドは、Z₁—Z₂—C—Z₄—P—Z₆—Z₇—Z₈—Z₉—Z₁₀—Z₁₁—Z₁₂—C—Z₁₄によるアミノ酸配列を含み、Z₁はD、Y、F、I、N、V、H、L、A、T、S、およびPから選択され、Z₂はD、Y、L、F、I、N、A、V、H、T、およびSから選択され、Z₄はGおよびWから選択され、Z₆はE、D、V、およびPから選択され、Z₇はW、L、F、V、G、M、I、およびYから選択され、Z₈はE、D、P、およびQから選択され、Z₉はE、D、Y、V、F、W、P、L、およびQから選択され、Z₁₀はS、D、Y、T、I、F、V、N、A、P、L、およびHから選択され、Z₁₁はI、Y、F、V、L、T、N、S、D、A、およびHから選択され、Z₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、N、T、P、S、およびHから選択され、Z₁₄はD、Y、N、F、I、P、V、A、T、H、L、およびSから選択される。いくつかの実施形態では、Z₁はD、Y、F、I、およびNから選択され、Z₂はD、Y、L、F、I、およびNから選択され、Z₄はGおよびWから選択され、Z₆はEおよびDから選択され、Z₇はW、L、F、およびVから選択され、Z₈はEおよびDから選択され、Z₉はE、D、Y、およびVから選択され、Z₁₀はS、D、Y、T、およびIから選択され、Z₁₁はI、Y、F、V、L、およびTから選択され、Z₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、およびNから選択され、Z₁₄はD、Y、N、F、I、およびPから選択される。いくつかの実施形態では、Z₁はD、Y、およびFから選択され、Z₂はD、Y、L、およびFから選択され、Z₄はGおよびWから選択され、Z₆はEおよびDから選択され、Z₇はW、L、およびFから選択され、Z₈はEおよびDから選択され、Z₉はEおよびDから選択され、Z₁₀はS、D、およびYから選択され、Z₁₁はI、Y、およびFから選択され、Z₁₂はF、D、Y、およびLから選択され、Z₁₄はD、Y、およびNから選択される。いくつかの実施形態では、ペプチドは表17のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号44～55のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号2のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号54のアミノ酸配列を含む。

【0111】

本明細書では、いくつかの実施形態において、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドに連結される抗CD3結合ドメインを含むポリペプチドまたはポリペプチド複合体をコードする単離された組換え核酸分子が開示され、ペプチドは、U₁—U₂—C—U₄—P—U₆—U₇—U₈—U₉—U₁₀—U₁₁—U₁₂—C—U₁₄によるアミノ酸配列を含み、U₁はD、Y、F、I、N、V、H、L、A、T、S、およびPから選択され、U₂はD、Y、L、F、I、N、A、V、H、T、およびSから選択され、U₄はGおよびWから選択され、U₆はE、D、V、およびPから選択され、U₇はW、L、F、V、G、M、I、およびYから選択され、U₈はE、D、P、およびQから選択され、U₉はE、D、Y、V、F、W、P、L、およびQから選択され、U₁₀はS、D、Y、T、I、F、V、N、A、P、L、およびHから選択され、U₁₁はI、Y、F、V、L、T、N、S、D、A、およびHから選択され、U₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、N、T、P、S、G、およびHから選択され、U₁₄はD、Y、N、F、I、P、V、A、T、H、L、M、およびSから選択される。いくつかの実施形態では、U₁はD、Y、F、I、V、およびNから選択され、U₂はD、Y、L、F、I、およびNから選択され、U₄はGおよびWから選択され、U₆はEおよびDから選択され、U₇はW、L、

F、G、およびVから選択され、 U_8 はEおよびDから選択され、 U_9 はE、D、Y、およびVから選択され、 U_{10} はS、D、Y、T、およびIから選択され、 U_{11} はI、Y、F、V、L、およびTから選択され、 U_{12} はF、D、Y、L、I、V、A、G、およびNから選択され、 U_{14} はD、Y、N、F、I、M、およびPから選択される。いくつかの実施形態では、 U_1 はD、Y、V、およびFから選択され、 U_2 はD、Y、L、およびFから選択され、 U_4 はGおよびWから選択され、 U_6 はEおよびDから選択され、 U_7 はW、L、G、およびFから選択され、 U_8 はEおよびDから選択され、 U_9 はEおよびDから選択され、 U_{10} はS、D、T、およびYから選択され、 U_{11} はI、Y、V、L、およびFから選択され、 U_{12} はF、D、Y、G、A、およびLから選択され、 U_{14} はD、Y、M、およびNから選択される。いくつかの実施形態では、ペプチドは表17の
10
アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号44～55のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号2
アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは配列番号54のアミノ酸配列を含む。

【0112】

いくつかの実施形態では、ペプチドは、 $A_1-L_1-P_1$ （式I）に記載の構成において抗CD3結合ドメインに接続され、式中、 A_1 は抗CD3結合ドメインを含み、 L_1 は、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である切断可能なリンカーを含み、 P_1 は、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは、 A_1-L_1-P （式I）に記載の構成において抗CD3結合ドメインに接続され、
20
式中、 A_1 は抗CD3結合ドメインであり、 L_1 は、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である切断可能なリンカーであり、 P_1 は、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドである。いくつかの実施形態では、ペプチドは、式I： $A_1-L_1-P_1$ （式I）の構成において抗CD3結合ドメインに接続され、式中、 A_1 は抗CD3結合ドメイン
30
を含み、 L_1 は、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である切断可能なリンカーを含み、 P_1 は、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは、式I： $A_1-L_1-P_1$ （式I）の構成において抗CD3結合ドメインに接続され、式中、 A_1 は抗CD3結合ドメインであり、 L_1 は、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である切断可能なリンカーであり、 P_1 は、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドである。いくつかの実施形態では、 A_1 は、腫瘍抗原結合ド
40
メイン（ A_2 ）にさらに連結される。いくつかの実施形態では、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、式Ia： $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1$ （式Ia）によるものであり、 P_2 は腫瘍抗原への A_2 の結合を損なうペプチドを含み、 L_2 は、 A_2 を P_2 に接続し、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である第2の切断可能なリンカーを含む。

【0113】

医薬組成物

本明細書では、いくつかの実施形態において、医薬組成物が開示され、上記医薬組成物は、（a）本明細書に開示されるようなポリペプチドまたはポリペプチド複合体と、（b）
薬学的に許容可能な賦形剤と、を含む。

【0114】

いくつかの実施形態では、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、検出可能な標識、治療剤、または薬物動態学的修飾部分をさらに含む。いくつかの実施形態では、検出可能な標識は、蛍光標識、放射性標識、酵素、核酸プローブ、または造影剤を含む。

【0115】

対象への投与のために、本明細書に開示されるようなポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、1つ以上の薬学的に許容可能な担体または賦形剤とともに、医薬組成物で提供され得る。「薬学的に許容可能な担体」という用語は、限定されないが、成分の生物活性の有効性に干渉せず、および投与される患者に対して毒性ではない担体を含む。適切な医薬担体の例は、当該技術分野で周知であり、リン酸緩衝食塩水、水、油／水エマルジョンなどのエマルジョン、様々なタイプの湿潤剤、無菌液などを含む。このような担体は、従
50

来の方法によって製剤化することができ、適切な用量で対象に投与することができる。好ましくは、組成物は滅菌される。これらの組成物は、防腐剤、乳化剤、および分散剤などのアジュバントも含有し得る。微生物の作用の予防は、様々な抗菌剤および抗真菌剤を含めることによって確実なものとすることができる。

【0116】

医薬組成物は、（所望の投与方法に応じて）任意の適切な形態であってよい。医薬組成物は、単位剤形で提供されてもよく、密封された容器で提供されてもよく、キットの一部として提供されてもよい。そのようなキットは使用説明書を含んでもよい。それは複数の前記単位剤形を含んでもよい。

【0117】

医薬組成物は、非経口経路（例えば、皮下、筋肉内、または静脈内）経路を含む、任意の適切な経路による投与に適合させることができる。そのような組成物は、例えば、無菌条件下で活性成分を担体または賦形剤と混合することによって、薬学の技術分野で知られている任意の方法によって調製することができる。

【0118】

本開示の物質の用量は、処置される疾患または障害、処置される個体の年齢および状態などに応じて、広範な限界の間で変化し得、最終的に医師が使用すべき適切な用量を決定する。

【0119】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチド（例えば、抗体とその結合フラグメント）は、とりわけ、化学合成によって、または組換え発現によって、ポリペプチド（例えば、抗体）の合成に役立つように当該技術分野で知られている任意の方法を使用して生成され、および、好ましくは組換え発現技術によって生成される。

【0120】

いくつかの例では、抗体またはその結合フラグメントは組換え発現され、抗体またはその結合フラグメントをコードする核酸は、化学的に合成されたオリゴヌクレオチドから（例えば、Kutmeier et al., 1994, BioTechniques 17:242に記載されるように）組み立てられ、これは、抗体をコードする配列の一部を含有する重複オリゴヌクレオチドの合成、それらのオリゴヌクレオチドのアニーリングとライゲーション、および、その後のPCRによるライゲートされたオリゴヌクレオチドの増幅を含む。

【0121】

代替的に、抗体をコードする核酸分子は、配列の3'末端と5'末端へハイブリダイズすることができる合成プライマーを使用するPCR増幅によって、あるいは特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを使用してクローンを作ることによって、適切なソース（例えば、抗体cDNAライブラリー、または免疫グロブリンを発現する任意の組織もしくは細胞から生成されたcDNAライブラリー）から任意選択的に生成される。

【0122】

いくつかの例では、抗体またはその結合は、ポリクローナル抗体を産生するためにマウスなどの動物を免疫化することにより、または、より好ましくは、例えば、KohlerおよびMilstein (1975, Nature 256:495-497) によって記載されるように、または、Kozborら (1983, Immunology Today 4:72)、あるいはColeら (1985 in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96) によって記載されるように、モノクローナル抗体を産生することによって、任意選択的に生成される。代替的に、抗体の少なくともFab部分をコードするクローンは、特異的抗原に結合するFabフラグメントのクローンについてFab発現ライブラリーをスクリーニングすることにより（例えば、Huse et al., 1989, Science 246:1275-1281に記載される）、または抗体ライブラリーをスクリーニングすることにより（Clackson et al., 1

10

20

30

40

50

991, Nature 352:624; Hane et al., 1997 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:4937を参照)、任意選択的に得られる。

【0123】

いくつかの実施形態では、適切な生物学的活性のヒト抗体分子からの遺伝子と一緒に、適切な抗原特異性のマウス抗体分子からの遺伝子をスプライシングすることにより、「キメラ抗体」の産生のために開発された技術 (Morrison et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. 81:851-855; Neuberger et al., 1984, Nature 312:604-608; Takeida et al., 1985, Nature 314:452-454) が使用される。キメラ抗体は、異なる部分が、マウスモノクローナル抗体に由来する可変領域、およびヒト免疫グロブリン定常領域を有する動物種などの様々な動物種に由来する分子である。

10

【0124】

いくつかの実施形態では、一本鎖抗体の産生について記載された技術 (U. S. Pat. No. 4,694,778; Bird, 1988, Science 242:423-42; Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883、および Ward et al., 1989, Nature 334:544-54) は、一本鎖抗体を産生するために適合される。一本鎖抗体は、アミノ酸架橋によって Fv 領域の重鎖および軽鎖のフラグメントを結合することによって形成され、結果として一本鎖ポリペプチドを生じさせる。大腸菌中の機能的な Fv フラグメントの組み立てのための技術も任意選択で使用される (Skerra et al., 1988, Science 242:1038-1041)。

20

【0125】

いくつかの実施形態では、抗体のヌクレオチド配列を含む発現ベクターまたは抗体のヌクレオチド配列は、従来の技術 (例えば、エレクトロポレーション、リポソームトランスフェクション、および、リン酸カルシウム沈殿反応) によって宿主細胞に導入され、トランスフェクトされた細胞はその後、従来の技術によって培養されて、抗体を産生する。特定の実施形態では、抗体の発現は、構成的な、誘導可能な、または組織特異的なプロモーターによって調節される。

【0126】

いくつかの実施形態では、様々な宿主発現ベクター系が、本明細書に記載される抗体またはその結合フラグメントを発現するために利用される。そのような宿主発現系は、抗体のコード配列が生成され、その後精製されるビヒクルを表すだけでなく、適切なヌクレオチドコード配列で形質転換されるか、またはトランスフェクトされるときに、抗体またはその結合フラグメントをインサイチュで発現する細胞も表す。これらは、限定されないが、抗体もしくはその結合フラグメントコード配列を含む組換えバクテリオファージ DNA、プラスミド DNA、またはコスミド DNA 発現ベクターで形質転換された細菌 (例えば、大腸菌と枯草菌) などの微生物、抗体またはその結合フラグメントコード配列を含む組換え酵母発現ベクターで形質転換された酵母 (例えば、サッカロミセス・ピキア)、抗体またはその結合フラグメントコード配列を含む組換えウイルス発現ベクター (例えば、バキュロウイルス) に感染した昆虫細胞系、組換えウイルス発現ベクター (例えば、カリフラワーモザイクウイルス (CaMV) およびタバコモザイクウイルス (TMV)) に感染した、あるいは、抗体またはその結合フラグメントコード配列を含む組換えプラスミド発現ベクター (例えば、Ti プラスミド) で形質転換された植物細胞系、あるいは、哺乳動物細胞のゲノムに由来するプロモーター (例えば、メタロチオネインプロモーター)、または、哺乳動物ウイルスに由来するプロモーター (例えば、アデノウイルス後期プロモーター、ワクシニアウイルス 7.5 K プロモーター) を含む、組換え発現構築物を保有する哺乳動物細胞系 (例えば、COS、CHO、BH、293、293T、3T3 細胞) を含む。

30

40

【0127】

50

組換えタンパク質の長期的かつ高収率の生成のためには、安定した発現が好ましい。いくつかの例では、安定して抗体を発現する細胞株が任意選択的に操作される。ウイルスの複製開始点を含む発現ベクターを使用するのではなく、宿主細胞は、適切な発現制御要素（例えば、プロモーター、エンハンサー、配列、転写ターミネーター、ポリアデニル化部位など）および選択可能なマーカーによって制御されたDNAで形質転換される。外来性DNAの導入後に、操作した細胞を富化培地で1～2日間成長させ、その後、選択培地に切り替える。組換えプラスミドにおける選択可能なマーカーは、選択に対する耐性を与え、細胞がプラスミドをその染色体に安定的に統合し、成長してフォーカスを形成することをできるようにし、フォーカスはクローン化されて細胞株へと拡大する。この方法は、抗体またはその結合フラグメントを発現する細胞株を操作するために有利に使用することができる。

10

【0128】

いくつかの例では、限定されないが、それぞれtk細胞、hgprt細胞、またはaprt細胞で利用される、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ (Wigler et al., 1977, Cell 11:223)、ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (Szybalska & Szybalski, 1972, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48:202)、およびアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (Lowy et al., 1980, Cell 22:817) 遺伝子を含む多くの選択系が使用される。同様に、代謝拮抗薬の耐性は、以下の遺伝子：メトトレキサートに対する耐性を与えるdhfr (Wigler et al., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:357; O'Hare et al., 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527)、ミコフェノール酸に対する耐性を与えるgpt (Mulligan & Berg, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072)、アミノグリコシドG-418に対する耐性を与えるneo (Clinical Pharmacy 12:488-505; Wu and Wu, 1991, Biotherapy 3:87-95; Tolstoshev, 1993, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596; Mulligan, 1993, Science 260:926-932、およびMorgan and Anderson, 1993, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217; May, 1993, TIB TECH 11(5):155-215)、ならびに、ヒグロマイシンに対する耐性を与えるhygro (Santerre et al., 1984, Gene 30:147) の選定基準として使用される。使用可能な組換えDNA技術の技術分野で一般的に知られている方法は、Ausubel et al. (eds., 1993, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY; Kriegler, 1990, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY; and in Chapters 12 and 13, Dracopoli et al. (eds), 1994, Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY.; Colberre-Garapin et al., 1981, J. Mol. Biol. 150:1) に記載される。

20

30

40

【0129】

いくつかの例では、抗体の発現レベルは、ベクター増幅によって増加する（検討のために、Bebbington and Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3. (Academic Press, New York, 1987を参照)）。抗体を発現するベクター系におけるマ-

50

カーが増幅可能である場合、宿主細胞の培養物中に存在する阻害剤のレベルが増加すると、マーカー遺伝子のコピーの数が増加する。増幅領域が抗体のヌクレオチド配列に関連しているため、抗体の産生も増加する (Crouse et al., 1983, Mol. Cell Biol. 3:257)。

【0130】

いくつかの例では、当該技術分野で知られている抗体の精製のための任意の方法は、例えば、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換、親和性、とりわけ、プロテインAの後の特異的な抗原への親和性、および、サイジングカラムクロマトグラフィー）、遠心分離、差次的溶解性によって、またはタンパク質の精製のための他の標準的な技術によって使用される。

【0131】

発現ベクター

いくつかの実施形態では、ベクターは、真核生物または原核生物の供給源に由来するあらゆる適切なベクターを含む。場合によっては、ベクターは、細菌（例えばE. coli）、昆虫、酵母（例えば、ピキア・パストリス (Pichia pastoris)、藻類、または哺乳動物の供給源から得られる。例示的な細菌ベクターは、pACYC177、pASK75、pBADベクター系、pBADMBベクター系、pETベクター系、pETMBベクター系、pGEXベクター系、pHAT、pHAT2、pMal-c2、pMal-p2、pQEベクター系、pRSET A、pRSET B、pRSET C、pTrcHis2系、pZA31-Luc、pZE21-MCS-1、pFLAG ATS、pFLAG CTS、pFLAG MAC、pFLAG Shift-12c、pTAC-MAT-1、pFLAG CTC、またはpTAC-MAT-2を含む。

【0132】

例示的な昆虫ベクターは、pFastBac1、pFastBac DUAL、pFastBac ET、pFastBac HTa、pFastBac HTb、pFastBac HTc、pFastBac M30a、pFastBact M30b、pFastBac、M30c、pVL1392、pVL1393、pVL1393 M10、pVL1393 M11、pVL1393 M12、FLAGベクター、例えば、pPolh-FLAG1またはpPolh-MAT 2、あるいはMATベクター、例えば、pPolh-MAT1、またはpPolh-MAT2を含む。

【0133】

場合によっては、酵母ベクターは、Gateway（登録商標）pDEST（商標）14ベクター、Gateway（登録商標）pDEST（商標）15ベクター、Gateway（登録商標）pDEST（商標）17ベクター、Gateway（登録商標）pDEST（商標）24ベクター、Gateway（登録商標）pYES-DEST52ベクター、pBAD-DEST49 Gateway（登録商標）デスティネーションベクター、pAO815 ピキア (Pichia) ベクター、pFLD1 ピキア・パストリス (Pichia pastoris) ベクター、pGAPZA、B、およびCのピキア・パストリス (Pichia pastoris) ベクター、pPIC3.5K ピキア (Pichia) ベクター、pPIC6 A、B、およびCのピキア (Pichia) ベクター、pPIC9K ピキア (Pichia) ベクター、pTEF1/Zeo、pYES2酵母ベクター、pYES2/CT酵母ベクター、pYES2/NT A、B、およびCの酵母ベクター、またはpYES3/CT酵母ベクターを含む。

【0134】

例示的な藻類ベクターはpChlamy-4ベクターまたはMCSベクターを含む。

【0135】

哺乳動物ベクターの例は、一過性発現ベクターまたは安定した発現ベクターを含む。哺乳動物の一過性発現ベクターは、pRK5、p3xFLAG-CMV 8、pFLAG-Myc-CMV 19、pFLAG-Myc-CMV 23、pFLAG-CMV 2、pFLAG-CMV 6a, b, c、pFLAG-CMV 5.1、pFLAG-CMV

5 a, b, c, p 3 x F L A G - C M V 7. 1, p F L A G - C M V 2 0, p 3 x F L A G - M y c - C M V 2 4, p C M V - F L A G - M A T 1, p C M V - F L A G - M A T 2, p B I C E P - C M V 3, または、p B I C E P - C M V 4 を含み得る。哺乳動物の安定した発現ベクターは、p F L A G - C M V 3、p 3 x F L A G - C M V 9、p 3 x F L A G - C M V 1 3、p F L A G - M y c - C M V 2 1、p 3 x F L A G - M y c - C M V 2 5、p F L A G - C M V 4、p 3 x F L A G - C M V 1 0、p 3 x F L A G - C M V 1 4、p F L A G - M y c - C M V 2 2、p 3 x F L A G - M y c - C M V 2 6、p B I C E P - C M V 1、または p B I C E P - C M V 2 を含み得る。

【0136】

いくつかの例では、無細胞系は、細胞からの細胞質成分および／または核成分の混合物であり、インビトロでの核酸合成に使用される。場合によっては、無細胞系は原核細胞成分または真核細胞成分のいずれかを利用する。しばしば、核酸合成は、例えば、ショウジョウバエ細胞 (*Drosophila cell*)、ツメガエル卵子 (*Xenopus egg*)、または *HeLa* 細胞に基づいた無細胞系において得られる。例示的な無細胞系は、限定されないが、大腸菌 S 3 0 抽出物系、大腸菌 T 7 S 3 0 系、または P U R E x p r e s s (登録商標) を含む。

【0137】

宿主細胞

いくつかの実施形態では、宿主細胞は、任意の適切な細胞、例えば、天然由来の細胞または遺伝子組換えされた細胞を含む。いくつかの例では、宿主細胞は産生宿主細胞である。いくつかの例では、宿主細胞は真核細胞である。他の例では、宿主細胞は原核細胞である。場合によっては、真核細胞は真菌 (例えば、酵母菌)、動物細胞、または植物細胞を含む。場合によっては、原核細胞は細菌細胞である。細菌細胞の例はグラム陽性菌またはグラム陰性菌を含む。しばしば、グラム陰性菌は嫌気性、桿状、またはその両方である。

【0138】

いくつかの例では、グラム陽性菌は放線菌門 (*Actinobacteria*)、ファームキューテス門 (*Firmicutes*)、またはテネリクテス門 (*Tenericutes*) を含む。場合によっては、グラム陰性菌は、アクウィフェクス門 (*Aquificae*)、デイノコッカス-サーマス門 (*Deinococcus-Thermus*)、フィプロバクター門 (*Fibrobacteres*)、クロロビウム門 (*Chlorobi*) / バクテロイデス門 (*Bacteroidetes*) (FCB 群)、フソバクテリウム門 (*Fusobacteria*)、ゲンマティモナス門 (*Gemmatimonadetes*)、ニトロスピラ門 (*Nitrospirae*)、プランクトミケス門 (*Planctomycetes*)、ベルコミクロビウム門 (*Verrucomicrobia*) / クラミジア属 (*Chlamydiae*) (PVC 群)、プロテオバクテリア (*Proteobacteria*)、スピロヘータ門 (*Spirochaetes*)、またはシネルギステス門 (*Synergistetes*) を含む。他の細菌は、アシドバクテリウム門 (*Acidobacteria*)、緑色非硫黄細菌門 (*Chloroflexi*)、クリシオゲネス門 (*Chrysiogenetes*)、シアノバクテリア (*Cyanobacteria*)、デフェリバクター門 (*Deferribacteres*)、ディクチオグロムス門 (*Dictyoglomi*)、サーモデスルフォバクテリア門 (*Thermodesulfobacteria*)、またはテルモトガ門 (*Thermotogae*) であり得る。細菌細胞は大腸菌、ボツリヌス菌、または大腸菌であり得る。

【0139】

例示的な原核生物宿主細胞は、限定されないが、B L 2 1、M a c h 1 (商標)、D H 1 0 B (商標)、T O P 1 0、D H 5 α、D H 1 0 B a c (商標)、O m n i M a x (商標)、M e g a X (商標)、D H 1 2 S (商標)、I N V 1 1 0、T O P 1 0 F'、I N V α F、T O P 1 0 / P 3、c c d B S u r v i v a l、P I R 1、P I R 2、S t b l 2 (商標)、S t b l 3 (商標)、または S t b l 4 (商標) を含む。

10

20

30

40

50

【0140】

いくつかの例では、動物細胞は脊椎動物または無脊椎動物に由来する細胞を含む。場合によっては、動物細胞は、海洋無脊椎動物、魚、昆虫、両生類、爬虫類、または哺乳動物に由来する細胞を含む。場合によっては、真菌細胞は、ビール酵母、パン酵母、またはワイン酵母などの酵母菌を含む。

【0141】

真菌は子囊菌、例えば、酵母菌、カビ、糸状菌、担子菌、または接合菌を含む。いくつかの例では、酵母菌は子囊菌または担子菌を含む。場合によっては、子囊菌は、サッカロミセス亜門 (*Saccharomycotina*) (真正酵母菌、例えば、ビール酵母菌 (パン酵母)) またはタフリナ菌亜門 (*Taphrinomycotina*) (例えば、シゾサッカロミセス綱 (*Schizosaccharomycetes*) (分裂酵母)) を含む。場合によっては、担子菌はハラタケ亜門 (*Agaricomycotina*) (例えば、シロキクラゲ綱 (*Tremellomycetes*)) またはサビキン亜門 (*Pucciniomycotina*) (例えば、ミクロボトリウム菌綱 (*Microbotryomycetes*)) を含む。

【0142】

例示的な酵母菌または糸状菌としては、例えば、属：サッカロミセス、分裂酵母、カンジダ属、ピキア、ハンゼヌラ、クリベロマイセス (*Kluyveromyces*)、チゴサッカロミセス (*Zygosaccharomyces*)、ヤロウイア属 (*Yarrowia*)、トリコスボロン属 (*Trichosporon*)、ロドスポリデウム属 (*Rhodospiridi*)、アスペルギルス (*Aspergillus*)、フザリウム属 (*Fusarium*)、またはトリコデルマ属 (*Trichoderma*) が挙げられる。例示的な酵母菌または糸状菌は、例えば、種：ビール酵母菌、分裂酵母、カンジダ・ユチリス (*Candida utilis*)、カンジダ・ボイジニ (*Candida boidini*)、カンジダ・アルビカンス (*Candida albicans*)、カンジダ・トロピカリス (*Candida tropicalis*)、カンジダ・ステラトイデア (*Candida stellatoidea*)、カンジダ・グラブラータ (*Candida glabrata*)、カンジダ・クルセイ (*Candida krusei*)、カンジダ・パラプシローシス (*Candida parapsilosis*)、カンジダ・ギリエルモンジイ (*Candida guilliermondii*)、カンジダ・ビスワナチイ (*Candida viswanathii*)、カンジダ・ルシタニエ (*Candida lusitaniae*)、ロドトルラ・ムチラギノーザ (*Rhodotorula mucilaginosus*)、ピキア・メタノリカ (*Pichia metanolica*)、ピキア・アングスタ (*Pichia angusta*)、ピキア・パストリス (*Pichia pastoris*)、ピキア・アノマラ (*Pichia anomala*)、ハンゼヌラ・ポリモルファ (*Hansenula polymorpha*)、クライベロマイセス・ラクチス (*Kluyveromyces lactis*)、チゴサッカロミセス・ローキシ (*Zygosaccharomyces rouxii*)、ヤロウイア・リポリティカ (*Yarrowia lipolytica*)、トリコスボロン・プルランス (*Trichosporon pullulans*)、ロスポリジウム・トルーアスペルギルス・ニガー (*Rhodospiridium toru-Aspergillus niger*)、アスペルギルス・ニードランス (*Aspergillus nidulans*)、アスペルギルス・アワモリ (*Aspergillus awamori*)、アスペルギルス・オリゼ (*Aspergillus oryzae*)、トリコデルマ・リーゼイ (*Trichoderma reesei*)、ヤロウイア・リポリティカ (*Yarrowia lipolytica*)、ブレタノミセス・ブルセレンシス (*Brettanomyces bruxellensis*)、カンジダ・ステラータ (*Candida stellata*)、分裂酵母、*Torulaspora delbrueckii*、*Zygosaccharomyces bailii*、クリプトコッカス・ネオフォルマンズ (*Cryptococcus neoformans*)、クリプトコッカス・ガッティ

10

20

30

40

50

(*Cryptococcus gattii*)、またはサッカロマイセス・ブラウディ (*Saccharomyces boulardii*) を含む。

【0143】

例示的な酵母宿主細胞は、限定されないが、GS115、KM71H、SMD1168、SMD1168H、およびX-33などのピキア・パストリス酵母菌株、INVSc1などのサッカロマイセス・セレビスエ酵母菌株を含む。

【0144】

いくつかの実施態様では、追加の動物細胞は、軟体動物、節足動物、環形動物、または海綿動物から得られる細胞を含む。いくつかの実施態様では、追加の動物細胞は、例えば、霊長類、類人猿、ウマ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコ、またはげっ歯類に由来する哺乳動物細胞である。場合によっては、げっ歯類は、マウス、ラット、ハムスター、スナネズミ、ハムスター、チンチラ、ファンシーラット、またはモルモットを含む。

10

【0145】

例示的な哺乳動物宿主細胞としては、限定されないが、293A細胞株、293FT細胞株、293F細胞、293H細胞、CHO DG44細胞、CHO-S細胞、CHO-K1細胞、FUT8 KO CHOK1、Exp1293F (商標) 細胞、Flp-In (商標) T-REx (商標) 293細胞株、Flp-In (商標) -293細胞株、Flp-In (商標) -3T3細胞株、Flp-In (商標) -BHK細胞株、Flp-In (商標) -CHO細胞株、Flp-In (商標) -CV-1細胞株、Flp-In (商標) -Jurkat細胞株、FreeStyle (商標) 293-F細胞、FreeStyle (商標) CHO-S細胞、GripTite (商標) 293 MSR細胞株、GS-CHO細胞株、HepaRG (商標) 細胞、T-REx (商標) Jurkat細胞株、Per.C6細胞、T-REx (商標) -293細胞株、T-REx (商標) -CHO細胞株、およびT-REx (商標) -HeLa細胞株が挙げられる。

20

【0146】

いくつかの例では、哺乳動物宿主細胞は、安定した細胞株であるか、または関心対象の遺伝物質をそれ自体のゲノムに組み込み、細胞分裂の多くの世代後に遺伝物質の生成物を発現する能力を有する細胞株である。他場合によっては、哺乳動物宿主細胞は、一過性の細胞株であるか、または対象の遺伝物質をそれ自体のゲノムに組み込んでおらず、細胞分裂の多くの世代後に遺伝物質の生成物を発現する能力を有していない細胞株である。

30

【0147】

例示的な昆虫宿主細胞としては、限定されないが、ショウジョウバエS2細胞、Sf9細胞、Sf21細胞、High Five (商標) 細胞、およびexpressSF+ (登録商標) 細胞が挙げられる。

【0148】

いくつかの例では、植物細胞は藻類からの細胞を含む。例示的な昆虫細胞株としては、限定されないが、コナミドリムシ (*Chlamydomonas reinhardtii*) 137cまたはシネココッカス (*Synechococcus elongatus*) PPC 7942からの株が挙げられる。

【0149】

40

製品

本発明の他の態様では、上記の障害の処置、予防、および／または診断に役立つ材料を含む製品が提供される。製品は、容器、および容器上のまたは容器に付属のラベルまたは添付文書を含む。適切な容器は例えば、瓶、バイアル、シリンジ、IV溶液バッグなどを含む。容器はガラスまたはプラスチックなどの様々な材料から形成されてもよい。容器は、疾病を処置、予防、および／または診断するのに有効な組成物を、単独でまたは別の組成物と組み合わせて保持し、無菌アクセスポートを有し得る (例えば、容器は、皮下注射針によって貫通可能な栓を有する静脈用注射液バッグまたはバイアルであってもよい)。組成物中の少なくとも1つの活性薬剤は、CD3に特異的に結合する第1の抗原結合部位、および本明細書中で先に定義された腫瘍抗原に特異的に結合する第2の抗原結合部位を

50

含む二重特異性抗体である。

【0150】

ラベルまたは添付文書は、選択された状態を処置するために組成物が使用されることを示している。さらに、製品は、(a) 内部に組成物が入れた第1の容器であって、組成物は本発明の二重特異性抗体を含む、第1の容器と、(b) 内部に組成物が入れた第2の容器であって、組成物はさらに細胞毒性剤またはそうでなければ治療剤を含む、第2の容器とを含み得る。本発明のこの実施形態における製品は、特定の状態を処置するために上記組成物を使用することができることを示す添付文書をさらに含み得る。

【0151】

代替的にまたは追加的に、製品はさらに、注射用の静菌性の水(BWFI)、リン酸緩衝食塩水、リンゲル溶液、およびデキストロース溶液などの薬学的に許容可能な緩衝液を含む、第2の(または第3の)容器を含んでもよい。それはさらに、他の緩衝剤、希釈剤、フィルタ、針、およびシリンジを含む、商業的かつユーザー寄りの観点から望ましい他の材料を含んでいる。

【0152】

特定の定義

本明細書で使用される用語は、特定の事例のみを記載することを目的としており、本発明を限定することを意図していない。本明細書で使用されるように、単数形「a」、「an」、および「the」は、文脈が他に明白に示していない限り、複数形を同様に含むことが意図されている。さらに、「含むこと(including)」、「含む(includes)」、「有すること(having)」、「有する(has)」、「とともに(with)」という用語またはその変形が、詳細な記載および／または請求項のいずれかで使用される程度まで、そのような用語は、「含む(comprising)」という用語に類似した方法で含まれるように意図されている。

【0153】

「抗体」という用語は、最も広い意味で使用され、完全に組み立てられた抗体、抗原を結合することができる抗体フラグメント、例えば、Fab、F(ab')₂、Fv、一本鎖抗体(scFv)、ダイアボディ、抗体キメラ、ハイブリッド抗体、二重特異性抗体などを包含する。

【0154】

「相補性決定領域」または「CDR」という用語は、抗体が結合するエピトープに対して構造が相補的であり、可変領域の残りよりも可変度が高い抗体の可変領域のセグメントである。これに応じて、CDRはしばしば超可変領域と呼ばれる。可変領域は3つのCDRを含む。CDRペプチドは関心対象の抗体のCDRをコードする遺伝子の構築により得ることができる。そのような遺伝子は、例えば、抗体産生細胞のRNAからの可変領域を合成するためにポリメラーゼ連鎖反応を使用することにより、調製される。例えば、Larrick et al., Methods: A Companion to Methods in Enzymology 2: 106 (1991); Courtenay-Luck, "Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies," in Monoclonal Antibodies: Production, Engineering and Clinical Application, Ritter et al. (eds.), pages 166-179 (Cambridge University Press 1995)、および、Ward et al., "Genetic Manipulation and Expression of Antibodies," in Monoclonal Antibodies: Principles and Applications, Birch et al., (eds.), pages 137-185 (Wiley-Liss, Inc. 1995)を参照。

【0155】

「Fab」という用語は、軽鎖の定常ドメインと重鎖の第1の定常ドメイン(CH1)

を含むタンパク質を指す。F a b フラグメントは、抗体ヒンジ領域からの1つ以上のシステインを含む重鎖C H 1ドメインのカルボキシ末端に少数の残基を加えることでF a b ' フラグメントとは異なる。F a b ' - S H は、定常ドメインのシステイン残基が遊離チオール基を有しているF a b ' に関する本明細書での命名である。F a b ' フラグメントは、F (a b ') 2 フラグメントの重鎖ジスルフィド架橋の還元により生成される。抗体フラグメントの他の化学的カップリングも知られている。

【0156】

「単鎖可変フラグメント (s c F v) 」とは、10～約25個のアミノ酸の短いリンカーペプチドと接続した、抗体の重鎖 (V H) と軽鎖 (V L) の可変領域の融合タンパク質である。リンカーは通常、柔軟性のためにグリシンが豊富であり、溶解性のためにセリンまたはスレオニンが豊富であり、V H のN末端をV L のC末端に接続するか、またはその逆を接続することができる。このタンパク質は、定常領域を取り除いてリンカーを導入したにもかかわらず、元の抗体の特異性を保持している。s c F v 抗体は、例えば、H o u s t o n , J . S . , M e t h o d s i n E n z y m o l . 2 0 3 (1 9 9 1) 4 6 - 9 6) に記載されている。加えて、抗体フラグメントは単鎖ポリペプチドを含み、単鎖ポリペプチドは、V H ドメインの特徴を有する、すなわち、V L ドメインとともに組み立てることができる、またはV L ドメインの特徴を有する、すなわち、V H ドメインとともに機能的な抗原結合部位に組み立てることができ、それによって完全長の抗体の抗原結合特性を提供する。

10

【0157】

本開示の好ましい実施形態が本明細書中で示され、記載されてきたが、このような実施形態はほんの一例として提供されているに過ぎないということは、当業者に明らかであろう。多くの変形、変更、および置き換えは、本開示から逸脱することなく、当業者によって想到されるものである。本明細書に記載される本開示の実施形態の様々な代案が、本開示の実施に際して利用され得ることを理解されたい。以下の特許請求の範囲は本開示の範囲を定義するものであり、ならびに、この特許請求の範囲およびその同等物の範囲内の方法および構造はそれによって包含されることが意図されている。

20

【0158】

実施形態

実施形態1は、C D 3 への抗C D 3 結合ドメインの結合を損なうペプチドを含む単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ペプチドは、配列番号1～2、19～55から選択されるアミノ酸配列を含み、またはペプチドは、配列番号1～2、19～55から選択されるアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含む。

30

【0159】

実施形態2は、実施形態1の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ペプチドは配列番号1～2および19～55から選択されるアミノ酸配列を含む。

【0160】

実施形態3は、実施形態1～2のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ペプチドは配列番号1のアミノ酸配列を含む。

40

【0161】

実施形態4は、実施形態1～2のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ペプチドは配列番号2のアミノ酸配列を含む。

【0162】

実施形態5は、実施形態1～2のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ペプチドは配列番号54のアミノ酸配列を含む。

【0163】

実施形態6は、C D 3 への抗C D 3 結合ドメインの結合を損なうペプチドに連結される抗C D 3 結合ドメインを含む単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ペプチドは、Z₁-Z₂-C-Z₄-P-Z₆-Z₇-Z₈-Z₉-Z₁₀-Z₁₁-Z₁

50

2-C-Z₁₄によるアミノ酸配列を含み、Z₁はD、Y、F、I、N、V、H、L、A、T、S、およびPから選択され、Z₂はD、Y、L、F、I、N、A、V、H、T、およびSから選択され、Z₄はGおよびWから選択され、Z₆はE、D、V、およびPから選択され、Z₇はW、L、F、V、G、M、I、およびYから選択され、Z₈はE、D、P、およびQから選択され、Z₉はE、D、Y、V、F、W、P、L、およびQから選択され、Z₁₀はS、D、Y、T、I、F、V、N、A、P、L、およびHから選択され、Z₁₁はI、Y、F、V、L、T、N、S、D、A、およびHから選択され、Z₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、N、T、P、S、およびHから選択され、Z₁₄はD、Y、N、F、I、P、V、A、T、H、L、およびSから選択される。

【0164】

10

実施形態7は、実施形態6の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、Z₁はD、Y、F、I、およびNから選択され、Z₂はD、Y、L、F、I、およびNから選択され、Z₄はGおよびWから選択され、Z₆はEおよびDから選択され、Z₇はW、L、F、およびVから選択され、Z₈はEおよびDから選択され、Z₉はE、D、Y、およびVから選択され、Z₁₀はS、D、Y、T、およびIから選択され、Z₁₁はI、Y、F、V、L、およびTから選択され、Z₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、およびNから選択され、Z₁₄はD、Y、N、F、I、およびPから選択される。

【0165】

実施形態8は、実施形態6～7のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、Z₁はD、Y、およびFから選択され、Z₂はD、Y、L、およびFから選択され、Z₄はGおよびWから選択され、Z₆はEおよびDから選択され、Z₇はW、L、およびFから選択され、Z₈はEおよびDから選択され、Z₉はEおよびDから選択され、Z₁₀はS、D、およびYから選択され、Z₁₁はI、Y、およびFから選択され、Z₁₂はF、D、Y、およびLから選択され、Z₁₄はD、Y、およびNから選択される。

20

【0166】

実施形態9は、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドに連結される抗CD3結合ドメインを含む単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ペプチドは、U₁-U₂-C-U₄-P-U₆-U₇-U₈-U₉-U₁₀-U₁₁-U₁₂-C-U₁₄によるアミノ酸配列を含み、U₁はD、Y、F、I、N、V、H、L、A、T、S、およびPから選択され、U₂はD、Y、L、F、I、N、A、V、H、T、およびSから選択され、U₄はGおよびWから選択され、U₆はE、D、V、およびPから選択され、U₇はW、L、F、V、G、M、I、およびYから選択され、U₈はE、D、P、およびQから選択され、U₉はE、D、Y、V、F、W、P、L、およびQから選択され、U₁₀はS、D、Y、T、I、F、V、N、A、P、L、およびHから選択され、U₁₁はI、Y、F、V、L、T、N、S、D、A、およびHから選択され、U₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、N、T、P、S、G、およびHから選択され、U₁₄はD、Y、N、F、I、P、V、A、T、H、L、M、およびSから選択される。

30

【0167】

実施形態10は、実施形態9の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、U₁はD、Y、F、I、V、およびNから選択され、U₂はD、Y、L、F、I、およびNから選択され、U₄はGおよびWから選択され、U₆はEおよびDから選択され、U₇はW、L、F、G、およびVから選択され、U₈はEおよびDから選択され、U₉はE、D、Y、およびVから選択され、U₁₀はS、D、Y、T、およびIから選択され、U₁₁はI、Y、F、V、L、およびTから選択され、U₁₂はF、D、Y、L、I、V、A、G、およびNから選択され、U₁₄はD、Y、N、F、I、M、およびPから選択される。

40

【0168】

実施形態11は、実施形態9～10のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、U₁はD、Y、V、およびFから選択され、U₂はD、

50

Y、L、およびFから選択され、 U_4 はGおよびWから選択され、 U_6 はEおよびDから選択され、 U_7 はW、L、G、およびFから選択され、 U_8 はEおよびDから選択され、 U_9 はEおよびDから選択され、 U_{10} はS、D、T、およびYから選択され、 U_{11} はI、Y、V、L、およびFから選択され、 U_{12} はF、D、Y、G、A、およびLから選択され、 U_{14} はD、Y、M、およびNから選択される。

【0169】

実施形態12は、実施形態6～11のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ペプチドは表17のアミノ酸配列を含む。

【0170】

実施形態13は、実施形態6～11のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ペプチドは配列番号44～55のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む。

10

【0171】

実施形態14は、実施形態6および9～12のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ペプチドは配列番号2のアミノ酸配列を含む。

【0172】

実施形態15は、実施形態6～7および9～13のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ペプチドは配列番号54のアミノ酸配列を含む。

【0173】

20

実施形態16は、実施形態1～15のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ペプチドは、式I： $A_1-L_1-P_1$ の構成において抗CD3結合ドメインに接続され、式中、 A_1 は抗CD3結合ドメインを含み、 L_1 は、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である切断可能なリンカーを含み、 P_1 は、CD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含む。

【0174】

実施形態17は、実施形態16の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_1 は切断可能なリンカーのN末端に接続され、 A_1 は切断可能なリンカーのC末端に接続される。

【0175】

30

実施形態18は、実施形態16の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_1 は切断可能なリンカーのC末端に接続され、 A_1 は切断可能なリンカーのN末端に接続される。

【0176】

実施形態19は、実施形態16～18のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_1 は、イオン性相互作用、静電相互作用、疎水性相互作用、 π -スタッキング相互作用、もしくはH-結合相互作用、またはそれらの組み合わせを介して A_1 に結合される。

【0177】

実施形態20は、実施形態16～19のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_1 は、腫瘍抗原結合ドメイン(A_2)にさらに連結される。

40

【0178】

実施形態21は、実施形態16～20のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は式Ia： $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1$ に従い、 P_2 は腫瘍抗原への A_2 の結合を損なうペプチドを含み、 L_2 は、 A_2 を P_2 に接続し、腫瘍特異的プロテアーゼの基質である第2の切断可能なリンカーを含む。

【0179】

実施形態22は、実施形態16～21のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチド

50

またはポリペプチド複合体を含み、 A_1 は抗体または抗体フラグメントを含む。

【0180】

実施形態23は、実施形態16～22のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_1 は、ヒトまたはヒト化の抗体または抗体フラグメントを含む。

【0181】

実施形態24は、実施形態16～17および19～23のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_1 は、 A_1 の抗体または抗体フラグメントのN末端に結合している。

【0182】

実施形態25は、実施形態16および18～23のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_2 は、 A_1 の抗体または抗体フラグメントのN末端に結合している。

【0183】

実施形態26は、実施形態16、18～23、および25のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_1 は、 A_1 の抗体または抗体フラグメントのC末端に結合している。

【0184】

実施形態27は、実施形態16～17および19～24のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_2 は、 A_1 の抗体または抗体フラグメントのC末端に結合している。

【0185】

実施形態28は、実施形態22～27のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_1 の抗体または抗体フラグメントは、単鎖可変フラグメント、単ドメイン抗体、またはFabフラグメントを含む。

【0186】

実施形態29は、実施形態28の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_1 は単鎖可変フラグメント(scfv)である。

【0187】

実施形態30は、実施形態29の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、scfvは、scfv重鎖ポリペプチドおよびscfv軽鎖ポリペプチドを含む。

【0188】

実施形態31は、実施形態28の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_1 は単ドメイン抗体である。

【0189】

実施形態32は、実施形態22～27のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、抗体またはその抗体フラグメントは、ラクダ科動物由来の単ドメイン抗体の単鎖可変フラグメント(scfv)、重鎖可変ドメイン(VHドメイン)、軽鎖可変ドメイン(VLドメイン)、または可変ドメイン(VHH)を含む。

【0190】

実施形態33は、実施形態16～30および32のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_1 は、抗CD3e単鎖可変フラグメントを含む。

【0191】

実施形態34は、実施形態16～32のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_1 は、CD3発現細胞上のCD3に対する $1\mu\text{M}$ 以下のKD結合を有する抗CD3e単鎖可変フラグメントを含む。

【0192】

実施形態35は、実施形態16～30および32～34のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_1 は、各々がヒトCD3に特異的

10

20

30

40

50

に結合することができる、可変軽鎖と可変重鎖を含む。

【0193】

実施形態36は、実施形態28～30および32～35のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_1 は、相補性決定領域(CDR)(HC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3)を含むscFv重鎖可変ドメインおよびscFv軽鎖可変ドメインを含むscFvを含み、scFv重鎖可変ドメインのHC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3は、HC-CDR1では配列番号3、HC-CDR2では配列番号4、HC-CDR3では配列番号5を含み、scFv軽鎖可変ドメインは、相補性決定領域(CDR)を含み(LC-CDR1、LC-CDR2、およびLC-CDR3)、scFv軽鎖可変ドメインのLC-CDR1、LC-CDR2、およびLC-CDR3は、LC-CDR1では配列番号6、LC-CDR2では配列番号7、およびLC-CDR3では配列番号8を含む。

10

【0194】

実施形態37は、実施形態16～30および32～35のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_1 は、相補性決定領域(CDR)(HC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3)を含む重鎖可変ドメインおよび軽鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインのHC-CDR1、HC-CDR2、およびHC-CDR3は、HC-CDR1では配列番号3、HC-CDR2では配列番号4、HC-CDR3では配列番号5を含み、軽鎖可変ドメインは、相補性決定領域(CDR)を含み(LC-CDR1、LC-CDR2、およびLC-CDR3)、軽鎖可変ドメインのLC-CDR1、LC-CDR2、およびLC-CDR3は、LC-CDR1では配列番号6、LC-CDR2では配列番号7、およびLC-CDR3では配列番号8を含む。

20

【0195】

実施形態38は、実施形態16～37のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、式Iのポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、 L_1 が腫瘍特異的プロテアーゼによって切断されると、エフェクター細胞に結合する。

【0196】

実施形態39は、実施形態16～38のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、式Iのポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、 L_1 が腫瘍特異的プロテアーゼによって切断され、 A_1 がエフェクター細胞に結合する場合、エフェクター細胞に結合する。

30

【0197】

実施形態40は、実施形態38～39のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、エフェクター細胞はT細胞である。

【0198】

実施形態41は、実施形態38～40のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_1 は、エフェクター細胞上のTCR-CD3複合体の一部であるポリペプチドに結合する。

【0199】

実施形態42は、実施形態41の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、TCR-CD3複合体の一部であるポリペプチドは、ヒトCD3 ϵ である。

40

【0200】

実施形態43は、実施形態20～42のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_2 は抗体または抗体フラグメントを含む。

【0201】

実施形態44は、実施形態43の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_2 の抗体またはその抗体フラグメントは、単鎖可変フラグメント、単ドメイン抗体、Fab'、またはFabを含む。

【0202】

50

実施形態 45 は、実施形態 43 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、A₂ の抗体またはその抗体フラグメントは、ラクダ科動物由来の単ドメイン抗体の単鎖可変フラグメント (s c F v)、重鎖可変ドメイン (V H ドメイン)、軽鎖可変ドメイン (V L ドメイン)、または可変ドメイン (V H H) を含む。

【0203】

実施形態 46 は、実施形態 43 ~ 45 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、A₂ の抗体またはその抗体フラグメントは、ヒト化またはヒトである。

【0204】

実施形態 47 は、実施形態 44 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、A₂ は F a b または F a b ' である。

【0205】

実施形態 48 は、実施形態 47 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、F a b または F a b ' は、(a) F a b 軽鎖ポリペプチドおよび (b) F a b 重鎖ポリペプチドを含む。

【0206】

実施形態 49 は、実施形態 20 ~ 48 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、A₂ は、上皮成長因子受容体 (E G F R) 結合ドメインを含む。

【0207】

実施形態 50 は、実施形態 20 ~ 48 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、A₂ は、癌胎児性抗原関連細胞接着分子 C E A C A M 5 結合ドメインを含む。

【0208】

実施形態 51 は、実施形態 16 ~ 50 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、P₁ は、半減期延長部分 (H₁) にさらに連結される。

【0209】

実施形態 52 は、実施形態 51 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、半減期延長部分は単ドメイン抗体である。

【0210】

実施形態 53 は、実施形態 51 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、H₁ はポリマーを含む。

【0211】

実施形態 54 は、実施形態 53 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ポリマーはポリエチレングリコール (P E G) である。

【0212】

実施形態 55 は、実施形態 51 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、H₁ はアルブミンを含む。

【0213】

実施形態 56 は、実施形態 51 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、H₁ は F c ドメインを含む。

【0214】

実施形態 57 は、実施形態 55 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、アルブミンは血清アルブミンである。

【0215】

実施形態 58 は、実施形態 55 および 57 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、アルブミンはヒト血清アルブミンである。

【0216】

実施形態 59 は、実施形態 51 ~ 58 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチド

10

20

30

40

50

またはポリペプチド複合体を含み、H₁はポリペプチド、リガンド、または小分子を含む。

【0217】

実施形態60は、実施形態59の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ポリペプチド、リガンド、または小分子は、血清タンパク質またはそのフラグメント、循環免疫グロブリンまたはそのフラグメント、あるいはCD35／CR1に結合する。

【0218】

実施形態61は、実施形態60の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、血清タンパク質は、チロキシン結合タンパク質、トランスサイレチン、1-酸性糖タンパク質、トランスフェリン、トランスフェリン受容体またはそのトランスフェリン結合部分、フィブリノゲン、あるいはアルブミンを含む。

10

【0219】

実施形態62は、実施形態60の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、循環免疫グロブリン分子は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、sIgA、IgM、またはIgDを含む。

【0220】

実施形態63は、実施形態60または61の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、血清タンパク質はアルブミンである。

【0221】

20

実施形態64は、実施形態59～63のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ポリペプチドは抗体である。

【0222】

実施形態65は、実施形態64の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、抗体は、単ドメイン抗体、単鎖可変フラグメント、またはFabを含む。

【0223】

実施形態66は、実施形態65の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は、アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む。

【0224】

実施形態67は、実施形態65～66のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体はヒトまたはヒト化の抗体である。

30

【0225】

実施形態68は、実施形態65～67のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は645gH1gL1である。

【0226】

実施形態69は、実施形態65～67のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は645ds gH5gL4である。

【0227】

実施形態70は、実施形態65の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は23-13-A01-sc02である。

40

【0228】

実施形態71は、実施形態65～66のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体はA10m3またはそのフラグメントである。

【0229】

実施形態72は、実施形態65～66のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体はDOM7r-31である。

【0230】

実施形態73は、実施形態65～66のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体はDOM7h-11-15である。

50

【0231】

実施形態74は、実施形態65～66のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体はAlb-1、Alb-8、またはAlb-23である。

【0232】

実施形態75は、実施形態65の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は10Gまたは10GEである。

【0233】

実施形態76は、実施形態65～66のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体はSA21である。

10

【0234】

実施形態77は、実施形態1～76のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、修飾されたアミノ酸、非天然アミノ酸、修飾された非天然アミノ酸、またはその組み合わせを含む。

【0235】

実施形態78は、実施形態77の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、修飾されたアミノ酸または修飾された非天然アミノ酸は、翻訳後修飾を含む。

【0236】

実施形態79は、実施形態51～78のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 H_1 は、 H_1 を P_1 に接続する連結部分(L_3)を含む。

20

【0237】

実施形態80は、実施形態79の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_3 は、少なくとも5個～50個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0238】

実施形態81は、実施形態79～80のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_3 は、少なくとも10個～30個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0239】

実施形態82は、実施形態79～81のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_3 は、少なくとも10個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

30

【0240】

実施形態83は、実施形態79～82のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_3 は、少なくとも18個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0241】

実施形態84は、実施形態79～83のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_3 は、少なくとも26個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

40

【0242】

実施形態85は、実施形態79～84のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_3 は、 $(G_2S)_n$ 、 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (配列番号917)、 $(GGGS)_n$ (配列番号918)、 $(GGGGS)_n$ (配列番号919)、および $(GSSGGS)_n$ (配列番号920) からなる群から選択される式を有し、 n は少なくとも1の整数である。

【0243】

実施形態86は、実施形態79～84のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_3 は、 $(GGGGS G GGS)$ (配列番号921) に記載のアミノ酸配列を含む。

50

【0244】

実施形態87は、実施形態48～86のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_2 のFab軽鎖ポリペプチドは、 A_1 の単鎖可変フラグメント(s c F v)のC末端に結合する。

【0245】

実施形態88は、実施形態48～86のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_2 のFab重鎖ポリペプチドは、 A_1 の単鎖可変フラグメント(s c F v)のC末端に結合する。

【0246】

実施形態89は、実施形態48～86のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_2 のFab軽鎖ポリペプチドは、 A_1 の単鎖可変フラグメント(s c F v)のN末端に結合する。

10

【0247】

実施形態90は、実施形態48～86のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_2 のFab重鎖ポリペプチドは、 A_1 の単鎖可変フラグメント(s c F v)のN末端に結合する。

【0248】

実施形態91は、実施形態48～86、88、および90のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_2 のFab重鎖ポリペプチドは、 A_1 のs c F v重鎖ポリペプチドに結合する。

20

【0249】

実施形態92は、実施形態48～86、87、および89のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_2 のFab軽鎖ポリペプチドは、 A_1 のs c F v重鎖ポリペプチドに結合する。

【0250】

実施形態93は、実施形態48～86、88、および90のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_2 のFab重鎖ポリペプチドは、 A_1 のs c F v軽鎖ポリペプチドに結合する。

【0251】

実施形態94は、実施形態48～86、87、および89のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_2 のFab軽鎖ポリペプチドは、 A_1 のs c F v軽鎖ポリペプチドに結合する。

30

【0252】

実施形態95は、実施形態48～86、88、90、および91のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_2 のFab重鎖ポリペプチドは A_1 のs c F v重鎖ポリペプチドに結合し、 L_2 は A_2 のFab軽鎖ポリペプチドに結合する。

【0253】

実施形態96は、実施形態48～87、89、および92のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_2 のFab軽鎖ポリペプチドは A_1 のs c F v重鎖ポリペプチドに結合し、 L_2 は A_2 のFab重鎖ポリペプチドに結合する。

40

【0254】

実施形態97は、実施形態1～86、88、90、および93のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_2 のFab重鎖ポリペプチドは A_1 のs c F v軽鎖ポリペプチドに結合し、 L_2 は A_2 のFab軽鎖ポリペプチドに結合する。

【0255】

実施形態98は、実施形態1～87、89、および94のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 A_2 のFab軽鎖ポリペプチドはA

50

L_1 の s c F v 軽鎖ポリペプチドに結合し、 L_2 は A_2 の F a b 重鎖ポリペプチドに結合する。

【0256】

実施形態99は、実施形態21～98のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_2 は、腫瘍抗原への A_2 の結合を損なう。

【0257】

実施形態100は、実施形態21～99のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_2 は、イオン性相互作用、静電相互作用、疎水性相互作用、 π -スタッキング相互作用、もしくはH-結合相互作用、またはそれらの組み合わせを介して A_2 に結合される。

【0258】

実施形態101は、実施形態21～100のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_2 は、抗原結合部位またはその近傍で A_2 に結合される。

【0259】

実施形態102は、実施形態21～101のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_2 は腫瘍抗原に対して70%未満の配列相同性を有する。

【0260】

実施形態103は、実施形態21～101のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_2 は、少なくとも10アミノ酸長のペプチド配列を含む。

【0261】

実施形態104は、実施形態21～103のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_2 は、少なくとも10アミノ酸長かつ20アミノ酸長以下のペプチド配列を含む。

【0262】

実施形態105は、実施形態21～104のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_2 は、少なくとも16アミノ酸長のペプチド配列を含む。

【0263】

実施形態106は、実施形態21～103および105のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_2 は、40アミノ酸長以下のペプチド配列を含む。

【0264】

実施形態107は、実施形態21～106のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_2 は少なくとも2つのシステインアミノ酸残基を含む。

【0265】

実施形態108は、実施形態21～107のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_2 は環状ペプチドまたは直鎖ペプチドを含む。

【0266】

実施形態109は、実施形態21～108のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_2 は環状ペプチドを含む。

【0267】

実施形態110は、実施形態21～108のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_2 は直鎖ペプチドを含む。

【0268】

実施形態111は、実施形態16～17、19～24、27～88、および91～110のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L

10

20

30

40

50

1 は A_1 の N 末端に結合される。

【0269】

実施形態 112 は、実施形態 16、18～23、25～26、28～86、89～110 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_1 は A_1 の C 末端に結合される。

【0270】

実施形態 113 は、実施形態 21～23、25～26、28～86、89～110、および 112 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_2 は A_2 の N 末端に結合される。実施形態 114 は、実施形態 21、24、27～88、および 91～111 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_2 は A_2 の C 末端に結合される。

10

【0271】

実施形態 115 は、実施形態 16～114 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_1 または L_2 は、少なくとも 5 個～50 個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0272】

実施形態 116 は、実施形態 16～115 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_1 または L_2 は、少なくとも 10 個～30 個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0273】

実施形態 117 は、実施形態 16～116 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_1 または L_2 は、少なくとも 10 個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

20

【0274】

実施形態 118 は、実施形態 16～117 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_1 または L_2 は、少なくとも 18 個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0275】

実施形態 119 は、実施形態 16～118 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_1 または L_2 は、少なくとも 26 個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

30

【0276】

実施形態 120 は、実施形態 16～115 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_1 または L_2 は $(G_2S)_n$ (配列番号 922) を含む式を有し、 n は 1～3 の整数である。

【0277】

実施形態 121 は、実施形態 16～120 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_1 は、 $(G_2S)_n$ 、 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (配列番号 917)、 $(GGGS)_n$ (配列番号 918)、 $(GGGGS)_n$ (配列番号 919)、および $(GSSGGS)_n$ (配列番号 920) からなる群から選択される式を有し、 n は少なくとも 1 の整数である。

40

【0278】

実施形態 122 は、実施形態 16～121 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_1 が腫瘍特異的プロテアーゼによって切断され、それによって A_1 を CD3 に曝露させている場合、 P_1 は A_1 から結合されなくなる。

【0279】

実施形態 123 は、実施形態 21～122 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_2 が腫瘍特異的プロテアーゼによって切断され、それによって A_2 を腫瘍抗原に曝露させている場合、 P_2 は A_2 から結合されなくなる。

50

【0280】

実施形態124は、実施形態16～123のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、腫瘍特異的プロテアーゼは、メタロプロテアーゼ、セリンプロテアーゼ、システインプロテアーゼ、トレオニンプロテアーゼ、およびアスパラギン酸プロテアーゼからなる群から選択される。

【0281】

実施形態125は、実施形態16～124のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_1 または L_2 は、ウロキナーゼ切断可能アミノ酸配列、マトリプターゼ切断可能アミノ酸配列、マトリックスメタロプロテアーゼ切断可能アミノ酸配列、またはレグマイン切断可能アミノ酸配列を含む。

10

【0282】

実施形態126は、実施形態16～119および122～125のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_1 または L_2 は、GGGGSLSGRSDNHGSSGT（配列番号923）、GGGGSSSGSGSGSLSGRSDNHGSSGT（配列番号924）、ASGRSDNH（配列番号925）、LAGRSDNH（配列番号926）、ISSGLASGRSDNH（配列番号927）、ISSGLLAGRSDNH（配列番号928）、LSGRSDNH（配列番号929）、ISSGLLSGRSDNP（配列番号930）、ISSGLLSGRSDNH（配列番号931）、LSGRSDNHSPPLGLAGS（配列番号932）、SPPLGLAGSLSGRSDNH（配列番号933）、SPPLLSGRSDNH（配列番号934）、LAGRSDNHSPPLGLAGS（配列番号935）、LSGRSDNHVPLSLKMG（配列番号936）、およびLSGRSDNHVPLSLSMG（配列番号937）からなる群から選択されたアミノ酸配列を含む。

20

【0283】

実施形態127は、実施形態16～119および122～126のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_1 または L_2 は、ASGRSDNH（配列番号925）、LAGRSDNH（配列番号926）、ISSGLASGRSDNH（配列番号927）、およびISSGLLAGRSDNH（配列番号928）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【0284】

実施形態128は医薬組成物を含み、上記医薬組成物は、（i）実施形態1～127のうちのいずれか1つのポリペプチドまたはポリペプチド複合体と、（ii）薬学的に許容可能な賦形剤とを、含む。

30

【0285】

実施形態129は、実施形態1～127のいずれか1つのポリペプチドまたはポリペプチド複合体をコードする単離された組換え核酸分子を含む。

【0286】

実施形態130は、式II： $L_1a-P_1a-H_1a$ にかかる単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_1 は、切断されていない状態で P_1a を、CD3に結合する抗CD3結合ドメインに接続する腫瘍特異的プロテアーゼ切断結合部分を含み、 P_1a は、 L_1a が切断されていない場合にCD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含み、ペプチドは、配列番号1～2および19～55から選択されるアミノ酸配列を含み、またはペプチドは、配列番号1～2および19～55のアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失を含み、 H_1a は半減期延長分子を含む。

40

【0287】

実施形態131は、実施形態130の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ペプチドは配列番号1～2および19～55から選択されるアミノ酸配列を含む。

【0288】

50

実施形態 132 は、実施形態 130～131 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ペプチドは配列番号 1 のアミノ酸配列を含む。

【0289】

実施形態 133 は、実施形態 130～131 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ペプチドは配列番号 2 のアミノ酸配列を含む。

【0290】

実施形態 134 は、実施形態 130～131 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ペプチドは配列番号 54 のアミノ酸配列を含む。

【0291】

実施形態 135 は、実施形態 130～134 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、H_{1a} はポリマーを含む。

【0292】

実施形態 136 は、実施形態 135 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ポリマーはポリエチレングリコール (PEG) である。

【0293】

実施形態 137 は、実施形態 130～134 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、H_{1a} はアルブミンを含む。

【0294】

実施形態 138 は、実施形態 130～134 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、H_{1a} は Fc ドメインを含む。

【0295】

実施形態 139 は、実施形態 137 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、アルブミンは血清アルブミンである。

【0296】

実施形態 140 は、実施形態 137 および 139 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、アルブミンはヒト血清アルブミンである。

【0297】

実施形態 141 は、実施形態 130～140 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、H_{1a} はポリペプチド、リガンド、または小分子を含む。

【0298】

実施形態 142 は、実施形態 141 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ポリペプチド、リガンド、または小分子は、血清タンパク質またはそのフラグメント、循環免疫グロブリンまたはそのフラグメント、あるいは CD35 / CR1 に結合する。

【0299】

実施形態 143 は、実施形態 142 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、血清タンパク質は、チロキシン結合タンパク質、トランスサイレチン、1-酸性糖タンパク質、トランスフェリン、トランスフェリン受容体またはそのトランスフェリン結合部分、フィブリノゲン、あるいはアルブミンを含む。

【0300】

実施形態 144 は、実施形態 142 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、循環免疫グロブリン分子は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、slgA、IgM、または IgD を含む。

【0301】

実施形態 145 は、実施形態 142～143 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、血清タンパク質はアルブミンである。

【0302】

実施形態 146 は、実施形態 141～145 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペ

10

20

30

40

50

プチドまたはポリペプチド複合体を含み、ポリペプチドは抗体である。

【0303】

実施形態147は、実施形態146の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、抗体は、単ドメイン抗体、単鎖可変フラグメント、またはFabを含む。

【0304】

実施形態148は、実施形態146～147のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、抗体は、アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む。

【0305】

実施形態149は、実施形態146～148のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、抗体はヒトまたはヒト化の抗体である。

10

【0306】

実施形態150は、実施形態147～149のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は645gH1gH1である。

【0307】

実施形態151は、実施形態147～149のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は645dsH5gH4である。

【0308】

実施形態152は、実施形態147の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は23-13-A01-sc02である。

20

【0309】

実施形態153は、実施形態147～148のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体はA10m3またはそのフラグメントである。

【0310】

実施形態154は、実施形態147～148のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体はDOM7r-31である。

【0311】

実施形態155は、実施形態147～148のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体はDOM7h-11-15である。

30

【0312】

実施形態156は、実施形態147～148のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体はAlb-1、Alb-8、またはAlb-23である。

【0313】

実施形態157は、実施形態147の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は10Gまたは10GEである。

40

【0314】

実施形態158は、実施形態147～148のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体はSA21である。

【0315】

実施形態159は、実施形態130～158のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、H_{1a}は、H_{1a}をP_{1a}に接続する連結部分(L_{3a})を含む。

【0316】

実施形態160は、実施形態159の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、L_{3a}は、少なくとも5個～50個以下のアミノ酸を有するペプチド配列であ

50

る。

【0317】

実施形態161は、実施形態159～160のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_{3a} は、少なくとも10個～30個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0318】

実施形態162は、実施形態159～161のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_{3a} は、少なくとも10個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0319】

実施形態163は、実施形態159～162のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_{3a} は、少なくとも18個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0320】

実施形態164は、実施形態159～163のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_{3a} は、少なくとも26個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0321】

実施形態165は、実施形態159～164のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_{3a} は、 $(G_2S)_n$ 、 $(GS)_n$ 、 $(SGGS)_n$ （配列番号917）、 $(GGGS)_n$ （配列番号918）、 $(GGGG)_n$ （配列番号919）、および $(GSSGGGS)_n$ （配列番号920）からなる群から選択される式を有し、 n は少なくとも1の整数である。

【0322】

実施形態166は、実施形態159～164のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_{3a} は、 $(GGGGSGGGGS)$ （配列番号921）に記載のアミノ酸配列を含む。

【0323】

実施形態167は、式III： $L_{1b}-P_{1b}-H_{1b}$ にかかる単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_1 は、切断されていない状態で P_{1b} を、CD3に結合する抗CD3結合ドメインに接続する腫瘍特異的プロテアーゼ切断結合部分を含み、 P_{1b} は、 L_{1b} が切断されていない場合にCD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含み、ペプチドは、 $Z_1-Z_2-C-Z_4-P-Z_6-Z_7-Z_8-Z_9-Z_{10}-Z_{11}-Z_{12}-C-Z_{14}$ によるアミノ酸配列を含み、 Z_1 はD、Y、F、I、N、V、H、L、A、T、S、およびPから選択され、 Z_2 はD、Y、L、F、I、N、A、V、H、T、およびSから選択され、 Z_4 はGおよびWから選択され、 Z_6 はE、D、V、およびPから選択され、 Z_7 はW、L、F、V、G、M、I、およびYから選択され、 Z_8 はE、D、P、およびQから選択され、 Z_9 はE、D、Y、V、F、W、P、L、およびQから選択され、 Z_{10} はS、D、Y、T、I、F、V、N、A、P、L、およびHから選択され、 Z_{11} はI、Y、F、V、L、T、N、S、D、A、およびHから選択され、 Z_{12} はF、D、Y、L、I、V、A、N、T、P、S、およびHから選択され、 Z_{14} はD、Y、N、F、I、P、V、A、T、H、L、およびSから選択され、 H_{1b} は半減期延長分子を含む。

【0324】

実施形態168は、実施形態167の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 Z_1 はD、Y、F、I、およびNから選択され、 Z_2 はD、Y、L、F、I、およびNから選択され、 Z_4 はGおよびWから選択され、 Z_6 はEおよびDから選択され、 Z_7 はW、L、F、およびVから選択され、 Z_8 はEおよびDから選択され、 Z_9 はE、D、Y、およびVから選択され、 Z_{10} はS、D、Y、T、およびIから選択され、 Z_{11} はI、Y、F、V、L、およびTから選択され、 Z_{12} はF、D、Y、L、I、V、

10

20

30

40

50

A、およびNから選択され、Z₁₄はD、Y、N、F、I、およびPから選択される。

【0325】

実施形態169は、実施形態167～168のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、Z₁はD、Y、およびFから選択され、Z₂はD、Y、L、およびFから選択され、Z₄はGおよびWから選択され、Z₆はEおよびDから選択され、Z₇はW、L、およびFから選択され、Z₈はEおよびDから選択され、Z₉はEおよびDから選択され、Z₁₀はS、D、およびYから選択され、Z₁₁はI、Y、およびFから選択され、Z₁₂はF、D、Y、およびLから選択され、Z₁₄はD、Y、およびNから選択される。

【0326】

実施形態170は、実施形態167～169のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、P_{1b}は表17のアミノ酸配列を含む。

【0327】

実施形態171は、実施形態167～170のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、P_{1b}は配列番号44～55のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む。

【0328】

実施形態172は、実施形態167の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、P_{1b}は、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含む。

【0329】

実施形態173は、実施形態167～168の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、P_{1b}は、配列番号54に記載のアミノ酸配列を含む。

【0330】

実施形態174は、実施形態167～173のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、H_{1b}はポリマーを含む。

【0331】

実施形態175は、実施形態174の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ポリマーはポリエチレングリコール（PEG）である。

【0332】

実施形態176は、実施形態167～173のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、H_{1b}はアルブミンを含む。

【0333】

実施形態177は、実施形態167～173のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、H_{1b}はFcドメインを含む。

【0334】

実施形態178は、実施形態176の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、アルブミンは血清アルブミンである。

【0335】

実施形態179は、実施形態176および178のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、アルブミンはヒト血清アルブミンである。

【0336】

実施形態180は、実施形態167～179のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、H_{1b}はポリペプチド、リガンド、または小分子を含む。

【0337】

実施形態181は、実施形態180の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ポリペプチド、リガンド、または小分子は、血清タンパク質またはそのフラグメント、循環免疫グロブリンまたはそのフラグメント、あるいはCD35／CR1に結合する。

【0338】

10

20

30

40

50

実施形態 182 は、実施形態 181 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、血清タンパク質は、チロキシン結合タンパク質、トランスサイレチン、1-酸性糖タンパク質、トランスフェリン、トランスフェリン受容体またはそのトランスフェリン結合部分、フィブリノゲン、あるいはアルブミンを含む。

【0339】

実施形態 183 は、実施形態 181 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、循環免疫グロブリン分子は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、slgA、IgM、またはIgDを含む。

【0340】

実施形態 184 は、実施形態 181～182 のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、血清タンパク質はアルブミンである。

10

【0341】

実施形態 185 は、実施形態 180～184 のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ポリペプチドは抗体である。

【0342】

実施形態 186 は、実施形態 185 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、抗体は、単ドメイン抗体、単鎖可変フラグメント、またはFabを含む。

【0343】

実施形態 187 は、実施形態 185～186 のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、抗体は、アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む。

20

【0344】

実施形態 188 は、実施形態 185～187 のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、抗体はヒトまたはヒト化の抗体である。

【0345】

実施形態 189 は、実施形態 186～188 のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は645gH1gL1である。

【0346】

実施形態 190 は、実施形態 186～188 のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は645ds gH5gL4である。

30

【0347】

実施形態 191 は、実施形態 186 のいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は23-13-A01-sc02である。

【0348】

実施形態 192 は、実施形態 186～187 のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体はA10m3またはそのフラグメントである。

【0349】

実施形態 193 は、実施形態 186～187 のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体はDOM7r-31である。

40

【0350】

実施形態 194 は、実施形態 186～187 のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体はDOM7h-11-15である。

【0351】

実施形態 195 は、実施形態 186～187 のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体はAlb-1、Alb-8、またはAlb-23である。

50

【0352】

実施形態196は、実施形態186の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は10Gまたは10GEである。

【0353】

実施形態197は、実施形態186～187のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体はSA21である。

【0354】

実施形態198は、実施形態167～197のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 H_{1b} は、 H_{1b} を P_{1b} に接続する連結部分(L_{3b})を含む。

10

【0355】

実施形態199は、実施形態198の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_{3b} は、少なくとも5個～50個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0356】

実施形態200は、実施形態198～199のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_{3b} は、少なくとも10個～30個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0357】

実施形態201は、実施形態198～200のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_{3b} は、少なくとも10個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

20

【0358】

実施形態202は、実施形態198～201のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_{3b} は、少なくとも18個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0359】

実施形態203は、実施形態198～202のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_{3b} は、少なくとも26個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

30

【0360】

実施形態204は、実施形態198～203のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_{3b} は、 $(G_2S)_n$ 、 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (配列番号917)、 $(GGGS)_n$ (配列番号918)、 $(GGGGGS)_n$ (配列番号919)、および $(GSSGGGS)_n$ (配列番号920)からなる群から選択される式を有し、 n は少なくとも1の整数である。

【0361】

実施形態205は、実施形態198～203のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 L_{3b} は、 $(GGGGSGGGGS)$ (配列番号921)に記載のアミノ酸配列を含む。

40

【0362】

実施形態206は、式IV： $L_{1c}-P_{1c}-H_{1c}$ にかかる単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、式中、 L_{1c} は、切断されていない状態で P_{1c} を、CD3に結合する抗CD3結合ドメインに接続する腫瘍特異的プロテアーゼ切断結合部分を含み、 P_{1c} は、 L_{1b} が切断されていない場合にCD3への抗CD3結合ドメインの結合を損なうペプチドを含み、ペプチドは、 $U_1-U_2-C-U_4-P-U_6-U_7-U_8-U_9-U_{10}-U_{11}-U_{12}-C-U_{14}$ によるアミノ酸配列を含み、 U_1 はD、Y、F、I、N、V、H、L、A、T、S、およびPから選択され、 U_2 はD、Y、L、F、I、N、A、V、H、T、およびSから選択され、 U_4 はGおよびWから選択され、 U_6 はE、D、V、およびPから選択され、 U_7 はW、L、F、V、G、M、I、およびY

50

から選択され、 U_8 はE、D、P、およびQから選択され、 U_9 はE、D、Y、V、F、W、P、L、およびQから選択され、 U_{10} はS、D、Y、T、I、F、V、N、A、P、L、およびHから選択され、 U_{11} はI、Y、F、V、L、T、N、S、D、A、およびHから選択され、 U_{12} はF、D、Y、L、I、V、A、N、T、P、S、G、およびHから選択され、 U_{14} はD、Y、N、F、I、P、V、A、T、H、L、M、およびSから選択され、 H_{1c} は半減期延長分子を含む。

【0363】

実施形態207は、実施形態206の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 U_1 はD、Y、F、I、V、およびNから選択され、 U_2 はD、Y、L、F、I、およびNから選択され、 U_4 はGおよびWから選択され、 U_6 はEおよびDから選択され、 U_7 はW、L、F、G、およびVから選択され、 U_8 はEおよびDから選択され、 U_9 はE、D、Y、およびVから選択され、 U_{10} はS、D、Y、T、およびIから選択され、 U_{11} はI、Y、F、V、L、およびTから選択され、 U_{12} はF、D、Y、L、I、V、A、G、およびNから選択され、 U_{14} はD、Y、N、F、I、M、およびPから選択される。

10

【0364】

実施形態208は、実施形態206～207のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 U_1 はD、Y、V、およびFから選択され、 U_2 はD、Y、L、およびFから選択され、 U_4 はGおよびWから選択され、 U_6 はEおよびDから選択され、 U_7 はW、L、G、およびFから選択され、 U_8 はEおよびDから選択され、 U_9 はEおよびDから選択され、 U_{10} はS、D、T、およびYから選択され、 U_{11} はI、Y、V、L、およびFから選択され、 U_{12} はF、D、Y、G、A、およびLから選択され、 U_{14} はD、Y、M、およびNから選択される。

20

【0365】

実施形態209は、実施形態206～208のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_{1c} は表17のアミノ酸配列を含む。

【0366】

実施形態210は、実施形態206～209のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_{1c} は配列番号44～55のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む。

30

【0367】

実施形態211は、実施形態206～209のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_{1c} は、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含む。

【0368】

実施形態212は、実施形態206～210のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 P_{1c} は、配列番号54に記載のアミノ酸配列を含む。

【0369】

実施形態213は、実施形態206～212のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 H_{1c} はポリマーを含む。

40

【0370】

実施形態214は、実施形態213の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ポリマーはポリエチレングリコール（PEG）である。

【0371】

実施形態215は、実施形態206～212のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 H_{1c} はアルブミンを含む。

【0372】

実施形態216は、実施形態206～212のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、 H_{1c} はFcドメインを含む。

50

【0373】

実施形態217は、実施形態215の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、アルブミンは血清アルブミンである。

【0374】

実施形態218は、実施形態215および217のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、アルブミンはヒト血清アルブミンである。

【0375】

実施形態219は、実施形態206～218のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、H_{1c}はポリペプチド、リガンド、または小分子を含む。

10

【0376】

実施形態220は、実施形態219の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ポリペプチド、リガンド、または小分子は、血清タンパク質またはそのフラグメント、循環免疫グロブリンまたはそのフラグメント、あるいはCD35／CR1に結合する。

【0377】

実施形態221は、実施形態220の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、血清タンパク質は、チロキシン結合タンパク質、トランスサイレチン、1-酸性糖タンパク質、トランスフェリン、トランスフェリン受容体またはそのトランスフェリン結合部分、フィブリノゲン、あるいはアルブミンを含む。

20

【0378】

実施形態222は、実施形態220の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、循環免疫グロブリン分子は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、slgA、IgM、またはIgDを含む。

【0379】

実施形態223は、実施形態220～221のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、血清タンパク質はアルブミンである。

【0380】

実施形態224は、実施形態219～223のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、ポリペプチドは抗体である。

30

【0381】

実施形態225は、実施形態224の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、抗体は、単ドメイン抗体、単鎖可変フラグメント、またはFabを含む。

【0382】

実施形態226は、実施形態224～225のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、抗体は、アルブミンに結合する単ドメイン抗体を含む。

【0383】

実施形態227は、実施形態224～226のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、抗体はヒトまたはヒト化の抗体である。

40

【0384】

実施形態228は、実施形態225～227のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は645gH1gL1である。

【0385】

実施形態229は、実施形態225～227のうちのいずれか1つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は645dsgH5gL4である。

【0386】

実施形態230は、実施形態225の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合

50

体を含み、単ドメイン抗体は 23-13-A01-sc02 である。

【0387】

実施形態 231 は、実施形態 225～226 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は A10m3 またはそのフラグメントである。

【0388】

実施形態 232 は、実施形態 225～226 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は DOM7r-31 である。

【0389】

実施形態 233 は、実施形態 225～226 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は DOM7h-11-15 である。

【0390】

実施形態 234 は、実施形態 225～226 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は Alb-1、Alb-8、または Alb-23 である。

【0391】

実施形態 235 は、実施形態 225 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は 10G または 10GE である。

【0392】

実施形態 236 は、実施形態 225～226 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、単ドメイン抗体は SA21 である。

【0393】

実施形態 237 は、実施形態 206～236 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、H_{1c} は、H_{1c} を P_{1c} に接続する連結部分 (L_{3c}) を含む。

【0394】

実施形態 238 は、実施形態 237 の単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、L_{3c} は、少なくとも 5 個～50 個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0395】

実施形態 239 は、実施形態 237～238 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、L_{3c} は、少なくとも 10 個～30 個以下のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0396】

実施形態 240 は、実施形態 237～239 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、L_{3c} は、少なくとも 10 個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0397】

実施形態 241 は、実施形態 237～240 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、L_{3c} は、少なくとも 18 個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0398】

実施形態 242 は、実施形態 237～241 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、L_{3c} は、少なくとも 26 個のアミノ酸を有するペプチド配列である。

【0399】

実施形態 243 は、実施形態 237～242 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、L_{3c} は、(G₂S)_n、(GS)_n、(GS GG S)_n (配列番号 917)、(GGGS)_n (配列番号 918)、(GGGG S)_n

10

20

30

40

50

(配列番号 9 1 9)、および (G S S G G S)_n (配列番号 9 2 0) からなる群から選択される式を有し、n は少なくとも 1 の整数である。

【0 4 0 0】

実施形態 2 4 4 は、実施形態 2 3 7 ~ 2 4 2 のうちのいずれか 1 つの単離されたポリペプチドまたはポリペプチド複合体を含み、L_{3c} は、(G G G G S G G G S (配列番号 9 2 1)) に記載のアミノ酸配列を含む。

【実施例】

【0 4 0 1】

実施例 1：A l a スキャンによるペプチド-1 およびペプチド-2 の構造活性関係

ペプチド内の各個々の残基をアラニンに変異させ、S P 3 4 . 1 8 5 s c F v に対する結合および阻害を測定することによって、ペプチド-1 およびペプチド-2 について配列活性関係を確立した。アラニン変異が結合および阻害を有意に弱体化させたペプチド残基は、変異が許容されなかった重要な残基とみなした。アラニン変異が非変異配列と同様に生じたペプチド残基は、変異が実際に許容された非重要部位とみなした。

【0 4 0 2】

E L I S A によるペプチドへの S P 3 4 . 1 8 5 s c F v 結合

標準的な酵素結合免疫吸着測定法 (E L I S A) によって、S P 3 4 . 1 8 5 s c F v に結合する能力についてペプチドを評価した。簡潔に言えば、ビオチン化ペプチドをニュートラアビジンコーティングプレート上に捕捉し、ビオシチン (b i o c y t i n) でクエンチし、その後、洗浄工程を行った。その後、S P 3 4 . 1 8 5 s c F v をペプチド捕捉プレート上に滴定した。次いでプレートを洗浄し、二次西洋ワサビペルオキシダーゼ抗体コンジュゲートを用いて、結合した S P 3 4 . 1 8 5 s c F v を検出した。再度洗浄した後、標準的な E L I S A 技術を用いてプレートを発色させ、酸を用いて停止させた。5 0 % 最大シグナルを達成するのに必要な S P 3 4 . 1 8 5 s c F v の濃度 (E C 5 0) を、G r a p h p a d プリズムを用いて計算した。データを図 1 A ~ 1 F に示す。

【0 4 0 3】

【表 6】

表 6. 図 1B の概要

ELISA	ペプチド-1	ペプチド-3	ペプチド-4	ペプチド-5	ペプチド-6	ペプチド-7	ペプチド-8
EC50 nM	1.013	0.9429	1.018	0.9738	1.27	47.5	346.2

【0 4 0 4】

【表 7】

表 7. 図 1C の概要

ELISA	ペプチド-1	ペプチド-9	ペプチド-10	ペプチド-11	ペプチド-12	ペプチド-13	ペプチド-14
EC50 nM	0.986	310.8	3.134	1,960	4.363	2.76	1.546

【0 4 0 5】

10

20

30

40

50

【表 8】

表 8. 図 1E の概要

ELISA	ペプチド -16	ペプチド -17	ペプチド -18	ペプチド -19	ペプチド -20	ペプチド -21
EC50 nM	1.356	2.359	30.04	47.50	457.1	4.762

【 0 4 0 6 】

【表 9】

表 9. 図 1F の概要

ELISA	ペプチド -22	ペプチド -23	ペプチド -24	ペプチド -25	ペプチド -26	ペプチド -27
EC50 nM	39.90	2168	1.916	1.948	2.012	1.833

【 0 4 0 7 】

E L I S AによるSP34.185 s c F vのペプチド阻害

標準的な酵素結合免疫吸着測定法（E L I S A）によって、SP34.185 s c F vがCD3eに結合するのを防ぐ能力についてペプチドを評価した。簡潔に言えば、固定された濃度のSP34.185 s c F vを、溶液中の様々な濃度のペプチドとインキュベートした。SP34.185 s c F vとペプチドの溶液を1時間インキュベートし、その後、CD3コーティングプレートに添加した。洗浄の前に30分間、結合を進めた。洗浄後、二次西洋ワサビペルオキシダーゼ抗体コンジュゲートを用いて、結合したSP34.185 s c F vを測定した。再度洗浄した後、標準的なE L I S A技術を用いてプレートを発色させ、酸を用いて停止させた。SP34.185 s c F v C D 3結合シグナルの50%を阻害するために必要とされたペプチドの濃度（I C 5 0）を、G r a p h p a dプリズムを使用して計算した。データを図2A～2Fに示す。

【 0 4 0 8 】

【表 10】

表 10. 図 2B の概要

ELISA	ペプチド -1	ペプチド-3	ペプチド-4	ペプチド-5	ペプチド-6	ペプチド-7	ペプチド-8
IC50 uM	0.1926	0.1025	0.2318	0.1905	5.484	>100	>100

【 0 4 0 9 】

【表 11】

表 11. 図 2C の概要

ELISA	ペプチド-1	ペプチド-9	ペプチド-10	ペプチド-11	ペプチド-12	ペプチド-13	ペプチド-14
IC50 uM	0.1138	>100	63.18	>100	86.78	36.66	3.009

【 0 4 1 0 】

【表 1 2】

表 12. 図 2E の概要

ELISA	ペプチド -16	ペプチド -17	ペプチド -18	ペプチド -19	ペプチド -20	ペプチド -21
IC50 uM	0.1473	3.333	>100	>100	>100	41.46

【 0 4 1 1 】

【表 1 3】

表 13. 図 2F の概要

ELISA	ペプチド -22	ペプチド -23	ペプチド -24	ペプチド -25	ペプチド -26	ペプチド -27
IC50 uM	>100	>100	1.912	0.6992	1.456	0.1180

【 0 4 1 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 4】

表 14. ペプチド配列の概要

ペプチド-ID	抗-CD3 パニング標的	配列	配列番号
ペプチド-1	SP34.185	GSQCLGPEWEVCPY	1
ペプチド-3	SP34.185	ASQCLGPEWEVCPY	19
ペプチド-4	SP34.185	GAQCLGPEWEVCPY	20
ペプチド-5	SP34.185	GSACLGPEWEVCPY	21
ペプチド-6	SP34.185	GSQCAGPEWEVCPY	22
ペプチド-7	SP34.185	GSQCLAPEWEVCPY	23
ペプチド-8	SP34.185	GSQCLGAWEVCPY	24
ペプチド-9	SP34.185	GSQCLGPAWEVCPY	25
ペプチド-10	SP34.185	GSQCLGPEAEVCPY	26
ペプチド-11	SP34.185	GSQCLGPEWAVCPY	27
ペプチド-12	SP34.185	GSQCLGPEWEACPY	28
ペプチド-13	SP34.185	GSQCLGPEWEVCAY	29
ペプチド-14	SP34.185	GSQCLGPEWEVCPA	30
ペプチド-15	SP34.185	GSQCLGPEWEVCPY	31
ペプチド-2	SP34.185	VYCGPEFDES VGCM	2
ペプチド-16	SP34.185	AYCGPEFDES VGCM	32
ペプチド-17	SP34.185	VACGPEFDES VGCM	33
ペプチド-18	SP34.185	VYCAPEFDES VGCM	34
ペプチド-19	SP34.185	VYCGAEFDES VGCM	35
ペプチド-20	SP34.185	VYCGPAFDES VGCM	36
ペプチド-21	SP34.185	VYCGPEADES VGCM	37
ペプチド-22	SP34.185	VYCGPEFAES VGCM	38
ペプチド-23	SP34.185	VYCGPEFDAS VGCM	39
ペプチド-24	SP34.185	VYCGPEFDEAVGCM	40
ペプチド-25	SP34.185	VYCGPEFDESAGCM	41
ペプチド-26	SP34.185	VYCGPEFDES VACM	42
ペプチド-27	SP34.185	VYCGPEFDES VGCA	43

【0 4 1 3】

実施例 2：E L I S A による C D 3 へのポリペプチド結合

切断可能なリンカーを用いて、S P 3 4 . 1 8 5 s c F v へのテザリングを介して、ペプチドマスクを二重特異性ポリペプチド分子に組み込んだ。次いで、標準的な酵素結合免疫吸着測定法（E L I S A）によって、プロテアーゼ処理の前後に C D 3 に結合する能力についてポリペプチド分子を評価した。簡潔に言えば、ビオチン化 C D 3 をニュートラアビジンコーティングプレート上に捕捉し、ビオシチン（b i o c y t i n）でクエンチし、洗浄した。指示があれば、ポリペプチド分子をプロテアーゼで処理した。次いで、ポリペプチド分子を緩衝液中で滴定し、C D 3 捕捉 E L I S A プレートに加えた。短時間のインキュベーション後、プレートを洗浄し、標準的な二次西洋ワサビペルオキシダーゼコンジュゲート抗体を用いて、結合したポリペプチド分子を検出した。さらなる洗浄後、E L I S A プレートを発色させ、酸中で停止させた。50%最大シグナルを達成するのに必要なポリペプチドの濃度（E C 5 0）を、G r a p h p a d P r i s m で計算した。S

10

20

30

40

50

P 3 4 . 1 8 5 s c F v への阻害性ペプチドのテザリングは、阻害性ペプチドマスキングを欠く対照ポリペプチドと比較して、C D 3 に結合する能力を有意に妨げた。

【 0 4 1 4 】

【表 1 5】

表 15. 図 3 の概要

	PC-1	PC-1+ MTSP1	PC-2	PC-2 + MTSP1	PC-3
EC50 nM	13.66	0.05722	13.28	0.06099	0.05401
倍数シフト	252.9x	1.1x	245.9x	1.1x	1x

10

【 0 4 1 5 】

実施例 3：ポリペプチド媒介性の腫瘍細胞死滅

切断可能なリンカーを用いて、S P 3 4 . 1 8 5 s c F v へのテザリングを介して、ペプチドマスクを二重特異性ポリペプチド分子に組み込んだ。その後、二重特異性ポリペプチド分子の機能活性を、腫瘍細胞株死滅アッセイを介してプロテアーゼ処理の前後に評価した。細胞増殖動態をモニタリングするために表面インピーダンスに依存する x C e l l i g e n c e リアルタイム細胞分析器 (A g i l e n t 製の R T C A) を使用して、腫瘍細胞死滅を測定した。簡潔に言えば、腫瘍細胞株を E プレート上に播種し、5 % 二酸化炭素雰囲気中で 3 7 °C の加湿インキュベーター中で一晩接着させた。一晩インキュベートした後、二重特異性ポリペプチド分子を細胞培養培地中で滴定し、プレートに加えた。さらに、P B M C または C D 8 + T 細胞などのエフェクター細胞を、指示されたエフェクター細胞対腫瘍細胞比でプレートに添加した。指示があれば、二重特異性ポリペプチドをプロテアーゼで処理した。その後、プレートを加湿インキュベーター内の R T C A 上に戻し置き、インピーダンス測定値 (細胞指数) を 1 0 分毎に複数日間収集した。複数日後、腫瘍増殖曲線下面積 (細胞指数 × 時間) をポリペプチド分子の対数濃度に対してプロットした。腫瘍細胞増殖を 5 0 % 阻害するのに必要なポリペプチド分子の濃度 (I C 5 0) を G r a p h p a d P r i s m で計算した。ポリペプチド結合ドメインのマスキングは、機能的腫瘍死滅を有意に阻害したが、マスキングされたポリペプチドのプロテアーゼによる処理は、機能的腫瘍死滅を回復した。

20

30

【 0 4 1 6 】

【表 1 6】

表 16. 図 4 の概要

	PC-1	PC-1+ MTSP1	PC-2	PC-2 + MTSP1	PC-3
IC50 pM	0.2463	144.3	0.1234	239.5	0.4171
倍数シフト	1x	585.9x	1x	1940.8x	対照

40

【 0 4 1 7 】

実施例 4：最適化されたファージライブラリー構築

実施例 1 のペプチド配列活性関係 (S A R) を使用して、各ペプチド配列内の重要残基をコードするコドンが最小限に変異し、非重要残基をコードするコドンが重度に変異した D N A オリゴライブラリーを構築した。得られたオリゴを、バクテリオファージの p i l

50

しフィラメントへの融合を介してSAR誘導ペプチドを提示するために使用されるバクテリオファージベクターにクローン化した。その後、関連するベクターを用いて、当該分野における標準的な技術を用いた細菌における増幅を介してファージ最適化ライブラリーを作製した。

【0418】

実施例5：最適化されたファージライブラリーのパニング

ファージ最適化ライブラリーが完成すると、SP34.185 scFv 負荷ビーズを用いてファージライブラリーをバイオパニングした。複数回のパニングを行い、その中でバクテリオファージをSP34.185 scFv 負荷ビーズに結合させ、洗浄し、溶出させ、増幅させた。固定濃度のCD3、ペプチド-1、またはペプチド-2を使用する各回のパニング中に、さらなる選択圧を含めた。パニング後、ファージ感染細菌を播種し、コロニーを96ウェルブロックに採取した。次いで、クローンファージを増幅し、遠心分離によって細菌細胞から分離した。飽和濃度のCD3の存在下または非存在下で、ファージ含有上清をSP34.185 scFv コーティングプレートに対する結合ELISAで試験した。結合シグナルがCD3の存在下で減少した場合、SP34.185 scFvに結合することができるファージを配列分析のために選択した。

10

【0419】

実施例6：パニングELISA

クローンファージを粗上清として回収し、標準的な酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）によってスクリーニングした。簡潔に言えば、ビオチン化SP34.185 scFvをニュートラアビジンコーティングプレート上に捕捉した。クローンファージの添加前に、ウェルをブロッキング緩衝液およびCD3で、またはブロッキング緩衝液単独でインキュベートした。次いで、洗浄または吸引することなく、クローンファージ上清をウェルに添加し、短時間インキュベートした。次いで、ウェルを洗浄し、その後、西洋ワサビペルオキシダーゼコンジュゲート抗M13抗体を用いて結合ファージを検出した。その後、関心対象のクローンファージを配列分析に送った。

20

【0420】

ペプチド-2ライブラリー配列のファージパニング結果を表17に示す。

【0421】

ペプチド-29～ペプチド-40を配列分析のために選択し、配列を表18に示す。CD3に対するSP34.185 scFvへのペプチド結合を図5A～5Bに示し、それぞれ表19～20に要約する。ELISAによってCD3へのSP34.185 scFv結合のペプチド阻害を図6A～6Bに示し、それぞれ表21～22に要約する。

30

【0422】

ペプチド-2のコア配列モチーフを図7に示す。

【0423】

40

50

【表 17-1】

表 17. ペプチド-2最適化ライブラリーパンニング(-)からのクローンフェージペプチド配列は、ペプチド-2の対応位置（例えば、フェージ-1位置）と同じアミノ酸を示す。

フェージID	アミノ酸位置配列														フェージ結合 ELISA			配列番号
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	バックグラウンドシグナル	SP34.185 scFv シグナル	CD3 の存在下での SP34.185 scFv シグナル	
フェージ-1/ペプチド2	V	Y	C	G	P	E	F	D	E	S	V	G	C	M	0.06	2.79	0.09	56
フェージ-2	D	D	-	W	-	D	W	E	F	D	F	A	-	A	0.08	2.75	0.09	57
フェージ-3	Y	I	-	-	L	D	-	P	D	F	L	Y	-	D	0.08	2.88	0.10	58
フェージ-4	F	D	-	W	-	D	W	E	-	Y	F	V	-	D	0.08	2.79	0.09	59
フェージ-5	Y	I	-	W	-	D	W	E	-	Y	F	D	-	D	0.08	2.74	0.09	60
フェージ-6	N	I	-	W	-	D	W	E	D	D	Y	F	-	F	0.09	2.54	0.09	61
フェージ-7	N	F	-	W	-	D	W	E	Y	I	Y	P	-	I	0.07	2.77	0.09	62
フェージ-8	-	D	-	W	-	D	W	E	-	D	F	L	-	I	0.08	2.54	0.08	63
フェージ-9	H	A	-	W	-	D	W	E	-	Y	F	P	-	N	0.08	2.85	0.09	64
フェージ-10	Y	D	-	-	-	D	V	-	-	-	Y	V	-	V	0.09	2.63	0.10	65
フェージ-11	I	D	-	W	-	D	W	E	D	D	T	F	-	Y	0.09	2.73	0.08	66
フェージ-12	Y	L	-	-	-	D	G	-	-	T	L	A	-	Y	0.08	2.66	0.15	67
フェージ-13	-	D	-	-	-	D	G	-	-	-	I	L	-	Y	0.11	2.13	0.08	68
フェージ-14	F	I	-	W	-	D	W	E	-	D	Y	F	-	A	0.07	2.44	0.09	69
フェージ-15	G	D	-	W	-	D	W	E	W	D	F	Y	-	D	0.07	2.71	0.07	70
フェージ-16	Y	L	-	W	-	D	W	E	Y	I	D	L	-	D	0.12	2.67	0.08	71
フェージ-17	S	F	-	W	-	D	W	E	-	Y	F	D	-	D	0.10	2.60	0.07	72
フェージ-18	D	D	-	W	-	D	W	E	-	Y	A	S	-	D	0.09	2.57	0.07	73
フェージ-19	N	L	-	W	-	D	W	E	Y	P	F	F	-	D	0.09	2.52	0.09	74
フェージ-20	F	D	-	W	-	D	W	E	-	-	F	V	-	D	0.08	2.34	0.09	75
フェージ-21	D	I	-	-	-	D	G	-	-	T	I	I	-	D	0.13	2.30	0.10	76
フェージ-22	D	D	-	W	-	D	W	E	Y	Y	A	V	-	D	0.09	2.28	0.09	77
フェージ-23	Y	D	-	W	-	D	W	E	-	Y	S	N	-	D	0.10	2.17	0.08	78
フェージ-24	I	N	-	W	-	D	W	E	D	Y	F	F	-	D	0.07	2.16	0.07	79
フェージ-25	N	I	-	W	-	D	W	E	D	D	T	F	-	F	0.06	2.87	0.07	80
フェージ-26	N	I	-	W	-	D	W	E	P	N	S	F	-	F	0.09	2.87	0.08	81
フェージ-27	Y	D	-	-	-	M	-	-	-	I	D	-	-	F	0.09	2.39	0.08	82
フェージ-28	D	F	-	W	-	D	W	E	F	P	F	I	-	H	0.11	2.73	0.12	83

【0424】

10

20

30

40

50

【表 17-2】

フアー ジ-29	D	F	-	-	-	-	M	-	-	-	I	T	-	I	0.07	2.36	0.08	84
フアー ジ-30	Y	D	-	-	-	-	-	-	-	-	T	V	-	I	0.10	2.32	0.08	85
フアー ジ-31	H	D	-	W	-	D	W	E	W	D	I	F	-	I	0.07	2.26	0.08	86
フアー ジ-32	H	A	-	W	-	D	W	E	-	Y	N	P	-	N	0.11	2.71	0.11	87
フアー ジ-33	D	V	-	W	-	D	W	E	W	D	F	F	-	N	0.08	2.65	0.08	88
フアー ジ-34	N	-	-	W	-	D	W	E	Y	Y	I	P	-	N	0.10	2.57	0.08	89
フアー ジ-35	I	I	-	W	-	D	W	E	F	I	D	Y	-	N	0.08	2.10	0.07	90
フアー ジ-36	S	L	-	W	-	D	W	E	Y	D	I	A	-	P	0.07	2.53	0.08	91
フアー ジ-37	D	L	-	-	-	-	L	-	-	-	I	F	-	P	0.08	2.49	0.09	92
フアー ジ-38	T	N	-	W	-	D	W	E	W	V	L	P	-	P	0.14	2.47	0.10	93
フアー ジ-39	I	E	-	W	-	D	W	E	P	N	Y	F	-	P	0.13	2.29	0.09	94
フアー ジ-40	I	F	-	W	-	D	W	E	D	Y	-	D	-	P	0.07	2.28	0.07	95
フアー ジ-41	I	D	-	W	-	D	W	E	Y	D	F	F	-	P	0.07	2.26	0.08	96
フアー ジ-42	L	F	-	W	-	D	W	E	D	-	F	F	-	P	0.18	2.11	0.13	97
フアー ジ-43	-	D	-	W	-	D	W	E	D	Y	A	D	-	T	0.11	2.20	0.10	98
フアー ジ-44	-	I	-	W	-	D	W	E	Q	Y	F	P	-	V	0.11	2.34	0.09	99
フアー ジ-45	I	E	-	W	-	D	W	E	P	I	Y	P	-	Y	0.09	2.85	0.09	100
フアー ジ-46	I	T	-	W	-	D	W	E	V	Y	F	P	-	Y	0.07	2.55	0.08	101
フアー ジ-47	I	D	-	W	-	D	W	E	Y	I	H	P	-	Y	0.06	2.51	0.09	102
フアー ジ-48	I	D	-	W	-	D	W	E	Y	I	N	P	-	Y	0.12	2.50	0.12	103
フアー ジ-49	A	D	-	W	-	D	W	E	-	A	F	P	-	Y	0.09	2.44	0.09	104
フアー ジ-50	I	D	-	W	-	D	W	E	Y	I	Y	P	-	Y	0.09	2.31	0.07	105
フアー ジ-51	N	I	-	W	-	D	W	E	D	D	N	F	-	F	0.09	2.08	0.09	106
フアー ジ-52	Y	D	-	W	-	D	W	E	Y	V	D	A	-	Y	0.09	2.06	0.09	107
フアー ジ-53	F	-	-	-	-	D	G	-	-	-	Y	V	-	D	0.09	2.03	0.11	108
フアー ジ-54	D	I	-	W	-	D	W	E	Y	I	N	I	-	S	0.11	2.02	0.11	109
フアー ジ-55	F	V	-	W	-	D	W	E	D	F	N	F	-	D	0.07	2.01	0.08	110
フアー ジ-56	F	A	-	W	-	D	W	E	D	Y	-	A	-	D	0.07	2.01	0.09	111
フアー ジ-57	D	N	-	W	-	D	W	E	Y	D	F	F	-	V	0.08	1.99	0.09	112
フアー ジ-58	Y	D	-	W	-	D	W	E	-	Y	N	D	-	A	0.09	1.96	0.11	113
フアー ジ-59	D	D	-	-	-	D	G	-	-	T	I	I	-	V	0.07	1.91	0.09	114
フアー ジ-60	F	P	-	W	-	D	W	E	-	Y	A	I	-	D	0.10	1.89	0.10	115
フアー ジ-61	P	D	-	-	-	D	G	-	-	-	L	F	-	T	0.12	1.86	0.07	116

【0425】

10

20

30

40

50

【表 17-3】

フアー ジ-62	D	N	-	W	-	D	W	E	Y	D	Y	F	-	V	0.07	1.83	0.07	117
フアー ジ-63	I	F	-	W	-	D	W	E	-	F	Y	D	-	Y	0.12	1.82	0.08	118
フアー ジ-64	A	D	-	W	-	D	W	E	-	Y	F	P	-	N	0.08	1.82	0.08	119
フアー ジ-65	H	T	-	W	-	D	W	E	D	D	I	F	-	N	0.12	1.81	0.10	120
フアー ジ-66	F	A	-	W	-	D	W	E	-	A	F	L	-	L	0.09	1.80	0.09	121
フアー ジ-67	Y	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	A	-	D	0.08	1.77	0.08	122
フアー ジ-68	N	S	-	W	-	D	W	E	Y	D	I	I	-	D	0.08	1.77	0.10	123
フアー ジ-69	F	A	-	W	-	D	W	E	-	V	A	P	-	Y	0.07	1.75	0.07	124
フアー ジ-70	L	D	-	-	-	D	G	-	-	T	L	T	-	Y	0.10	1.75	0.12	125
フアー ジ-71	-	L	-	W	-	D	W	E	-	F	Y	D	-	P	0.07	1.74	0.09	126
フアー ジ-72	H	A	-	W	-	V	W	E	-	Y	F	P	-	N	0.07	1.72	0.08	127
フアー ジ-73	N	E	-	W	-	N	G	E	P	T	F	P	-	T	0.08	1.71	0.07	128
フアー ジ-74	L	T	-	-	-	D	G	-	-	T	L	Y	-	D	0.08	1.70	0.07	129
フアー ジ-75	Y	D	-	-	-	-	Y	-	-	-	-	P	-	I	0.13	1.67	0.09	130
フアー ジ-76	I	E	-	W	-	D	W	E	P	N	S	F	-	D	0.09	1.66	0.08	131
フアー ジ-77	Y	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	H	-	Y	0.12	1.66	0.09	132
フアー ジ-78	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	I	-	N	0.08	1.63	0.08	133
フアー ジ-79	I	-	-	-	-	-	V	E	-	A	Y	L	-	Y	0.09	1.62	0.10	134
フアー ジ-80	F	D	-	-	-	D	G	-	-	T	-	Y	-	D	0.09	1.61	0.08	135
フアー ジ-81	I	D	-	-	-	D	G	-	-	T	I	S	-	Y	0.08	1.57	0.11	136
フアー ジ-82	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	T	-	L	0.10	1.55	0.11	137
フアー ジ-83	Y	D	-	-	-	D	G	-	-	-	Y	F	-	D	0.08	1.53	0.08	138
フアー ジ-84	N	F	-	W	-	D	W	E	Y	F	N	D	-	N	0.09	1.53	0.09	139
フアー ジ-85	-	L	-	W	-	D	W	E	A	F	F	D	-	D	0.07	1.47	0.07	140
フアー ジ-86	I	-	-	-	-	-	W	E	W	P	-	A	-	N	0.16	1.47	0.10	141
フアー ジ-87	-	F	-	W	-	D	W	E	D	N	F	F	-	N	0.08	1.46	0.10	142
フアー ジ-88	-	V	-	W	-	D	W	E	T	F	F	P	-	D	0.08	1.46	0.08	143
フアー ジ-89	D	N	-	-	-	D	G	-	-	T	Y	I	-	N	0.10	1.45	0.09	144
フアー ジ-90	D	N	-	W	-	D	W	E	Y	N	F	F	-	V	0.07	1.45	0.08	145
フアー ジ-91	F	-	-	-	-	-	V	E	-	D	Y	L	-	I	0.10	1.43	0.10	146
フアー ジ-92	D	N	-	W	-	D	W	E	Y	D	I	F	-	V	0.07	1.43	0.07	147
フアー ジ-93	I	D	-	-	-	-	-	-	-	-	I	A	-	P	0.08	1.42	0.08	148
フアー ジ-94	Y	F	-	-	-	-	V	E	-	Y	T	L	-	F	0.10	1.42	0.10	149

【0426】

10

20

30

40

50

【表 17-4】

フアー ジ-95	F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	P	-	N	0.06	1.37	0.08	150
フアー ジ-96	F	D	-	-	-	-	V	E	-	Y	F	Y	-	A	0.11	1.36	0.08	151
フアー ジ-97	D	F	-	W	-	D	W	E	D	F	F	F	-	A	0.18	1.35	0.12	152
フアー ジ-98	F	F	-	-	-	D	G	-	-	T	L	S	-	N	0.08	1.35	0.09	153
フアー ジ-99	F	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	L	0.14	1.35	0.09	154
フアー ジ-100	Y	D	-	-	-	-	-	-	-	A	I	-	-	Y	0.09	1.32	0.10	155
フアー ジ-101	Y	I	-	W	-	D	W	E	-	Y	L	Y	-	P	0.10	1.32	0.15	156
フアー ジ-102	F	D	-	W	-	D	W	E	-	P	T	T	-	H	0.08	1.31	0.08	157
フアー ジ-103	Y	D	-	W	-	D	W	E	D	F	P	I	-	D	0.14	1.31	0.10	158
フアー ジ-104	-	V	-	W	-	D	W	E	Y	I	D	D	-	S	0.08	1.30	0.07	159
フアー ジ-105	I	N	-	W	-	D	W	E	V	I	S	F	-	D	0.12	1.30	0.08	160
フアー ジ-106	L	S	-	W	-	D	W	E	-	V	T	P	-	L	0.10	1.29	0.10	161
フアー ジ-107	F	A	-	W	-	D	W	E	-	V	D	I	-	Y	0.09	1.28	0.08	162
フアー ジ-108	Y	D	-	-	-	-	M	-	-	-	I	V	-	D	0.10	1.25	0.08	163
フアー ジ-109	Y	D	-	W	-	D	W	E	V	F	I	V	-	D	0.06	1.25	0.07	164
フアー ジ-110	D	N	-	W	-	D	W	E	H	N	F	F	-	V	0.10	1.25	0.08	165
フアー ジ-111	Y	D	-	-	-	D	G	-	-	-	I	Y	-	P	0.07	1.23	0.08	166
フアー ジ-112	Y	D	-	-	-	-	-	E	F	P	Y	Y	-	F	0.12	1.23	0.12	167
フアー ジ-113	A	D	-	-	-	-	Y	-	-	-	-	P	-	V	0.11	1.22	0.09	168
フアー ジ-114	F	L	-	-	-	-	V	E	-	V	H	Y	-	S	0.08	1.22	0.10	169
フアー ジ-115	T	D	-	W	-	D	W	E	Y	I	T	S	-	S	0.08	1.22	0.08	170
フアー ジ-116	A	F	-	-	-	-	L	-	-	-	I	T	-	D	0.09	1.21	0.09	171
フアー ジ-117	N	D	-	W	-	D	W	E	-	Y	F	S	-	Y	0.09	1.19	0.09	172
フアー ジ-118	F	D	-	-	-	-	W	E	I	V	T	D	-	Y	0.08	1.19	0.09	173
フアー ジ-119	N	L	-	-	-	-	M	-	-	-	I	I	-	P	0.13	1.19	0.11	174
フアー ジ-120	D	L	-	-	-	-	M	-	-	-	I	Y	-	D	0.10	1.19	0.14	175
フアー ジ-121	F	D	-	-	-	D	G	V	-	D	Y	I	-	D	0.09	1.18	0.09	176
フアー ジ-122	Y	A	-	W	-	D	W	E	-	D	F	A	-	Y	0.11	1.18	0.08	177
フアー ジ-123	H	D	-	-	-	-	M	-	-	-	I	V	-	V	0.10	1.17	0.10	178
フアー ジ-124	-	F	-	-	-	-	-	E	F	I	F	L	-	A	0.07	1.17	0.08	179
フアー ジ-125	Y	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	L	-	D	0.08	1.16	0.09	180
フアー ジ-126	S	V	-	W	-	D	W	E	-	F	Y	S	-	D	0.11	1.16	0.10	181
フアー ジ-127	P	-	-	-	-	D	G	-	-	T	A	I	-	T	0.13	1.16	0.10	182

【0427】

10

20

30

40

50

【表 17-5】

フアー ジ-128	D	D	-	-	-	-	L	E	W	Y	Y	P	-	Y	0.09	1.16	0.08	183
フアー ジ-129	F	I	-	-	-	-	-	-	-	-	L	P	-	N	0.08	1.14	0.09	184
フアー ジ-130	I	D	-	-	-	-	-	-	-	-	L	P	-	D	0.11	1.14	0.33	185
フアー ジ-131	F	L	-	-	-	-	-	E	-	D	A	P	-	Y	0.08	1.13	0.08	186
フアー ジ-132	I	F	-	-	-	D	G	-	-	T	H	I	-	H	0.10	1.13	0.07	187
フアー ジ-133	-	F	-	W	-	D	W	E	Y	I	D	F	-	N	0.10	1.11	0.21	188
フアー ジ-134	I	F	-	-	-	-	Y	-	-	-	L	H	-	I	0.12	1.11	0.11	189
フアー ジ-135	H	L	-	W	-	D	W	E	W	Y	-	D	-	P	0.08	1.11	0.10	190
フアー ジ-136	F	I	-	-	-	-	M	-	-	-	I	A	-	N	0.08	1.11	0.09	191
フアー ジ-137	I	F	-	-	-	-	V	E	M	I	F	L	-	N	0.09	1.10	0.08	192
フアー ジ-138	Y	D	-	-	-	-	W	E	F	P	-	D	-	I	0.11	1.09	0.11	193
フアー ジ-139	N	L	-	-	-	-	L	-	-	-	I	T	-	F	0.10	1.09	0.08	194
フアー ジ-140	F	-	-	-	-	-	V	E	D	F	Y	F	-	Y	0.08	1.09	0.08	195
フアー ジ-141	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	L	I	-	N	0.11	1.07	0.11	196
フアー ジ-142	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	L	P	-	D	0.08	1.07	0.08	197
フアー ジ-143	A	I	-	-	-	-	L	-	-	-	I	A	-	P	0.09	1.07	0.09	198
フアー ジ-144	-	I	-	-	-	-	V	E	D	Y	N	L	-	Y	0.08	1.07	0.09	199
フアー ジ-145	H	T	-	W	-	D	W	E	D	Y	T	V	-	P	0.10	1.06	0.09	200
フアー ジ-146	S	D	-	W	-	D	W	E	Y	F	Y	D	-	N	0.10	1.06	0.08	201
フアー ジ-147	-	F	-	-	-	D	G	-	-	T	-	H	-	D	0.09	1.05	0.08	202
フアー ジ-148	D	-	-	-	-	-	Y	-	-	-	-	H	-	I	0.09	1.05	0.08	203
フアー ジ-149	A	D	-	-	-	D	G	-	-	-	I	I	-	H	0.07	1.05	0.08	204
フアー ジ-150	F	-	-	-	-	-	L	-	-	-	L	T	-	V	0.10	1.05	0.08	205
フアー ジ-151	I	L	-	-	-	-	V	E	-	D	Y	Y	-	Y	0.11	1.04	0.09	206
フアー ジ-152	H	L	-	W	-	D	W	E	-	Y	H	S	-	D	0.09	1.04	0.09	207
フアー ジ-153	I	F	-	W	-	D	W	E	D	Y	N	F	-	T	0.08	1.04	0.11	208
フアー ジ-154	I	V	-	-	-	D	G	-	-	T	L	I	-	H	0.12	1.04	0.11	209
フアー ジ-155	A	D	-	W	-	D	W	E	W	D	Y	T	-	D	0.12	1.03	0.11	210
フアー ジ-156	I	T	-	-	-	-	-	-	-	-	T	T	-	N	0.20	1.02	0.21	211
フアー ジ-157	Y	H	-	W	-	D	W	E	-	Y	T	S	-	D	0.20	1.02	0.09	212
フアー ジ-158	N	-	-	-	-	-	V	E	-	Y	A	L	-	T	0.11	1.01	0.10	213
フアー ジ-159	F	I	-	-	-	-	M	-	-	-	I	H	-	D	0.15	1.00	0.19	214
フアー ジ-160	D	N	-	W	-	D	W	E	-	F	A	V	-	P	0.14	1.00	0.10	215

【0428】

10

20

30

40

50

【表 17-6】

フアー ジ-161	Y	D	-	-	-	-	L	-	-	T	-	V	-	D	0.10	1.00	0.09	216
フアー ジ-162	Y	D	-	-	-	-	-	-	-	-	I	A	-	Y	0.08	0.99	0.08	217
フアー ジ-163	I	D	-	W	-	D	W	E	Y	T	-	H	-	D	0.07	0.97	0.09	218
フアー ジ-164	D	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	I	-	I	0.09	0.96	0.09	219
フアー ジ-165	-	-	-	-	-	-	Y	-	-	-	S	F	-	F	0.09	0.91	0.08	220
フアー ジ-166	F	N	-	W	-	D	W	E	D	P	Y	F	-	V	0.09	0.86	0.07	221
フアー ジ-167	Y	D	-	-	-	-	Y	-	-	-	S	Y	-	S	0.08	0.82	0.07	222
フアー ジ-168	-	A	-	W	-	D	W	E	Y	T	D	S	-	F	0.13	0.79	0.09	223
フアー ジ-169	T	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	Y	0.10	0.77	0.09	224
フアー ジ-170	T	D	-	W	-	D	W	E	F	Y	A	D	-	D	0.07	0.75	0.08	225
フアー ジ-171	Y	D	-	-	-	-	L	-	-	-	-	I	-	H	0.09	0.69	0.09	226
フアー ジ-172	S	D	-	-	-	D	G	-	-	-	I	I	-	T	0.07	0.69	0.07	227
フアー ジ-173	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	I	D	-	D	0.08	0.67	0.09	228
フアー ジ-174	F	F	-	-	-	-	I	-	-	-	I	A	-	V	0.08	0.62	0.09	229
フアー ジ-175	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	F	-	D	0.16	0.60	0.10	230
フアー ジ-176	Y	D	-	-	-	-	W	E	W	P	I	D	-	V	0.10	0.59	0.10	231
フアー ジ-177	F	-	-	-	-	-	I	E	L	F	S	F	-	Y	0.13	0.59	0.11	232
フアー ジ-178	Y	-	-	-	-	-	V	-	-	-	I	T	-	P	0.15	0.42	0.11	233
フアー ジ-179	I	L	-	-	-	-	-	-	-	-	I	N	-	N	0.09	0.37	0.25	234
フアー ジ-180	-	V	-	-	-	A	M	G	Q	H	Y	L	-	D	0.08	0.09	0.08	235
フアー ジ-181	-	V	-	-	T	K	M	G	-	H	Y	L	-	S	0.08	0.08	0.08	236
フアー ジ-182	Y	D	-	W	-	D	W	E	Y	V	Y	A	-	Y	0.08	0.98	0.08	237
フアー ジ-183	D	L	-	-	-	-	L	-	-	-	-	N	-	D	0.09	0.98	0.08	238
フアー ジ-184	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	V	-	Y	0.14	0.97	0.16	239
フアー ジ-185	L	D	-	W	-	D	W	E	W	P	Y	S	-	N	0.08	0.96	0.09	240
フアー ジ-186	F	I	-	W	-	D	W	E	D	D	F	F	-	Y	0.08	0.96	0.09	241
フアー ジ-187	D	L	-	-	-	-	V	E	W	Y	F	F	-	N	0.11	0.95	0.10	242
フアー ジ-188	Y	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	V	-	F	0.07	0.94	0.08	243
フアー ジ-189	L	N	-	W	-	V	W	E	D	D	-	F	-	Y	0.09	0.92	0.09	244
フアー ジ-190	F	N	-	W	-	D	W	E	D	P	N	F	-	V	0.09	0.91	0.09	245
フアー ジ-191	-	I	-	W	-	D	W	E	D	D	Y	F	-	P	0.10	0.91	0.13	246
フアー ジ-192	F	L	-	-	-	-	-	-	-	-	S	V	-	Y	0.10	0.91	0.08	247
フアー ジ-193	Y	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	F	-	Y	0.10	0.91	0.09	248

【0429】

10

20

30

40

50

【表 17-7】

ファー ジ-194	H	L	-	-	-	D	G	-	-	-	F	T	-	F	0.11	0.90	0.10	249
ファー ジ-195	Y	F	-	-	-	-	M	-	-	-	L	Y	-	I	0.08	0.90	0.08	250
ファー ジ-196	Y	-	-	-	-	-	V	E	-	Y	A	N	-	Y	0.07	0.90	0.07	251
ファー ジ-197	N	T	-	-	-	-	-	-	-	-	T	A	-	Y	0.16	0.90	0.58	252
ファー ジ-198	I	D	-	W	-	D	W	E	-	A	F	N	-	Y	0.09	0.90	0.08	253
ファー ジ-199	A	-	-	-	-	-	L	E	-	F	F	L	-	T	0.09	0.89	0.08	254
ファー ジ-200	I	-	-	-	-	-	V	E	-	V	H	H	-	Y	0.08	0.89	0.08	255
ファー ジ-201	F	F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	D	0.10	0.89	0.11	256
ファー ジ-202	Y	D	-	-	-	-	L	-	-	T	I	I	-	A	0.08	0.89	0.08	257
ファー ジ-203	I	L	-	-	-	-	W	E	Y	P	L	D	-	S	0.09	0.89	0.10	258
ファー ジ-204	F	I	-	-	-	-	-	-	-	-	T	T	-	N	0.09	0.88	0.10	259
ファー ジ-205	F	-	-	-	-	-	L	-	-	-	-	S	-	D	0.17	0.88	0.15	260
ファー ジ-206	H	L	-	-	-	-	L	-	-	-	-	T	-	F	0.10	0.87	0.10	261
ファー ジ-207	L	I	-	-	-	-	V	E	D	Y	S	L	-	H	0.09	0.87	0.09	262
ファー ジ-208	Y	F	-	-	-	-	M	-	-	-	-	Y	-	D	0.08	0.87	0.08	263
ファー ジ-209	H	-	-	-	-	-	M	-	-	-	I	Y	-	I	0.13	0.87	0.09	264
ファー ジ-210	F	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	N	-	D	0.08	0.87	0.09	265
ファー ジ-211	Y	-	-	-	-	-	V	E	-	Y	I	Y	-	T	0.07	0.87	0.08	266
ファー ジ-212	L	A	-	W	-	V	R	E	-	I	N	A	-	I	0.08	0.85	0.07	267
ファー ジ-213	I	D	-	W	-	D	W	E	D	I	T	F	-	D	0.08	0.85	0.08	268
ファー ジ-214	I	V	-	-	-	-	L	-	-	-	I	T	-	P	0.11	0.85	0.15	269
ファー ジ-215	F	-	-	-	-	-	-	E	L	P	A	D	-	D	0.08	0.85	0.09	270
ファー ジ-216	F	D	-	-	-	-	-	-	-	-	N	P	-	F	0.10	0.85	0.09	271
ファー ジ-217	D	A	-	W	-	D	W	E	-	Y	S	S	-	D	0.10	0.83	0.10	272
ファー ジ-218	D	H	-	W	-	D	W	E	P	N	Y	F	-	V	0.08	0.83	0.09	273
ファー ジ-219	D	-	-	W	-	D	W	E	I	N	Y	I	-	F	0.09	0.83	0.10	274
ファー ジ-220	I	-	-	W	-	D	W	E	Y	V	Y	A	-	N	0.10	0.82	0.09	275
ファー ジ-221	D	F	-	-	-	-	V	E	-	D	Y	L	-	D	0.07	0.82	0.08	276
ファー ジ-222	H	D	-	-	-	D	G	R	-	D	Y	D	-	A	0.11	0.82	0.09	277
ファー ジ-223	L	A	-	W	-	D	W	E	D	D	Y	F	-	V	0.08	0.82	0.09	278
ファー ジ-224	D	I	-	W	-	D	W	E	D	Y	L	P	-	V	0.10	0.82	0.10	279
ファー ジ-225	I	L	-	-	-	-	I	E	V	Y	A	L	-	P	0.08	0.81	0.10	280
ファー ジ-226	I	F	-	-	-	-	W	E	F	-	-	L	-	N	0.10	0.81	0.11	281

【0430】

10

20

30

40

50

【表 17-8】

フアー ジ-227	T	-	-	-	-	-	V	E	D	F	S	L	-	V	0.07	0.80	0.08	282
フアー ジ-228	F	I	-	-	-	-	W	E	F	V	D	A	-	F	0.11	0.80	0.09	283
フアー ジ-229	F	A	-	W	-	D	W	E	-	D	S	P	-	D	0.06	0.80	0.07	284
フアー ジ-230	I	L	-	-	-	-	V	E	-	L	I	F	-	P	0.12	0.80	0.08	285
フアー ジ-231	F	-	-	-	-	-	V	E	-	Y	I	Y	-	Y	0.08	0.80	0.08	286
フアー ジ-232	D	S	-	-	-	-	L	-	-	-	I	I	-	D	0.10	0.79	0.09	287
フアー ジ-233	F	L	-	-	-	D	G	-	-	T	S	V	-	D	0.11	0.79	0.08	288
フアー ジ-234	F	N	-	W	-	N	G	E	P	T	Y	F	-	V	0.11	0.79	0.08	289
フアー ジ-235	L	A	-	W	-	V	W	E	Y	P	-	T	-	I	0.09	0.78	0.09	290
フアー ジ-236	D	-	-	-	-	-	V	E	-	D	-	Y	-	Y	0.09	0.78	0.09	291
フアー ジ-237	I	T	-	W	-	D	W	E	-	Y	A	N	-	T	0.08	0.77	0.07	292
フアー ジ-238	F	F	-	-	-	D	G	-	-	T	Y	S	-	I	0.15	0.77	0.13	293
フアー ジ-239	T	D	-	W	-	D	W	E	Y	A	T	S	-	D	0.09	0.76	0.09	294
フアー ジ-240	F	N	-	-	-	D	G	Y	-	D	Y	L	-	D	0.10	0.76	0.11	295
フアー ジ-241	Y	D	-	W	-	D	W	E	V	D	F	H	-	P	0.11	0.76	0.08	296
フアー ジ-242	N	I	-	W	-	D	W	E	D	D	S	F	-	F	0.08	0.76	0.08	297
フアー ジ-243	A	T	-	-	-	-	-	-	-	-	I	-	-	S	0.13	0.75	0.09	298
フアー ジ-244	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	F	-	D	0.10	0.74	0.09	299
フアー ジ-245	P	I	-	-	-	-	Y	-	-	-	D	V	-	A	0.08	0.74	0.08	300
フアー ジ-246	Y	-	-	-	-	D	G	-	-	Y	N	S	-	I	0.11	0.74	0.11	301
フアー ジ-247	-	D	-	W	-	D	W	E	V	F	I	A	-	D	0.11	0.74	0.10	302
フアー ジ-248	D	L	-	-	-	-	V	E	-	V	N	L	-	L	0.12	0.74	0.10	303
フアー ジ-249	F	D	-	-	-	-	M	-	-	-	T	T	-	F	0.09	0.74	0.09	304
フアー ジ-250	N	F	-	W	-	D	W	E	P	I	Y	F	-	T	0.13	0.74	0.14	305
フアー ジ-251	-	D	-	-	-	D	G	-	-	-	F	F	-	L	0.08	0.73	0.08	306
フアー ジ-252	-	D	-	-	-	D	G	-	-	T	A	F	-	I	0.10	0.73	0.09	307
フアー ジ-253	N	I	-	-	-	-	M	-	-	-	L	V	-	I	0.10	0.73	0.09	308
フアー ジ-254	I	I	-	-	-	-	-	-	-	-	F	F	-	F	0.08	0.73	0.09	309
フアー ジ-255	N	F	-	-	-	-	Y	-	-	-	I	S	-	I	0.10	0.73	0.38	310
フアー ジ-256	H	L	-	-	-	-	I	E	-	A	D	I	-	N	0.11	0.73	0.51	311
フアー ジ-257	D	-	-	-	-	-	V	E	-	D	Y	L	-	D	0.08	0.72	0.09	312
フアー ジ-258	D	-	-	-	-	-	L	-	-	-	I	N	-	D	0.11	0.72	0.10	313
フアー ジ-259	F	-	-	-	-	-	L	-	-	-	L	F	-	V	0.09	0.72	0.08	314

【0431】

10

20

30

40

50

【表 17-9】

ブアー ジ-260	P	D	-	-	-	-	W	E	F	Y	-	T	-	N	0.12	0.72	0.08	315
ブアー ジ-261	F	D	-	-	-	-	-	E	Y	I	Y	A	-	T	0.09	0.72	0.08	316
ブアー ジ-262	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	I	-	N	0.12	0.72	0.11	317
ブアー ジ-263	D	F	-	-	-	-	V	E	-	Y	I	F	-	F	0.08	0.72	0.07	318
ブアー ジ-264	P	V	-	W	-	D	W	E	Y	V	S	S	-	D	0.08	0.71	0.08	319
ブアー ジ-265	Y	I	-	-	-	-	R	-	-	-	N	L	-	L	0.09	0.71	0.09	320
ブアー ジ-266	Y	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	V	-	D	0.11	0.71	0.11	321
ブアー ジ-267	H	D	-	W	-	D	W	E	D	F	Y	F	-	V	0.09	0.71	0.08	322
ブアー ジ-268	H	-	-	-	-	-	Y	-	-	-	I	D	-	Y	0.12	0.71	0.10	323
ブアー ジ-269	L	F	-	-	-	-	M	P	-	D	I	F	-	N	0.08	0.71	0.08	324
ブアー ジ-270	H	D	-	-	-	-	L	E	F	H	Y	A	-	Y	0.10	0.71	0.12	325
ブアー ジ-271	D	F	-	-	-	-	L	-	-	-	I	N	-	F	0.08	0.70	0.08	326
ブアー ジ-272	Y	F	-	-	-	-	L	-	-	-	I	A	-	N	0.10	0.70	0.10	327
ブアー ジ-273	T	D	-	W	-	D	W	E	D	D	I	I	-	D	0.10	0.70	0.08	328
ブアー ジ-274	Y	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	Y	-	F	0.09	0.70	0.08	329
ブアー ジ-275	Y	-	-	W	-	D	W	W	-	Y	-	T	-	D	0.10	0.70	0.11	330
ブアー ジ-276	P	I	-	-	-	-	L	E	-	-	Y	L	-	N	0.13	0.69	0.52	331
ブアー ジ-277	F	D	-	-	-	-	-	-	-	-	I	V	-	Y	0.12	0.69	0.11	332
ブアー ジ-278	-	L	-	-	-	D	G	I	-	F	F	D	-	P	0.09	0.68	0.07	333
ブアー ジ-279	A	-	-	-	-	-	Y	-	-	-	L	T	-	V	0.07	0.68	0.07	334
ブアー ジ-280	D	F	-	-	-	-	L	-	-	-	I	I	-	A	0.14	0.68	0.14	335
ブアー ジ-281	Y	D	-	-	-	-	-	-	-	-	L	D	-	N	0.08	0.68	0.08	336
ブアー ジ-282	A	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	D	0.14	0.67	0.08	337
ブアー ジ-283	L	L	-	-	-	D	G	V	-	D	F	F	-	D	0.10	0.67	0.10	338
ブアー ジ-284	N	F	-	-	-	-	L	P	-	D	I	F	-	F	0.12	0.66	0.13	339
ブアー ジ-285	F	-	-	-	-	-	V	E	-	V	S	L	-	N	0.08	0.66	0.08	340
ブアー ジ-286	Y	D	-	-	-	D	G	Y	-	A	F	Y	-	H	0.12	0.66	0.10	341
ブアー ジ-287	N	F	-	-	-	-	I	E	F	D	Y	L	-	D	0.08	0.65	0.08	342
ブアー ジ-288	D	-	-	-	-	D	G	V	-	D	F	I	-	N	0.06	0.65	0.08	343
ブアー ジ-289	T	D	-	W	-	D	W	E	Y	I	Y	S	-	S	0.08	0.65	0.07	344
ブアー ジ-290	F	-	-	-	-	-	-	E	-	I	T	N	-	I	0.14	0.65	0.11	345
ブアー ジ-291	F	D	-	W	-	D	W	E	-	-	F	F	-	H	0.07	0.64	0.08	346
ブアー ジ-292	D	F	-	-	-	D	G	-	-	-	-	F	-	P	0.08	0.63	0.08	347

【0432】

10

20

30

40

50

【表 17-10】

フアー ジ-293	H	N	-	-	-	-	L	-	-	-	L	V	-	D	0.13	0.63	0.09	348
フアー ジ-294	I	-	-	-	-	D	G	A	-	D	Y	T	-	D	0.07	0.63	0.07	349
フアー ジ-295	F	D	-	-	-	-	-	E	F	P	-	I	-	F	0.08	0.62	0.08	350
フアー ジ-296	Y	N	-	-	-	-	L	-	-	-	-	T	-	D	0.09	0.62	0.08	351
フアー ジ-297	F	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	H	-	A	0.07	0.62	0.08	352
フアー ジ-298	D	I	-	-	-	-	V	E	-	Y	F	L	-	F	0.15	0.61	0.10	353
フアー ジ-299	F	D	-	-	-	-	V	-	-	-	L	T	-	F	0.10	0.61	0.09	354
フアー ジ-300	F	D	-	-	-	-	I	E	-	F	H	L	-	F	0.08	0.61	0.08	355
フアー ジ-301	A	-	-	-	-	-	L	-	-	-	I	I	-	D	0.12	0.61	0.10	356
フアー ジ-302	Y	N	-	-	-	-	L	-	-	-	I	T	-	N	0.09	0.61	0.10	357
フアー ジ-303	F	D	-	W	-	D	W	E	-	P	-	D	-	L	0.08	0.61	0.07	358
フアー ジ-304	D	V	-	-	-	-	L	-	-	-	-	L	-	P	0.08	0.60	0.08	359
フアー ジ-305	N	-	-	-	-	-	L	-	-	-	L	P	-	P	0.09	0.60	0.08	360
フアー ジ-306	Y	-	-	W	-	D	W	E	Y	D	I	F	-	S	0.08	0.60	0.10	361
フアー ジ-307	D	D	-	-	-	-	-	-	-	-	T	Y	-	N	0.08	0.60	0.09	362
フアー ジ-308	F	-	-	-	-	-	-	E	-	V	F	H	-	Y	0.09	0.60	0.09	363
フアー ジ-309	T	D	-	W	-	D	W	E	-	Y	F	L	-	D	0.07	0.60	0.09	364
フアー ジ-310	-	-	-	-	-	-	W	E	-	-	Y	L	-	P	0.09	0.60	0.09	365
フアー ジ-311	D	D	-	-	-	N	G	Y	A	T	F	I	-	Y	0.06	0.59	0.08	366
フアー ジ-312	F	L	-	-	-	-	I	E	D	D	T	H	-	Y	0.16	0.59	0.38	367
フアー ジ-313	F	A	-	W	-	D	W	E	-	T	I	P	-	H	0.08	0.59	0.08	368
フアー ジ-314	-	L	-	-	-	-	-	-	-	-	Y	N	-	Y	0.10	0.58	0.08	369
フアー ジ-315	Y	D	-	-	-	-	-	-	-	-	I	S	-	I	0.09	0.58	0.09	370
フアー ジ-316	Y	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	N	-	Y	0.12	0.57	0.10	371
フアー ジ-317	A	I	-	W	-	D	W	E	-	F	-	D	-	Y	0.10	0.57	0.09	372
フアー ジ-318	L	T	-	W	-	V	R	E	-	I	F	A	-	D	0.07	0.57	0.08	373
フアー ジ-319	-	L	-	-	-	-	-	-	-	-	Y	Y	-	N	0.09	0.57	0.09	374
フアー ジ-320	N	V	-	-	-	-	Y	-	-	-	A	P	-	N	0.07	0.56	0.08	375
フアー ジ-321	H	D	-	-	-	-	-	-	-	-	I	S	-	V	0.11	0.55	0.09	376
フアー ジ-322	F	D	-	-	-	-	L	-	-	T	-	D	-	N	0.12	0.55	0.41	377
フアー ジ-323	Y	F	-	-	-	-	V	E	-	H	F	Y	-	Y	0.09	0.55	0.08	378
フアー ジ-324	D	-	-	-	-	-	L	-	-	-	I	I	-	H	0.09	0.54	0.09	379
フアー ジ-325	D	D	-	-	-	-	V	P	-	D	I	T	-	Y	0.11	0.54	0.08	380

【0433】

10

20

30

40

50

【表 17-11】

フアー ジ-326	D	N	-	-	-	-	L	-	-	-	-	V	-	D	0.10	0.54	0.08	381
フアー ジ-327	-	H	-	W	-	D	W	E	P	N	Y	V	-	D	0.10	0.54	0.08	382
フアー ジ-328	D	-	-	-	-	-	L	-	-	-	L	F	-	L	0.09	0.53	0.09	383
フアー ジ-329	D	D	-	-	-	-	L	-	-	-	-	V	-	A	0.08	0.53	0.11	384
フアー ジ-330	A	A	-	-	-	-	L	-	-	-	I	V	-	D	0.13	0.53	0.09	385
フアー ジ-331	D	F	-	-	-	-	-	E	-	I	N	N	-	F	0.14	0.52	0.48	386
フアー ジ-332	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	N	A	-	Y	0.08	0.52	0.07	387
フアー ジ-333	-	L	-	-	-	-	-	-	-	-	N	S	-	Y	0.10	0.52	0.11	388
フアー ジ-334	Y	D	-	-	-	-	-	-	-	-	I	D	-	D	0.09	0.52	0.09	389
フアー ジ-335	D	S	-	-	-	-	-	E	F	Y	Y	V	-	F	0.11	0.52	0.14	390
フアー ジ-336	Y	I	-	-	-	-	L	-	-	-	L	I	-	H	0.10	0.52	0.08	391
フアー ジ-337	F	D	-	-	-	-	V	E	-	D	Y	F	-	Y	0.11	0.52	0.10	392
フアー ジ-338	F	D	-	-	-	-	Y	-	-	-	L	Y	-	F	0.08	0.52	0.07	393
フアー ジ-339	-	L	-	-	-	D	G	-	-	Y	S	F	-	H	0.10	0.51	0.10	394
フアー ジ-340	I	P	-	-	-	-	M	-	-	-	-	V	-	N	0.12	0.51	0.09	395
フアー ジ-341	I	I	-	-	-	D	G	Y	-	D	F	T	-	D	0.12	0.51	0.09	396
フアー ジ-342	I	F	-	-	-	-	L	-	-	-	I	I	-	Y	0.11	0.51	0.08	397
フアー ジ-343	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	Y	D	-	Y	0.18	0.51	0.18	398
フアー ジ-344	L	S	-	-	-	-	M	-	-	-	L	Y	-	D	0.12	0.51	0.08	399
フアー ジ-345	Y	D	-	W	-	D	W	E	Y	N	I	D	-	T	0.08	0.51	0.09	400
フアー ジ-346	N	H	-	-	-	D	G	-	-	T	I	V	-	F	0.09	0.51	0.08	401
フアー ジ-347	N	F	-	-	-	-	L	-	-	-	I	P	-	H	0.11	0.50	0.12	402
フアー ジ-348	F	H	-	-	-	-	I	E	-	Y	A	L	-	D	0.08	0.50	0.09	403
フアー ジ-349	-	-	-	-	-	-	V	E	D	Y	N	L	-	Y	0.07	0.50	0.08	404
フアー ジ-350	-	-	-	-	-	D	G	-	-	L	A	N	-	Y	0.09	0.50	0.08	405
フアー ジ-351	L	I	-	-	-	V	I	A	-	D	L	P	-	N	0.17	0.50	0.26	406
フアー ジ-352	D	I	-	-	-	-	I	P	-	D	-	S	-	D	0.10	0.50	0.08	407
フアー ジ-353	I	-	-	-	-	-	W	E	-	A	D	Y	-	D	0.11	0.50	0.45	408
フアー ジ-354	I	D	-	W	-	D	W	E	D	D	S	I	-	Y	0.10	0.50	0.10	409
フアー ジ-355	-	L	-	-	-	-	V	E	D	F	T	L	-	D	0.09	0.50	0.11	410
フアー ジ-356	L	-	-	-	-	V	I	E	-	I	Y	Y	-	Y	0.09	0.49	0.09	411
フアー ジ-357	F	F	-	-	-	-	-	E	V	H	S	D	-	N	0.14	0.49	0.38	412
フアー ジ-358	N	D	-	-	-	-	V	E	L	V	S	D	-	N	0.10	0.49	0.08	413

【0434】

10

20

30

40

50

【表 17-12】

フアー ジ-359	D	L	-	-	-	-	L	-	-	-	T	V	-	D	0.09	0.49	0.08	414
フアー ジ-360	I	P	-	-	-	-	V	E	D	Y	N	L	-	N	0.08	0.49	0.08	415
フアー ジ-361	Y	-	-	-	-	-	L	E	W	P	-	V	-	N	0.10	0.49	0.10	416
フアー ジ-362	Y	D	-	-	-	-	L	-	-	-	-	I	-	N	0.08	0.49	0.10	417
フアー ジ-363	-	-	-	-	-	D	G	-	-	-	F	D	-	A	0.08	0.49	0.08	418
フアー ジ-364	N	D	-	-	-	-	W	E	D	T	Y	F	-	L	0.08	0.49	0.10	419
フアー ジ-365	P	-	-	-	-	-	M	E	-	L	S	N	-	S	0.13	0.48	0.16	420
フアー ジ-366	D	D	-	-	-	-	-	E	V	I	S	D	-	Y	0.15	0.48	0.10	421
フアー ジ-367	D	L	-	-	-	-	-	P	-	D	-	P	-	D	0.08	0.48	0.08	422
フアー ジ-368	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	V	-	Y	0.11	0.48	0.10	423
フアー ジ-369	A	-	-	-	-	-	Y	E	V	F	A	D	-	N	0.10	0.48	0.11	424
フアー ジ-370	I	D	-	-	-	-	Y	-	-	-	-	D	-	L	0.09	0.48	0.09	425
フアー ジ-371	H	I	-	W	-	D	W	E	-	F	H	D	-	N	0.07	0.48	0.08	426
フアー ジ-372	Y	D	-	-	-	-	L	-	-	T	I	T	-	L	0.08	0.48	0.08	427
フアー ジ-373	Y	L	-	-	-	-	L	-	-	T	I	L	-	N	0.09	0.48	0.08	428
フアー ジ-374	F	F	-	-	-	-	-	E	-	A	F	L	-	F	0.10	0.48	0.14	429
フアー ジ-375	I	L	-	-	-	-	L	-	-	-	F	T	-	A	0.07	0.47	0.08	430
フアー ジ-376	F	H	-	-	-	-	V	E	L	Y	T	D	-	N	0.09	0.47	0.08	431
フアー ジ-377	N	L	-	-	-	-	V	E	-	Y	N	F	-	Y	0.08	0.47	0.08	432
フアー ジ-378	F	D	-	-	-	-	V	E	-	T	Y	Y	-	F	0.21	0.47	0.09	433
フアー ジ-379	-	F	-	-	-	-	-	E	-	D	H	Y	-	Y	0.12	0.47	0.37	434
フアー ジ-380	A	I	-	-	-	-	W	E	V	V	A	D	-	N	0.11	0.47	0.11	435
フアー ジ-381	F	I	-	W	-	D	W	E	-	D	N	Y	-	N	0.12	0.47	0.25	436
フアー ジ-382	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	I	-	D	0.08	0.47	0.10	437
フアー ジ-383	N	L	-	-	-	-	V	E	D	V	Y	D	-	H	0.12	0.47	0.43	438
フアー ジ-384	H	-	-	-	-	-	V	E	-	Y	H	N	-	N	0.09	0.47	0.09	439
フアー ジ-385	D	I	-	-	-	-	Y	-	-	-	Y	S	-	T	0.09	0.47	0.09	440
フアー ジ-386	D	-	-	-	-	-	L	-	-	T	L	I	-	A	0.13	0.46	0.10	441
フアー ジ-387	I	A	-	-	-	-	M	P	-	D	I	D	-	Y	0.12	0.46	0.09	442
フアー ジ-388	I	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	F	-	D	0.10	0.46	0.10	443
フアー ジ-389	Y	F	-	-	-	D	V	E	-	D	F	A	-	D	0.11	0.46	0.11	444
フアー ジ-390	Y	N	-	-	-	-	W	E	Y	A	I	L	-	D	0.12	0.46	0.34	445
フアー ジ-391	I	-	-	-	-	-	V	E	D	Y	I	V	-	N	0.14	0.46	0.22	446

【0435】

10

20

30

40

50

【表 17-13】

フアー ジ-392	Y	D	-	-	-	-	I	-	-	-	T	P	-	A	0.07	0.46	0.07	447
フアー ジ-393	D	T	-	W	-	D	W	E	H	I	Y	A	-	D	0.09	0.46	0.09	448
フアー ジ-394	D	I	-	-	-	-	M	-	-	-	-	T	-	N	0.13	0.45	0.12	449
フアー ジ-395	Y	D	-	W	-	D	W	E	R	Y	F	P	-	I	0.10	0.45	0.09	450
フアー ジ-396	H	L	-	-	-	-	L	-	-	-	-	A	-	S	0.13	0.45	0.11	451
フアー ジ-397	Y	D	-	-	-	D	G	-	-	T	T	I	-	A	0.09	0.45	0.09	452
フアー ジ-398	Y	-	-	-	-	-	Y	E	D	V	L	D	-	F	0.07	0.45	0.08	453
フアー ジ-399	D	F	-	-	-	-	M	-	-	T	I	S	-	D	0.14	0.45	0.10	454
フアー ジ-400	I	L	-	-	-	-	L	-	-	-	L	V	-	D	0.08	0.44	0.07	455
フアー ジ-401	L	I	-	-	-	-	W	E	V	I	T	N	-	D	0.12	0.44	0.40	456
フアー ジ-402	Y	D	-	-	-	-	-	-	-	Y	F	-	-	P	0.09	0.44	0.09	457
フアー ジ-403	A	L	-	-	-	-	V	E	V	Y	D	V	-	V	0.08	0.44	0.08	458
フアー ジ-404	Y	H	-	W	-	D	W	E	D	V	N	F	-	Y	0.10	0.44	0.09	459
フアー ジ-405	F	L	-	-	-	M	G	G	L	T	F	Y	-	Y	0.09	0.44	0.08	460
フアー ジ-406	I	I	-	-	-	-	-	-	-	Y	-	-	-	F	0.09	0.43	0.19	461
フアー ジ-407	F	F	-	-	-	-	M	-	-	-	-	H	-	F	0.11	0.43	0.09	462
フアー ジ-408	A	F	-	-	-	-	-	-	-	-	L	F	-	A	0.09	0.43	0.09	463
フアー ジ-409	N	-	-	-	-	D	G	-	-	T	N	I	-	D	0.08	0.43	0.08	464
フアー ジ-410	Y	L	-	-	-	-	W	E	W	V	H	N	-	L	0.13	0.43	0.09	465
フアー ジ-411	A	T	-	-	-	D	G	-	-	-	H	I	-	A	0.08	0.43	0.09	466
フアー ジ-412	-	-	-	-	-	-	V	E	V	L	D	Y	-	D	0.07	0.42	0.08	467
フアー ジ-413	I	H	-	-	-	-	W	E	F	Y	T	D	-	D	0.08	0.42	0.08	468
フアー ジ-414	D	D	-	-	-	-	L	-	-	T	-	A	-	D	0.13	0.42	0.32	469
フアー ジ-415	Y	L	-	-	-	-	-	-	-	-	I	D	-	N	0.11	0.42	0.17	470
フアー ジ-416	L	L	-	-	-	-	V	E	D	V	F	A	-	Y	0.09	0.42	0.09	471
フアー ジ-417	Y	D	-	-	-	-	L	-	-	-	L	T	-	D	0.08	0.42	0.08	472
フアー ジ-418	F	D	-	-	-	-	L	-	-	T	-	N	-	Y	0.09	0.41	0.09	473
フアー ジ-419	F	A	-	W	-	D	W	E	-	I	N	D	-	H	0.08	0.41	0.09	474
フアー ジ-420	Y	-	-	-	-	-	Y	E	-	D	I	Y	-	N	0.09	0.41	0.09	475
フアー ジ-421	N	V	-	-	-	-	V	E	D	Y	T	F	-	Y	0.09	0.40	0.08	476
フアー ジ-422	A	-	-	-	-	-	L	E	-	Y	D	F	-	T	0.12	0.40	0.08	477
フアー ジ-423	F	D	-	-	-	-	I	-	-	-	T	I	-	T	0.08	0.40	0.09	478
フアー ジ-424	N	L	-	-	-	-	L	-	-	T	L	V	-	A	0.10	0.40	0.09	479

【0436】

10

20

30

40

50

【表 17-14】

フアー ジ425	Y	S	-	W	-	D	W	E	-	Y	L	A	-	N	0.08	0.40	0.08	480
フアー ジ426	G	I	-	-	-	-	V	E	D	Y	N	Y	-	D	0.09	0.40	0.10	481
フアー ジ427	F	F	-	-	-	-	L	-	-	-	-	N	-	H	0.07	0.40	0.07	482
フアー ジ428	Y	-	-	-	-	-	Y	E	-	D	F	Y	-	F	0.11	0.40	0.09	483
フアー ジ429	L	-	-	-	-	-	Y	-	-	-	T	D	-	Y	0.11	0.40	0.10	484
フアー ジ430	D	-	-	-	-	-	V	E	-	D	F	L	-	Y	0.10	0.40	0.08	485
フアー ジ431	T	L	-	-	-	-	V	E	L	Y	I	F	-	D	0.08	0.40	0.09	486
フアー ジ432	F	-	-	-	-	-	-	E	Q	I	A	D	-	Y	0.11	0.40	0.09	487
フアー ジ433	D	D	-	-	-	-	V	E	-	Y	H	L	-	D	0.11	0.40	0.18	488
フアー ジ434	D	-	-	-	-	-	L	E	D	V	T	L	-	H	0.13	0.39	0.09	489
フアー ジ435	-	L	-	-	-	-	V	E	D	V	N	L	-	Y	0.09	0.39	0.08	490
フアー ジ436	D	I	-	-	-	-	L	-	-	T	I	D	-	Y	0.09	0.39	0.09	491
フアー ジ437	T	-	-	-	-	-	V	E	-	D	I	N	-	Y	0.08	0.39	0.08	492
フアー ジ438	I	V	-	W	-	D	W	E	-	Y	P	N	-	D	0.08	0.39	0.08	493
フアー ジ439	S	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	I	-	T	0.11	0.39	0.10	494
フアー ジ440	Y	D	-	-	-	-	L	P	-	D	Y	D	-	N	0.15	0.39	0.10	495
フアー ジ441	N	L	-	W	-	D	W	E	-	Y	Y	A	-	D	0.12	0.39	0.17	496
フアー ジ442	D	D	-	-	-	-	L	-	-	-	L	P	-	H	0.10	0.39	0.08	497
フアー ジ443	S	L	-	-	-	D	G	Q	-	D	Y	T	-	F	0.08	0.39	0.08	498
フアー ジ444	L	I	-	W	-	D	W	E	-	Y	N	F	-	T	0.13	0.39	0.11	499
フアー ジ445	F	H	-	-	-	D	G	-	-	T	-	P	-	I	0.08	0.39	0.08	500
フアー ジ446	F	D	-	-	-	-	W	E	W	I	Y	D	-	F	0.08	0.38	0.08	501
フアー ジ447	I	-	-	-	-	-	W	-	-	-	L	D	-	D	0.08	0.38	0.09	502
フアー ジ448	L	I	-	-	-	-	I	-	-	-	A	S	-	N	0.10	0.38	0.11	503
フアー ジ449	T	S	-	W	V	D	W	E	-	F	S	D	-	I	0.11	0.38	0.34	504
フアー ジ450	Y	-	-	-	-	-	V	E	-	D	Y	V	-	D	0.10	0.38	0.08	505
フアー ジ451	D	D	-	-	-	-	Q	E	F	I	Y	A	-	I	0.09	0.38	0.08	506
フアー ジ452	A	D	-	W	-	D	W	E	-	Y	A	D	-	Y	0.11	0.38	0.10	507
フアー ジ453	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	I	H	-	I	0.08	0.38	0.07	508
フアー ジ454	S	E	-	W	-	D	W	E	P	F	F	D	-	N	0.08	0.37	0.09	509
フアー ジ455	Y	H	-	-	-	-	M	-	-	-	L	I	-	T	0.07	0.37	0.07	510
フアー ジ456	S	D	-	W	-	D	W	E	D	A	Y	F	-	I	0.09	0.37	0.07	511
フアー ジ457	-	D	-	-	-	-	V	E	-	Y	Y	H	-	D	0.08	0.37	0.08	512

【0437】

10

20

30

40

50

【表 17-15】

ブアー ジ458	D	N	-	-	-	-	Y	-	-	-	I	A	-	N	0.10	0.37	0.10	513	
ブアー ジ459	L	-	-	-	-	V	-	E	F	Y	D	Y	-	Y	0.08	0.37	0.10	514	
ブアー ジ460	Y	T	-	-	-	-	M	-	-	-	-	T	-	I	0.09	0.37	0.08	515	
ブアー ジ461	N	F	-	W	-	D	W	E	V	N	S	F	-	D	0.09	0.37	0.08	516	
ブアー ジ462	N	A	-	W	-	D	W	E	Y	I	D	F	-	N	0.12	0.36	0.09	517	
ブアー ジ463	Y	N	-	-	-	-	M	-	-	-	I	F	-	S	0.09	0.36	0.07	518	
ブアー ジ464	L	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	T	-	Y	0.08	0.36	0.09	519	
ブアー ジ465	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	I	N	-	D	0.11	0.36	0.08	520	
ブアー ジ466	I	I	-	-	-	-	L	P	-	D	Y	V	-	T	0.08	0.36	0.08	521	
ブアー ジ467	D	I	-	-	-	-	-	-	-	-	I	D	-	S	0.08	0.36	0.08	522	
ブアー ジ468	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	L	-	F	0.10	0.36	0.09	523	
ブアー ジ469	-	F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D	-	Y	0.07	0.36	0.08	524	
ブアー ジ470	Y	D	-	W	-	D	W	E	-	A	L	P	-	A	0.08	0.36	0.08	525	
ブアー ジ471	D	D	-	W	-	D	W	E	D	Y	-	F	-	F	0.10	0.36	0.10	526	
ブアー ジ472	H	F	-	-	-	-	W	E	L	F	S	D	-	Y	0.11	0.36	0.11	527	
ブアー ジ473	I	T	-	W	-	D	W	E	V	N	F	P	-	Y	0.07	0.35	0.07	528	
ブアー ジ474	P	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	T	-	N	0.20	0.35	0.16	529	
ブアー ジ475	N	L	-	W	-	D	W	E	A	F	F	P	-	Y	0.08	0.35	0.07	530	
ブアー ジ476	F	-	-	-	-	-	-	E	Y	I	R	D	-	Y	0.08	0.35	0.07	531	
ブアー ジ477	F	F	-	-	-	-	-	-	-	-	I	I	-	D	0.09	0.35	0.10	532	
ブアー ジ478	-	L	-	-	-	-	K	G	G	P	T	Y	N	-	S	0.08	0.35	0.10	533
ブアー ジ479	L	A	-	W	-	V	W	E	-	P	G	H	-	D	0.11	0.35	0.10	534	
ブアー ジ480	D	-	-	-	-	-	V	E	D	V	N	D	-	Y	0.07	0.35	0.08	535	
ブアー ジ481	D	-	-	-	-	-	-	E	-	A	H	Y	-	N	0.08	0.35	0.07	536	
ブアー ジ482	-	L	-	-	-	-	L	-	-	T	L	T	-	I	0.08	0.35	0.07	537	
ブアー ジ483	Y	-	-	-	-	-	I	E	D	Y	N	L	-	N	0.10	0.34	0.09	538	
ブアー ジ484	Y	I	-	-	-	-	V	E	-	Y	Y	N	-	F	0.13	0.34	0.14	539	
ブアー ジ485	D	I	-	-	-	-	L	-	-	-	I	F	-	F	0.08	0.34	0.09	540	
ブアー ジ486	D	I	-	-	-	-	V	E	-	D	Y	L	-	Y	0.07	0.34	0.08	541	
ブアー ジ487	T	L	-	-	-	-	-	E	-	D	A	P	-	I	0.10	0.34	0.08	542	
ブアー ジ488	N	-	-	W	-	D	W	E	Y	I	N	S	-	V	0.14	0.34	0.09	543	
ブアー ジ489	N	D	-	-	-	-	V	E	-	Y	Y	Y	-	T	0.07	0.34	0.09	544	
ブアー ジ490	I	T	-	-	-	-	M	-	-	-	I	D	-	N	0.08	0.34	0.08	545	

【0438】

10

20

30

40

50

【表 17-16】

フアー ジ-491	Y	-	-	-	-	-	M	A	-	D	L	I	-	D	0.10	0.34	0.29	546
フアー ジ-492	I	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	V	-	T	0.11	0.33	0.09	547
フアー ジ-493	H	T	-	W	-	D	W	E	W	D	-	Y	-	D	0.08	0.33	0.07	548
フアー ジ-494	I	H	-	-	-	-	W	E	L	I	D	D	-	L	0.08	0.33	0.10	549
フアー ジ-495	Y	T	-	-	-	-	L	-	-	-	I	T	-	T	0.08	0.33	0.08	550
フアー ジ-496	F	H	-	-	-	-	V	E	-	T	-	Y	-	F	0.11	0.33	0.09	551
フアー ジ-497	D	-	-	-	-	-	L	-	-	-	L	I	-	N	0.07	0.33	0.08	552
フアー ジ-498	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D	Y	-	I	0.08	0.33	0.10	553
フアー ジ-499	D	L	-	-	-	-	I	E	-	D	L	V	-	T	0.09	0.33	0.09	554
フアー ジ-500	N	I	-	-	-	-	L	Q	-	D	I	V	-	P	0.09	0.33	0.09	555
フアー ジ-501	N	N	-	-	-	-	M	-	-	-	I	T	-	Y	0.08	0.33	0.08	556
フアー ジ-502	H	T	-	-	-	-	L	-	-	-	I	V	-	V	0.08	0.33	0.08	557
フアー ジ-503	Y	-	-	-	-	-	I	E	D	I	L	V	-	T	0.12	0.33	0.23	558
フアー ジ-504	N	T	-	-	-	-	-	E	F	V	H	L	-	P	0.07	0.33	0.11	559
フアー ジ-505	D	I	-	-	-	-	M	-	-	-	T	V	-	D	0.10	0.33	0.09	560
フアー ジ-506	A	I	-	-	-	-	V	E	I	V	N	Y	-	Y	0.09	0.32	0.07	561
フアー ジ-507	H	L	-	-	-	-	V	E	D	P	T	A	-	V	0.10	0.32	0.28	562
フアー ジ-508	A	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	S	-	T	0.10	0.32	0.09	563
フアー ジ-509	F	D	-	-	-	-	L	-	-	-	-	I	-	D	0.07	0.32	0.09	564
フアー ジ-510	D	V	-	-	-	-	-	-	-	-	I	D	-	N	0.10	0.32	0.08	565
フアー ジ-511	Y	L	-	-	-	-	V	E	-	I	S	I	-	F	0.08	0.32	0.07	566
フアー ジ-512	S	A	-	-	-	-	-	-	-	-	L	H	-	V	0.10	0.31	0.30	567
フアー ジ-513	H	L	-	W	-	D	W	E	-	D	S	A	-	N	0.08	0.31	0.08	568
フアー ジ-514	H	T	-	W	-	D	W	E	Y	D	Y	D	-	F	0.10	0.31	0.08	569
フアー ジ-515	Y	D	-	-	-	-	W	E	-	V	A	L	-	N	0.10	0.31	0.10	570
フアー ジ-516	T	L	-	-	-	-	I	E	-	Y	I	V	-	Y	0.09	0.31	0.23	571
フアー ジ-517	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	I	F	-	T	0.09	0.31	0.09	572
フアー ジ-518	D	I	-	-	-	-	-	-	-	-	L	H	-	Y	0.08	0.31	0.08	573
フアー ジ-519	L	F	-	-	-	-	-	E	-	A	Y	L	-	I	0.08	0.31	0.08	574
フアー ジ-520	I	F	-	-	-	-	I	E	-	D	F	V	-	T	0.10	0.31	0.10	575
フアー ジ-521	D	D	-	-	-	-	W	E	Y	Y	-	A	-	V	0.08	0.31	0.08	576
フアー ジ-522	D	D	-	-	-	-	L	-	-	T	T	I	-	Y	0.10	0.31	0.09	577
フアー ジ-523	A	S	-	-	-	-	L	-	-	-	I	A	-	D	0.10	0.31	0.09	578

【0439】

10

20

30

40

50

【表 17-17】

フアー ジ-524	Y	L	-	-	-	-	V	E	D	Y	D	Y	-	Y	0.08	0.31	0.09	579
フアー ジ-525	D	L	-	-	-	-	W	E	-	T	I	F	-	A	0.12	0.30	0.09	580
フアー ジ-526	D	F	-	-	-	D	G	E	-	F	Y	I	-	P	0.12	0.30	0.11	581
フアー ジ-527	-	-	-	-	-	-	V	E	-	N	I	L	-	H	0.15	0.30	0.17	582
フアー ジ-528	D	-	-	-	-	-	V	E	-	N	Y	F	-	F	0.12	0.30	0.21	583
フアー ジ-529	N	D	-	W	-	D	W	Y	-	F	L	S	-	D	0.10	0.30	0.10	584
フアー ジ-530	R	D	-	W	-	D	W	E	V	P	Y	F	-	D	0.08	0.30	0.09	585
フアー ジ-531	N	L	-	-	-	-	V	E	-	A	-	Y	-	Y	0.10	0.30	0.13	586
フアー ジ-532	F	D	-	W	-	D	G	E	L	N	Y	L	-	T	0.23	0.30	0.08	587
フアー ジ-533	Y	-	-	-	-	-	V	E	D	V	N	L	-	I	0.18	0.30	0.10	588
フアー ジ-534	D	N	-	-	-	-	Y	-	-	-	I	T	-	L	0.11	0.29	0.09	589
フアー ジ-535	L	N	-	W	-	D	W	E	-	D	Y	S	-	N	0.09	0.29	0.09	590
フアー ジ-536	P	T	-	-	-	-	V	E	-	L	L	S	-	N	0.12	0.29	0.26	591
フアー ジ-537	D	H	-	-	-	-	V	E	L	I	F	Y	-	H	0.11	0.29	0.08	592
フアー ジ-538	F	H	-	-	-	-	L	-	-	-	I	F	-	Y	0.08	0.29	0.08	593
フアー ジ-539	F	D	-	-	-	-	L	E	-	T	-	V	-	P	0.16	0.29	0.16	594
フアー ジ-540	D	F	-	-	-	-	L	-	-	-	L	P	-	A	0.08	0.29	0.08	595
フアー ジ-541	D	S	-	-	-	-	L	-	-	-	I	Y	-	D	0.09	0.29	0.09	596
フアー ジ-542	A	D	-	W	-	D	W	E	-	F	L	L	-	F	0.12	0.29	0.10	597
フアー ジ-543	I	L	-	-	-	-	V	E	-	L	D	F	-	N	0.10	0.28	0.08	598
フアー ジ-544	F	F	-	-	-	-	-	E	-	I	F	L	-	Y	0.09	0.28	0.07	599
フアー ジ-545	Y	N	-	-	-	D	G	-	-	-	Y	D	-	H	0.07	0.28	0.07	600
フアー ジ-546	D	N	-	-	-	-	L	-	-	T	I	T	-	F	0.11	0.28	0.11	601
フアー ジ-547	H	N	-	-	-	D	G	-	-	A	F	I	-	N	0.09	0.28	0.23	602
フアー ジ-548	D	-	-	-	-	-	V	E	-	D	L	V	-	P	0.10	0.28	0.23	603
フアー ジ-549	D	-	-	-	-	-	L	-	-	-	L	N	-	F	0.08	0.28	0.07	604
フアー ジ-550	D	-	-	-	-	-	-	Q	-	D	F	H	-	H	0.11	0.28	0.27	605
フアー ジ-551	Y	D	-	-	-	-	W	E	F	T	D	D	-	I	0.10	0.28	0.18	606
フアー ジ-552	D	I	-	-	-	-	Y	E	-	D	I	I	-	Y	0.14	0.28	0.19	607
フアー ジ-553	F	D	-	-	-	-	L	-	-	T	-	P	-	P	0.11	0.28	0.08	608
フアー ジ-554	N	-	-	-	-	-	L	-	-	T	S	V	-	D	0.09	0.28	0.26	609
フアー ジ-555	Y	-	-	-	-	-	W	E	F	-	F	D	-	D	0.17	0.28	0.11	610
フアー ジ-556	Y	A	-	-	-	-	L	-	-	-	-	T	-	D	0.09	0.28	0.08	611

【0440】

10

20

30

40

50

【表 17-18】

フアー ジ-557	F	L	-	-	-	-	V	E	Q	D	Y	F	-	V	0.08	0.28	0.10	612
フアー ジ-558	D	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R	-	D	0.09	0.27	0.26	613
フアー ジ-559	N	D	-	-	-	D	G	I	-	T	-	D	-	Y	0.10	0.27	0.24	614
フアー ジ-560	Y	F	-	-	-	-	V	E	D	Y	N	D	-	F	0.08	0.27	0.09	615
フアー ジ-561	N	L	-	-	-	-	-	-	-	-	I	F	-	Y	0.10	0.27	0.07	616
フアー ジ-562	I	D	-	W	-	D	W	E	-	Y	I	P	-	T	0.10	0.27	0.08	617
フアー ジ-563	I	-	-	-	-	D	G	-	-	-	F	I	-	A	0.07	0.27	0.08	618
フアー ジ-564	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	-	Y	0.08	0.27	0.07	619
フアー ジ-565	-	F	-	-	-	-	W	E	D	I	T	D	-	D	0.13	0.27	0.09	620
フアー ジ-566	L	D	-	-	-	-	V	-	-	T	F	T	-	H	0.08	0.26	0.08	621
フアー ジ-567	D	D	-	-	-	-	Y	-	-	-	F	A	-	H	0.13	0.26	0.10	622
フアー ジ-568	I	-	-	-	-	-	Y	Q	-	D	L	P	-	N	0.12	0.26	0.11	623
フアー ジ-569	L	D	-	-	-	-	V	E	-	Y	N	Y	-	V	0.09	0.26	0.08	624
フアー ジ-570	Y	V	-	-	-	-	-	-	-	-	S	A	-	N	0.14	0.26	0.08	625
フアー ジ-571	T	P	-	-	-	-	L	E	-	A	I	-	-	Y	0.10	0.26	0.10	626
フアー ジ-572	Y	F	-	-	-	-	-	-	-	-	A	D	-	N	0.08	0.26	0.08	627
フアー ジ-573	D	D	-	-	-	-	-	E	-	D	I	I	-	D	0.12	0.26	0.25	628
フアー ジ-574	L	-	-	-	-	V	V	E	-	L	N	H	-	N	0.08	0.26	0.09	629
フアー ジ-575	-	I	-	-	-	D	G	E	-	L	I	A	-	A	0.09	0.26	0.27	630
フアー ジ-576	F	A	-	W	-	D	W	Q	-	T	Y	V	-	N	0.09	0.25	0.08	631
フアー ジ-577	Y	I	-	-	-	-	V	E	F	L	F	F	-	N	0.08	0.25	0.08	632
フアー ジ-578	T	Q	-	-	-	K	G	E	P	T	Y	H	-	Y	0.12	0.25	0.12	633
フアー ジ-579	N	-	-	-	-	-	V	E	-	Y	H	N	-	D	0.10	0.25	0.17	634
フアー ジ-580	-	-	-	-	-	-	W	E	F	F	S	D	-	A	0.08	0.25	0.07	635
フアー ジ-581	F	-	-	-	-	-	L	E	-	-	F	F	-	Y	0.10	0.25	0.22	636
フアー ジ-582	D	-	-	-	-	-	I	E	-	N	F	Y	-	Y	0.13	0.25	0.09	637
フアー ジ-583	Y	A	-	-	-	-	V	E	-	Y	-	Y	-	A	0.08	0.25	0.09	638
フアー ジ-584	-	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	I	-	D	0.08	0.25	0.07	639
フアー ジ-585	N	D	-	-	-	-	M	-	-	-	I	A	-	Y	0.07	0.25	0.07	640
フアー ジ-586	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Y	L	A	-	A	0.09	0.25	0.21	641
フアー ジ-587	-	I	-	-	-	-	-	-	-	-	A	N	-	D	0.08	0.25	0.09	642
フアー ジ-588	L	T	-	W	-	D	W	E	-	D	F	F	-	N	0.07	0.24	0.07	643
フアー ジ-589	F	-	-	-	-	-	Q	E	-	I	N	Y	-	Y	0.10	0.24	0.23	644

【0441】

10

20

30

40

50

【表 17-19】

フアー ジ-590	T	-	-	-	-	-	L	E	-	F	F	L	-	Y	0.13	0.24	0.08	645
フアー ジ-591	P	D	-	-	-	-	L	-	-	-	-	A	-	H	0.12	0.24	0.09	646
フアー ジ-592	N	D	-	-	-	-	-	E	-	I	I	F	-	V	0.09	0.24	0.24	647
フアー ジ-593	Y	I	-	-	-	-	-	-	-	-	F	Y	-	N	0.25	0.24	0.08	648
フアー ジ-594	H	A	-	-	-	-	L	-	-	-	L	L	-	N	0.20	0.24	0.07	649
フアー ジ-595	Y	-	-	-	-	-	W	E	-	A	-	L	-	A	0.09	0.24	0.21	650
フアー ジ-596	A	F	-	-	-	-	V	E	-	Y	D	L	-	N	0.10	0.24	0.16	651
フアー ジ-597	Y	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	S	0.15	0.23	0.09	652
フアー ジ-598	Y	L	-	-	-	-	V	E	D	D	T	L	-	A	0.08	0.23	0.09	653
フアー ジ-599	A	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	N	-	D	0.08	0.23	0.08	654
フアー ジ-600	N	-	-	-	-	-	W	E	V	Y	S	L	-	P	0.13	0.23	0.08	655
フアー ジ-601	D	F	-	-	-	-	V	E	-	D	T	Y	-	H	0.07	0.23	0.07	656
フアー ジ-602	I	S	-	-	-	-	Y	E	W	D	Y	A	-	N	0.08	0.23	0.10	657
フアー ジ-603	-	N	-	-	-	-	L	-	-	-	I	I	-	Y	0.08	0.23	0.08	658
フアー ジ-604	Y	D	-	-	-	-	-	-	-	T	A	P	-	Y	0.07	0.23	0.08	659
フアー ジ-605	Y	L	-	-	-	-	-	E	-	N	F	L	-	T	0.09	0.23	0.22	660
フアー ジ-606	F	D	-	-	-	-	V	-	-	-	-	D	-	A	0.08	0.22	0.09	661
フアー ジ-607	Y	D	-	-	-	-	Q	E	-	I	S	F	-	N	0.09	0.22	0.09	662
フアー ジ-608	I	D	-	-	-	-	I	E	L	Y	D	D	-	F	0.09	0.22	0.09	663
フアー ジ-609	T	F	-	-	-	-	L	-	-	-	-	Y	-	Y	0.08	0.22	0.07	664
フアー ジ-610	F	F	-	-	-	-	I	-	-	-	N	A	-	V	0.09	0.22	0.07	665
フアー ジ-611	Y	H	-	W	-	D	W	E	P	I	Y	I	-	I	0.12	0.22	0.10	666
フアー ジ-612	A	I	-	-	-	-	Y	E	-	D	H	Y	-	Y	0.08	0.22	0.08	667
フアー ジ-613	P	L	-	-	-	D	G	F	-	N	Y	N	-	F	0.12	0.22	0.08	668
フアー ジ-614	F	P	-	W	-	D	W	E	W	D	N	N	-	H	0.09	0.22	0.09	669
フアー ジ-615	-	D	-	-	-	D	G	-	-	L	A	A	-	H	0.10	0.22	0.11	670
フアー ジ-616	-	D	-	W	-	D	W	E	-	Y	Y	S	-	D	0.08	0.22	0.07	671
フアー ジ-617	-	-	-	-	-	-	Y	-	-	-	Y	D	-	T	0.07	0.21	0.10	672
フアー ジ-618	N	L	-	-	-	-	W	E	N	F	A	D	-	F	0.08	0.21	0.08	673
フアー ジ-619	Y	L	-	-	-	-	L	E	V	F	F	V	-	D	0.12	0.21	0.10	674
フアー ジ-620	I	F	-	-	-	-	L	E	D	Y	S	I	-	F	0.09	0.21	0.08	675
フアー ジ-621	D	-	-	-	-	-	L	E	Q	Y	D	L	-	F	0.09	0.21	0.08	676
フアー ジ-622	L	L	-	-	-	V	N	E	D	P	L	D	-	Y	0.11	0.21	0.13	677

【0442】

10

20

30

40

50

【表 17-20】

ファー ジ-623	I	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	Y	0.08	0.21	0.08	678
ファー ジ-624	I	I	-	-	-	-	V	E	-	I	D	I	-	S	0.08	0.21	0.08	679
ファー ジ-625	I	A	-	W	-	D	W	E	D	Y	S	S	-	P	0.08	0.21	0.11	680
ファー ジ-626	Y	-	-	-	-	-	V	E	D	I	N	D	-	I	0.09	0.21	0.07	681
ファー ジ-627	N	I	-	-	-	-	M	-	-	-	I	D	-	I	0.08	0.21	0.07	682
ファー ジ-628	F	D	-	W	-	D	W	E	-	L	-	S	-	Y	0.07	0.21	0.08	683
ファー ジ-629	Y	F	-	-	-	-	W	E	D	H	F	F	-	D	0.09	0.21	0.19	684
ファー ジ-630	T	-	-	-	-	-	-	E	-	D	S	Y	-	D	0.12	0.20	0.09	685
ファー ジ-631	N	L	-	-	-	-	V	E	L	I	D	I	-	S	0.11	0.20	0.09	686
ファー ジ-632	D	N	-	-	-	-	W	E	-	V	Y	L	-	N	0.08	0.20	0.08	687
ファー ジ-633	F	L	-	-	-	-	-	-	-	-	D	L	-	F	0.08	0.20	0.09	688
ファー ジ-634	H	I	-	-	-	-	Q	-	-	-	I	-	-	T	0.09	0.20	0.19	689
ファー ジ-635	F	D	-	W	-	D	W	E	D	N	S	Y	-	D	0.10	0.20	0.09	690
ファー ジ-636	T	A	-	-	-	-	W	E	F	D	F	N	-	D	0.08	0.20	0.07	691
ファー ジ-637	H	H	-	W	-	D	W	E	D	Y	S	T	-	P	0.10	0.20	0.11	692
ファー ジ-638	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	N	-	F	0.07	0.20	0.08	693
ファー ジ-639	L	H	-	W	-	D	W	E	-	I	D	I	-	D	0.08	0.20	0.09	694
ファー ジ-640	D	I	-	-	-	D	G	Q	-	D	F	V	-	S	0.08	0.20	0.09	695
ファー ジ-641	D	V	-	W	-	D	W	E	V	N	Y	F	-	D	0.09	0.20	0.07	696
ファー ジ-642	-	N	-	-	-	-	M	-	-	-	I	D	-	A	0.12	0.20	0.10	697
ファー ジ-643	D	N	-	-	-	-	-	-	-	A	T	V	-	N	0.11	0.19	0.19	698
ファー ジ-644	D	L	-	-	-	-	-	E	-	V	H	N	-	N	0.08	0.19	0.08	699
ファー ジ-645	-	N	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Y	-	F	0.13	0.19	0.09	700
ファー ジ-646	N	I	-	W	-	D	W	E	-	D	N	F	-	S	0.08	0.19	0.08	701
ファー ジ-647	F	V	-	-	-	-	W	E	V	Y	D	D	-	D	0.08	0.19	0.08	702
ファー ジ-648	A	-	-	-	-	-	L	E	V	V	H	L	-	V	0.10	0.19	0.17	703
ファー ジ-649	P	F	-	-	-	-	M	-	-	T	I	D	-	Y	0.07	0.19	0.09	704
ファー ジ-650	L	L	-	-	-	V	M	E	D	V	F	A	-	Y	0.08	0.19	0.08	705
ファー ジ-651	D	L	-	-	-	-	-	-	-	-	T	N	-	Y	0.07	0.19	0.08	706
ファー ジ-652	H	D	-	-	-	-	M	E	-	Y	Y	L	-	P	0.10	0.18	0.10	707
ファー ジ-653	T	D	-	-	-	-	Y	-	-	-	I	I	-	P	0.08	0.18	0.09	708
ファー ジ-654	-	L	-	W	-	D	W	E	D	Y	A	D	-	N	0.09	0.18	0.08	709
ファー ジ-655	N	D	-	-	-	-	L	-	-	-	L	T	-	D	0.07	0.18	0.09	710

【0443】

10

20

30

40

50

【表 17-21】

フアー ジ-656	I	-	-	-	-	-	L	-	-	-	I	A	-	Y	0.11	0.18	0.08	711
フアー ジ-657	N	-	-	-	-	-	V	E	-	F	N	F	-	H	0.11	0.18	0.14	712
フアー ジ-658	D	V	-	-	-	-	I	E	-	Y	S	F	-	I	0.08	0.18	0.09	713
フアー ジ-659	D	L	-	-	-	-	V	E	-	I	T	D	-	A	0.10	0.18	0.12	714
フアー ジ-660	H	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	I	0.12	0.18	0.12	715
フアー ジ-661	P	L	-	-	-	V	L	E	-	D	I	Y	-	Y	0.10	0.18	0.13	716
フアー ジ-662	D	L	-	-	-	-	-	E	D	I	I	D	-	N	0.10	0.18	0.11	717
フアー ジ-663	D	-	-	-	-	-	V	E	V	P	S	N	-	N	0.10	0.18	0.18	718
フアー ジ-664	I	I	-	-	-	-	L	-	-	-	T	A	-	D	0.10	0.18	0.09	719
フアー ジ-665	D	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	N	-	D	0.10	0.18	0.14	720
フアー ジ-666	F	D	-	-	-	-	-	-	-	-	L	Y	-	S	0.07	0.18	0.07	721
フアー ジ-667	F	A	-	W	-	D	W	E	-	V	Y	I	-	Y	0.08	0.18	0.08	722
フアー ジ-668	L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	L	D	-	S	0.08	0.18	0.09	723
フアー ジ-669	D	L	-	-	-	-	L	E	-	A	F	L	-	A	0.09	0.18	0.08	724
フアー ジ-670	F	A	-	-	-	-	L	-	-	T	L	T	-	L	0.10	0.18	0.08	725
フアー ジ-671	F	D	-	-	-	-	V	E	-	I	S	N	-	D	0.17	0.18	0.10	726
フアー ジ-672	-	H	-	-	-	-	L	E	Y	P	F	D	-	N	0.09	0.17	0.16	727
フアー ジ-673	A	-	-	-	-	-	-	E	-	H	T	T	-	N	0.10	0.17	0.15	728
フアー ジ-674	L	-	-	-	-	V	S	E	Q	F	T	F	-	I	0.08	0.17	0.08	729
フアー ジ-675	D	-	-	-	-	-	L	-	-	-	Y	D	-	N	0.10	0.17	0.09	730
フアー ジ-676	F	-	-	-	-	-	W	E	-	F	D	V	-	I	0.13	0.17	0.15	731
フアー ジ-677	F	T	-	-	-	-	V	E	-	Y	D	H	-	I	0.08	0.17	0.09	732
フアー ジ-678	Y	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	F	0.12	0.17	0.11	733
フアー ジ-679	A	V	-	-	-	-	N	-	-	-	N	S	-	A	0.08	0.17	0.08	734
フアー ジ-680	I	-	-	W	-	D	W	E	V	P	N	D	-	A	0.10	0.17	0.09	735
フアー ジ-681	Y	F	-	-	-	-	-	E	-	F	F	H	-	Y	0.12	0.17	0.12	736
フアー ジ-682	Y	V	-	-	-	D	G	-	-	-	S	F	-	D	0.12	0.17	0.12	737
フアー ジ-683	I	S	-	-	-	-	V	E	-	F	F	Y	-	Y	0.10	0.17	0.08	738
フアー ジ-684	L	I	-	-	-	V	-	E	-	D	-	Y	-	D	0.17	0.17	0.15	739
フアー ジ-685	-	-	-	-	-	-	V	E	D	H	N	Y	-	A	0.14	0.17	0.16	740
フアー ジ-686	L	D	-	-	-	-	-	E	F	V	Y	I	-	A	0.08	0.17	0.10	741
フアー ジ-687	Y	D	-	-	-	-	-	E	-	D	L	P	-	I	0.17	0.17	0.11	742
フアー ジ-688	D	V	-	-	-	-	V	E	-	D	Y	Y	-	D	0.10	0.17	0.14	743

【0444】

10

20

30

40

50

【表 17-22】

フアー ジ-689	N	D	-	W	-	D	W	E	Y	D	N	V	-	V	0.08	0.17	0.10	744
フアー ジ-690	D	L	-	-	-	-	-	E	V	A	N	D	-	N	0.10	0.16	0.16	745
フアー ジ-691	H	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	S	-	N	0.09	0.16	0.07	746
フアー ジ-692	L	D	-	W	-	D	W	E	-	T	T	H	-	D	0.08	0.16	0.08	747
フアー ジ-693	I	I	-	-	-	-	V	E	-	D	D	Y	-	L	0.09	0.16	0.09	748
フアー ジ-694	Y	-	-	W	-	D	W	E	-	V	I	I	-	D	0.09	0.16	0.09	749
フアー ジ-695	F	D	-	-	-	-	I	-	-	Y	T	N	-	N	0.12	0.16	0.09	750
フアー ジ-696	I	T	-	-	-	-	L	-	-	T	I	N	-	D	0.08	0.16	0.11	751
フアー ジ-697	D	S	-	-	-	-	V	E	-	D	I	Y	-	I	0.07	0.16	0.08	752
フアー ジ-698	Y	L	-	-	-	-	-	-	-	-	G	N	-	H	0.07	0.16	0.08	753
フアー ジ-699	D	N	-	-	-	-	L	P	-	D	Y	F	-	D	0.08	0.16	0.10	754
フアー ジ-700	-	L	-	-	-	-	-	E	-	V	S	N	-	N	0.11	0.16	0.08	755
フアー ジ-701	-	D	-	W	-	D	W	E	-	D	I	V	-	D	0.10	0.16	0.09	756
フアー ジ-702	-	-	-	W	-	D	W	E	D	N	F	P	-	Y	0.07	0.16	0.07	757
フアー ジ-703	D	-	-	-	-	-	V	E	-	H	F	N	-	H	0.08	0.16	0.08	758
フアー ジ-704	A	D	-	-	-	-	I	E	-	D	A	Y	-	Y	0.12	0.16	0.09	759
フアー ジ-705	I	L	-	W	-	D	W	E	D	A	T	F	-	Y	0.09	0.16	0.07	760
フアー ジ-706	I	H	-	W	-	D	W	E	D	F	N	I	-	P	0.09	0.16	0.08	761
フアー ジ-707	T	I	-	-	-	-	V	E	D	Y	N	D	-	I	0.07	0.16	0.07	762
フアー ジ-708	D	D	-	-	-	-	L	-	-	-	-	A	-	I	0.08	0.16	0.08	763
フアー ジ-709	D	D	-	W	-	D	W	E	D	H	I	F	-	F	0.13	0.16	0.08	764
フアー ジ-710	-	N	-	-	-	-	V	E	-	I	I	F	-	D	0.12	0.15	0.12	765
フアー ジ-711	I	F	-	W	-	D	W	E	D	D	T	V	-	I	0.08	0.15	0.09	766
フアー ジ-712	I	I	-	-	-	-	-	E	-	I	S	D	-	L	0.12	0.15	0.15	767
フアー ジ-713	F	D	-	-	-	-	V	E	-	Y	N	D	-	D	0.11	0.15	0.09	768
フアー ジ-714	N	D	-	-	-	-	L	-	-	T	L	Y	-	I	0.08	0.15	0.10	769
フアー ジ-715	A	I	-	-	-	-	L	E	-	D	I	S	-	N	0.12	0.15	0.17	770
フアー ジ-716	H	L	-	-	-	-	-	-	-	-	T	N	-	Y	0.07	0.15	0.07	771
フアー ジ-717	S	-	-	-	-	-	L	-	-	-	-	A	-	I	0.10	0.15	0.11	772
フアー ジ-718	L	-	-	-	-	-	-	E	Q	L	A	D	-	T	0.08	0.15	0.08	773
フアー ジ-719	I	D	-	-	-	-	L	-	-	-	I	A	-	N	0.07	0.15	0.08	774
フアー ジ-720	F	D	-	-	-	D	G	Q	-	D	L	V	-	N	0.10	0.15	0.08	775
フアー ジ-721	N	L	-	-	-	-	-	E	-	F	F	D	-	Y	0.09	0.15	0.15	776

【0445】

10

20

30

40

50

【表 17-23】

フアー ジ-722	S	I	-	-	-	-	L	Q	-	D	I	V	-	P	0.09	0.14	0.14	777
フアー ジ-723	N	P	-	-	-	-	Y	-	-	-	A	H	-	D	0.08	0.14	0.08	778
フアー ジ-724	Y	D	-	-	-	-	L	-	-	Y	Y	N	-	N	0.12	0.14	0.11	779
フアー ジ-725	-	D	-	-	-	-	L	-	-	T	I	F	-	D	0.07	0.14	0.08	780
フアー ジ-726	D	N	-	-	-	-	L	-	-	-	-	T	-	T	0.09	0.14	0.10	781
フアー ジ-727	-	D	-	-	-	-	L	-	-	-	S	Y	-	D	0.10	0.14	0.13	782
フアー ジ-728	Y	-	-	-	-	-	-	E	F	I	D	F	-	F	0.07	0.14	0.07	783
フアー ジ-729	Y	D	-	W	-	D	W	E	V	I	T	Y	-	N	0.08	0.14	0.09	784
フアー ジ-730	F	D	-	-	-	-	I	E	-	D	F	F	-	V	0.06	0.14	0.07	785
フアー ジ-731	I	F	-	W	-	D	W	-	D	I	N	F	-	D	0.10	0.14	0.14	786
フアー ジ-732	N	F	-	-	-	-	L	P	-	D	I	T	-	Y	0.37	0.14	0.09	787
フアー ジ-733	S	L	-	-	-	-	-	E	-	Y	Y	H	-	L	0.09	0.14	0.07	788
フアー ジ-734	A	S	-	-	-	-	L	-	-	-	L	D	-	L	0.12	0.14	0.13	789
フアー ジ-735	S	F	-	-	-	-	R	E	W	D	L	A	-	Y	0.09	0.14	0.08	790
フアー ジ-736	H	L	-	-	-	-	-	E	D	V	L	D	-	I	0.08	0.14	0.12	791
フアー ジ-737	L	D	-	-	-	D	G	-	-	F	Y	Y	-	L	0.20	0.14	0.09	792
フアー ジ-738	D	N	-	W	-	D	W	E	-	D	I	A	-	T	0.16	0.14	0.11	793
フアー ジ-739	S	D	-	-	-	-	L	-	-	T	I	H	-	I	0.09	0.14	0.08	794
フアー ジ-740	N	S	-	-	-	D	G	-	-	-	-	D	-	L	0.08	0.14	0.08	795
フアー ジ-741	D	L	-	-	-	-	L	-	-	-	T	L	-	I	0.07	0.14	0.08	796
フアー ジ-742	F	D	-	-	-	-	S	-	-	-	F	N	-	Y	0.09	0.14	0.11	797
フアー ジ-743	D	L	-	-	-	-	-	E	-	D	D	I	-	Y	0.12	0.14	0.13	798
フアー ジ-744	H	A	-	-	-	-	-	E	-	D	T	Y	-	F	0.10	0.14	0.14	799
フアー ジ-745	S	D	-	-	-	-	L	-	-	-	-	A	-	I	0.11	0.14	0.08	800
フアー ジ-746	I	V	-	-	-	-	L	P	-	D	Y	N	-	Y	0.09	0.13	0.11	801
フアー ジ-747	D	L	-	-	-	-	-	-	-	-	F	I	-	F	0.09	0.13	0.08	802
フアー ジ-748	Y	D	-	-	-	-	-	-	-	T	L	T	-	N	0.13	0.13	0.08	803
フアー ジ-749	Y	D	-	-	-	-	V	E	-	I	-	N	-	D	0.11	0.13	0.12	804
フアー ジ-750	-	F	-	-	-	-	I	E	D	D	H	V	-	I	0.07	0.13	0.07	805
フアー ジ-751	F	I	-	-	-	-	W	E	D	D	Y	A	-	S	0.12	0.13	0.12	806
フアー ジ-752	N	F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	N	0.10	0.13	0.09	807
フアー ジ-753	N	L	-	-	-	-	V	E	-	I	L	I	-	D	0.07	0.13	0.07	808
フアー ジ-754	D	S	-	-	-	-	V	E	-	Y	D	L	-	N	0.11	0.13	0.08	809

【0446】

10

20

30

40

50

【表 17-24】

ブアー ジ-755	T	L	-	-	-	-	-	E	-	I	T	D	-	N	0.09	0.13	0.08	810
ブアー ジ-756	T	V	-	-	-	K	M	E	M	N	S	T	-	D	0.09	0.13	0.09	811
ブアー ジ-757	-	H	-	W	-	D	W	E	D	A	-	S	-	N	0.10	0.12	0.11	812
ブアー ジ-758	D	L	-	-	-	D	G	N	-	L	D	F	-	F	0.08	0.12	0.08	813
ブアー ジ-759	D	L	-	-	-	D	G	E	-	H	Y	Y	-	D	0.09	0.12	0.07	814
ブアー ジ-760	F	N	-	-	-	-	V	E	-	I	L	L	-	T	0.11	0.12	0.12	815
ブアー ジ-761	H	-	-	-	-	-	V	E	N	I	N	D	-	I	0.09	0.12	0.07	816
ブアー ジ-762	I	D	-	-	-	-	L	-	-	-	-	I	-	D	0.09	0.12	0.08	817
ブアー ジ-763	I	F	-	-	-	-	I	E	Q	P	A	L	-	Y	0.08	0.12	0.09	818
ブアー ジ-764	Y	D	-	-	-	-	-	Q	-	D	L	V	-	P	0.10	0.12	0.08	819
ブアー ジ-765	H	A	-	W	-	D	W	E	-	P	N	Y	-	D	0.13	0.12	0.09	820
ブアー ジ-766	N	V	-	W	-	D	W	E	-	D	Y	N	-	Y	0.11	0.12	0.10	821
ブアー ジ-767	S	F	-	-	Q	-	L	G	D	N	Y	D	-	I	0.09	0.12	0.12	822
ブアー ジ-768	D	D	-	-	-	-	L	-	-	T	T	V	-	Y	0.08	0.12	0.09	823
ブアー ジ-769	N	F	-	-	-	-	W	E	V	A	T	L	-	L	0.09	0.12	0.14	824
ブアー ジ-770	D	L	-	-	-	-	V	E	-	D	T	Y	-	N	0.09	0.11	0.07	825
ブアー ジ-771	A	L	-	-	-	-	V	E	Q	V	D	L	-	T	0.08	0.11	0.08	826
ブアー ジ-772	D	D	-	-	-	-	L	-	-	-	-	N	-	N	0.08	0.11	0.08	827
ブアー ジ-773	I	F	-	-	-	-	-	E	Q	I	I	Y	-	D	0.09	0.11	0.11	828
ブアー ジ-774	S	D	-	W	-	D	W	E	-	V	Y	Y	-	S	0.09	0.11	0.10	829
ブアー ジ-775	F	F	-	-	-	D	G	-	-	V	A	I	-	D	0.09	0.11	0.07	830
ブアー ジ-776	D	D	-	W	-	D	W	E	D	D	-	Y	-	Y	0.11	0.11	0.07	831
ブアー ジ-777	Y	D	-	-	-	-	-	-	-	T	-	V	-	P	0.08	0.11	0.08	832
ブアー ジ-778	S	-	-	-	-	-	L	-	-	-	-	N	-	V	0.10	0.11	0.08	833
ブアー ジ-779	A	F	-	V	S	F	Q	Q	S	L	P	H	-	D	0.09	0.11	0.10	834
ブアー ジ-780	-	N	-	-	-	-	V	E	-	Y	F	V	-	F	0.09	0.11	0.09	835
ブアー ジ-781	T	N	-	W	-	D	W	E	-	D	F	A	-	V	0.07	0.11	0.08	836
ブアー ジ-782	D	D	-	-	-	-	-	E	-	I	I	L	-	F	0.08	0.10	0.08	837
ブアー ジ-783	N	S	-	-	-	-	L	E	D	Y	H	L	-	P	0.08	0.10	0.10	838
ブアー ジ-784	I	H	-	-	-	D	S	-	G	F	D	F	-	D	0.09	0.10	0.08	839
ブアー ジ-785	F	D	-	-	-	-	L	E	-	D	H	L	-	F	0.08	0.10	0.08	840
ブアー ジ-786	T	V	-	W	-	D	-	E	-	Y	A	D	-	D	0.10	0.10	0.08	841
ブアー ジ-787	Y	F	-	W	-	D	W	E	-	A	A	D	-	L	0.09	0.10	0.09	842

【0447】

10

20

30

40

50

【表 17-25】

フター ジ-788	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D	-	I	0.08	0.10	0.07	843
フター ジ-789	A	V	-	-	-	-	L	P	-	D	I	V	-	Y	0.08	0.10	0.08	844
フター ジ-790	-	L	-	-	-	-	V	E	-	Y	H	L	-	A	0.08	0.10	0.30	845
フター ジ-791	S	L	-	W	-	D	W	E	-	V	D	N	-	F	0.12	0.10	0.11	846
フター ジ-792	T	I	-	-	-	D	G	Q	-	D	Y	N	-	H	0.07	0.10	0.07	847
フター ジ-793	F	L	-	-	-	-	G	E	P	T	Y	L	-	T	0.12	0.10	0.09	848
フター ジ-794	D	D	-	W	L	-	Q	H	D	I	Y	V	-	A	0.10	0.10	0.08	849
フター ジ-795	I	F	-	-	-	-	V	E	-	V	A	F	-	F	0.07	0.10	0.08	850
フター ジ-796	A	L	-	-	-	-	V	E	D	D	Y	D	-	L	0.09	0.10	0.09	851
フター ジ-797	D	D	-	-	-	-	I	E	L	Y	L	T	-	A	0.08	0.10	0.08	852
フター ジ-798	T	D	-	W	-	D	W	E	D	D	S	I	-	D	0.07	0.10	0.07	853
フター ジ-799	S	I	-	-	-	-	L	E	-	I	F	L	-	N	0.08	0.10	0.08	854
フター ジ-800	N	D	-	-	-	-	L	E	-	D	I	L	-	F	0.07	0.10	0.09	855
フター ジ-801	D	D	-	-	-	-	L	-	-	T	Y	S	-	Y	0.09	0.09	0.08	856
フター ジ-802	F	V	-	-	-	-	W	E	-	I	D	L	-	I	0.10	0.09	0.09	857
フター ジ-803	Y	D	-	-	-	-	L	-	-	-	L	S	-	P	0.07	0.09	0.07	858
フター ジ-804	N	L	-	-	-	-	L	-	-	-	I	I	-	P	0.08	0.09	0.08	859
フター ジ-805	I	D	-	W	-	D	W	E	-	F	N	N	-	F	0.08	0.09	0.09	860
フター ジ-806	A	-	-	-	-	-	L	E	-	H	D	Y	-	Y	0.08	0.09	0.09	861
フター ジ-807	D	D	-	S	-	Q	-	-	Q	I	D	L	-	D	0.14	0.09	0.09	862
フター ジ-808	S	-	-	-	-	-	S	-	-	-	I	Y	-	Y	0.08	0.09	0.07	863
フター ジ-809	S	L	-	-	-	-	-	Q	-	D	A	P	-	N	0.07	0.09	0.07	864
フター ジ-810	D	A	-	-	-	-	L	-	-	T	T	H	-	D	0.09	0.09	0.08	865
フター ジ-811	N	D	-	-	-	-	V	E	-	V	A	D	-	F	0.07	0.09	0.08	866
フター ジ-812	Y	I	-	-	-	-	-	E	Q	D	Y	F	-	F	0.08	0.09	0.08	867
フター ジ-813	T	D	-	-	-	D	G	-	-	T	N	Y	-	F	0.11	0.09	0.08	868
フター ジ-814	Y	D	-	-	-	-	V	-	-	-	-	L	-	P	0.08	0.09	0.08	869
フター ジ-815	I	D	-	-	-	-	-	-	-	-	A	Y	-	T	0.08	0.09	0.08	870
フター ジ-816	F	D	-	-	-	-	-	E	-	F	F	H	-	Y	0.09	0.09	0.09	871
フター ジ-817	F	P	-	-	-	-	I	E	-	Y	D	Y	-	V	0.09	0.09	0.08	872
フター ジ-818	A	D	-	-	-	I	-	E	S	I	D	I	-	V	0.09	0.09	0.07	873
フター ジ-819	I	S	-	-	-	D	L	W	P	T	D	I	-	T	0.10	0.09	0.10	874
フター ジ-820	D	D	-	-	-	D	G	-	-	V	H	T	-	N	0.09	0.09	0.07	875

【0448】

10

20

30

40

50

【表 17 - 26】

フアー ジ-821	I	D	-	W	-	D	W	E	G	-	F	A	-	N	0.09	0.09	0.08	876
フアー ジ-822	L	N	-	-	-	D	G	-	-	T	F	Y	-	D	0.08	0.08	0.07	877
フアー ジ-823	I	H	-	-	-	-	L	G	A	Y	I	S	-	S	0.08	0.08	0.09	878
フアー ジ-824	T	I	-	W	-	D	W	E	-	D	Y	F	-	Y	0.08	0.08	0.08	879
フアー ジ-825	H	S	-	L	A	Q	-	-	Q	D	L	V	-	I	0.07	0.08	0.07	880
フアー ジ-826	N	N	-	A	S	D	L	S	-	D	N	S	-	I	0.07	0.08	0.08	881
フアー ジ-827	-	N	-	W	-	D	W	E	-	D	-	A	-	N	0.09	0.08	0.07	882
フアー ジ-828	-	-	-	-	-	-	L	-	-	-	F	Y	-	F	0.08	0.08	0.07	883
フアー ジ-829	L	F	-	-	T	V	L	-	-	F	F	D	-	D	0.07	0.08	0.07	884
フアー ジ-830	F	D	-	-	-	-	L	-	-	-	-	S	-	A	0.08	0.08	0.07	885
フアー ジ-831	Y	-	-	-	-	-	V	E	-	N	-	Y	-	I	0.07	0.08	0.08	886
フアー ジ-832	D	-	-	-	-	-	L	-	D	-	T	I	-	H	0.12	0.08	0.10	887
フアー ジ-833	-	F	-	-	-	Q	W	A	-	A	N	A	-	F	0.09	0.08	0.07	888
フアー ジ-834	F	T	-	-	-	-	Y	-	-	-	I	T	-	P	0.09	0.08	0.09	889
フアー ジ-835	L	N	-	-	-	V	N	-	-	-	S	V	-	I	0.07	0.08	0.08	890
フアー ジ-836	A	I	-	W	-	D	W	E	-	F	S	D	-	H	0.07	0.08	0.07	891
フアー ジ-837	Y	-	-	-	V	D	L	G	A	N	-	Y	-	Y	0.10	0.08	0.09	892
フアー ジ-838	H	-	-	-	-	-	V	E	-	D	Y	H	-	D	0.07	0.08	0.07	893
フアー ジ-839	N	D	-	-	S	L	Q	Y	D	I	P	T	-	V	0.08	0.08	0.07	894
フアー ジ-840	Y	V	-	R	-	Q	L	-	V	Y	H	Y	-	N	0.15	0.08	0.07	895
フアー ジ-841	H	D	-	-	-	D	G	-	-	-	I	I	-	S	0.08	0.08	0.07	896
フアー ジ-842	F	D	-	-	-	-	L	-	-	T	I	I	-	P	0.08	0.08	0.08	897
フアー ジ-843	-	D	-	-	S	D	R	G	-	N	A	A	-	H	0.07	0.08	0.07	898
フアー ジ-844	N	I	-	L	A	Q	-	N	-	D	P	T	-	N	0.07	0.08	0.08	899
フアー ジ-845	T	N	-	-	S	K	S	Q	V	-	D	H	-	I	0.10	0.08	0.09	900
フアー ジ-846	N	H	-	H	-	Q	-	W	-	L	T	N	-	N	0.09	0.07	0.07	901
フアー ジ-847	L	L	-	H	-	Q	G	-	L	Y	H	L	-	H	0.09	0.07	0.08	902
フアー ジ-848	T	N	-	D	S	K	L	E	G	D	D	N	-	F	0.09	0.07	0.07	903
フアー ジ-849	N	D	-	-	-	-	M	-	-	-	L	L	-	D	0.08	0.07	0.07	904
フアー ジ-850	F	H	-	-	-	-	V	-	-	-	I	N	-	N	0.07	0.07	0.07	905
フアー ジ-851	D	F	-	-	-	D	G	-	-	T	Y	V	-	S	0.07	0.07	0.08	906
フアー ジ-852	-	S	-	-	-	Q	-	-	-	N	N	T	-	N	0.07	0.07	0.08	907
フアー ジ-853	-	-	-	H	L	-	S	E	Q	F	D	I	-	I	0.08	0.07	0.08	908

【0449】

10

20

30

40

50

【表 18】

表 18. ペプチド配列の概要

ペプチド-ID	抗-CD3 パニ ング標的	配列	配列番号
ペプチド-29	SP34.185	DDCWPDWEEFDFACA	44
ペプチド-30	SP34.185	YICGLDFPDFLYCD	45
ペプチド-31	SP34.185	FDCWPDWEEYFVCD	46
ペプチド-32	SP34.185	YICWPDWEEYFDCD	47
ペプチド-33	SP34.185	NICWPDWEDDYFCF	48
ペプチド-34	SP34.185	NFCWPDW EYIYPCI	49
ペプチド-35	SP34.185	VDCWPDWEEDFLCI	50
ペプチド-36	SP34.185	HACWPDWEEYFPCN	51
ペプチド-37	SP34.185	YDCGPDVDESYVCV	52
ペプチド-38	SP34.185	IDCWPDWEDDTFCY	53
ペプチド-39	SP34.185	YLCGPDGDETLACY	54
ペプチド-40	SP34.185	VDCGPDGDESILCY	55

【0450】

【表 19】

表 19. 図 5A の概要

ELISA	ペプチド -29	ペプチド -30	ペプチド -31	ペプチド -32	ペプチド -33	ペプチド -34	ペプチド-2
EC50 nM	2.163	1.564	2.035	1.713	2.174	2.752	1.972

【0451】

【表 20】

表 20. 図 5B の概要

ELISA	ペプチド -35	ペプチド -36	ペプチド -37	ペプチド -38	ペプチド -39	ペプチド -40	ペプチド-2
EC50 nM	2.804	2.695	344.3	1.652	1.286	1.895	1.623

【0452】

【表 21】

表 21. 図 6A の概要

ELISA	ペプチド -29	ペプチド -30	ペプチド -31	ペプチド -32	ペプチド -33	ペプチド -34	ペプチド-2
IC50 uM	7.9	3.2	8.5	6.5	17.2	11.7	0.28

【0453】

10

20

30

40

50

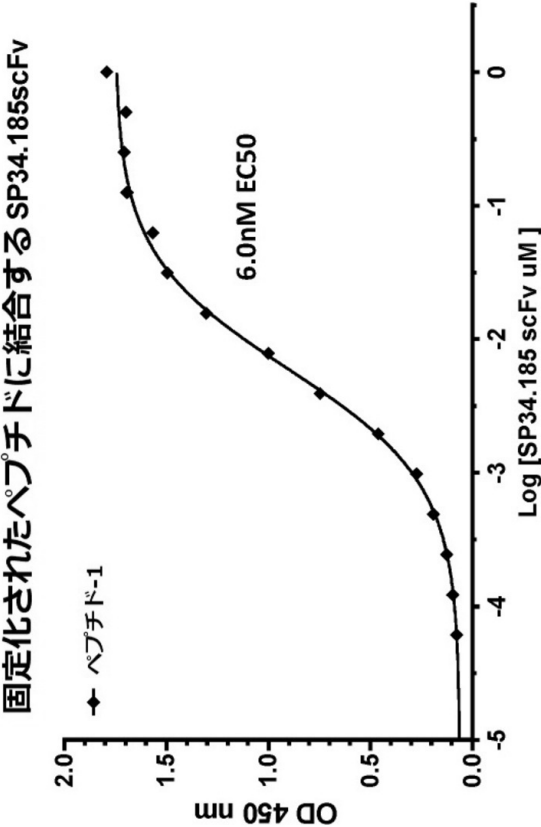
【表 2 2】

表 22. 図 6A の概要

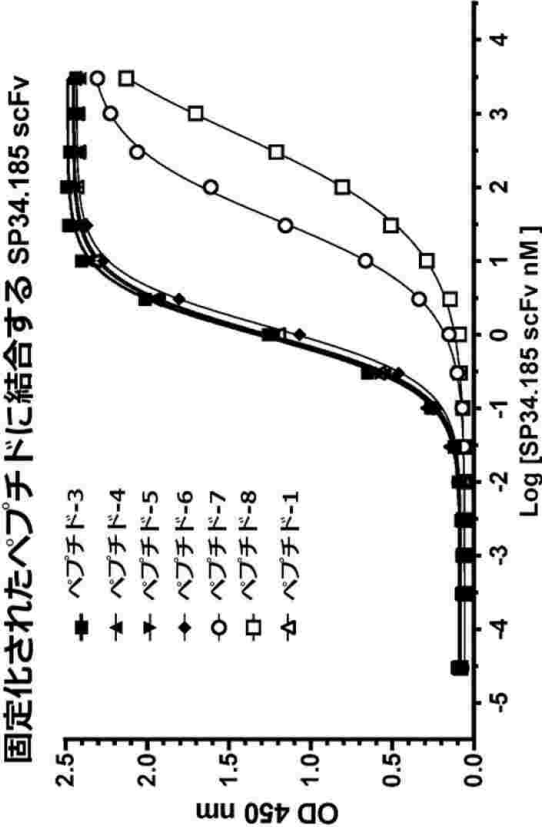
ELISA	ペプチド -35	ペプチド -36	ペプチド -37	ペプチド -38	ペプチド -39	ペプチド -40	ペプチド-2
IC50 uM	17.3	15.2	>100	2.9	0.01	0.35	0.15

【図 面】

【図 1 A】



【図 1 B】



10

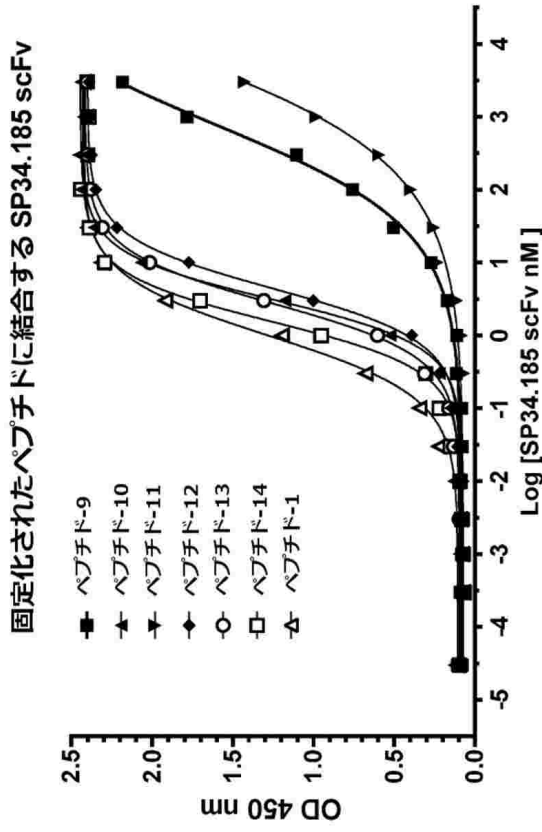
20

30

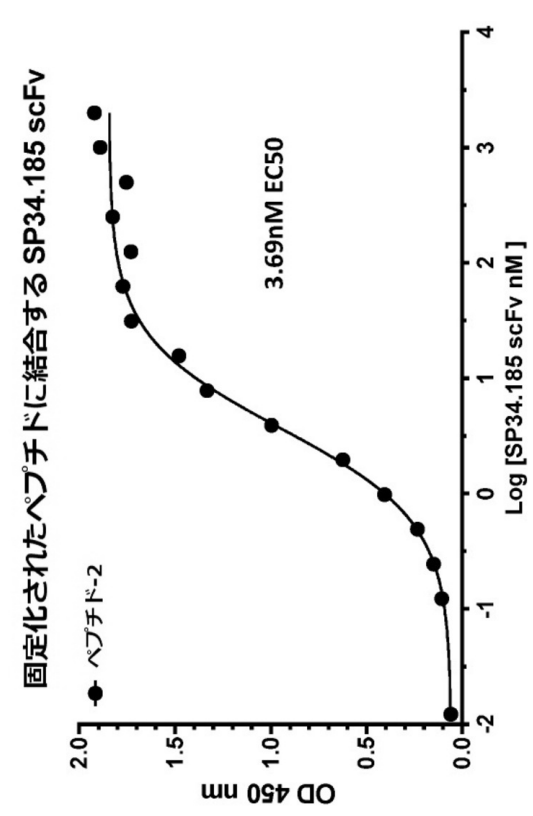
40

50

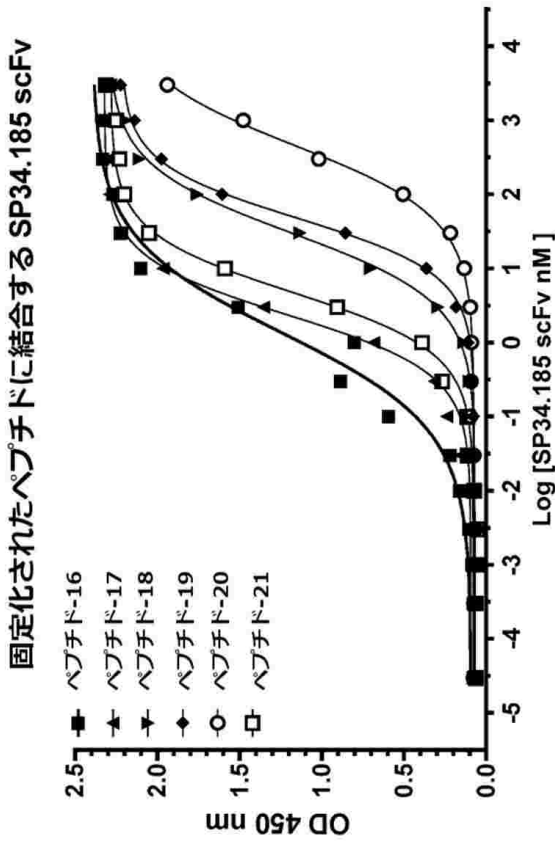
【図 1 C】



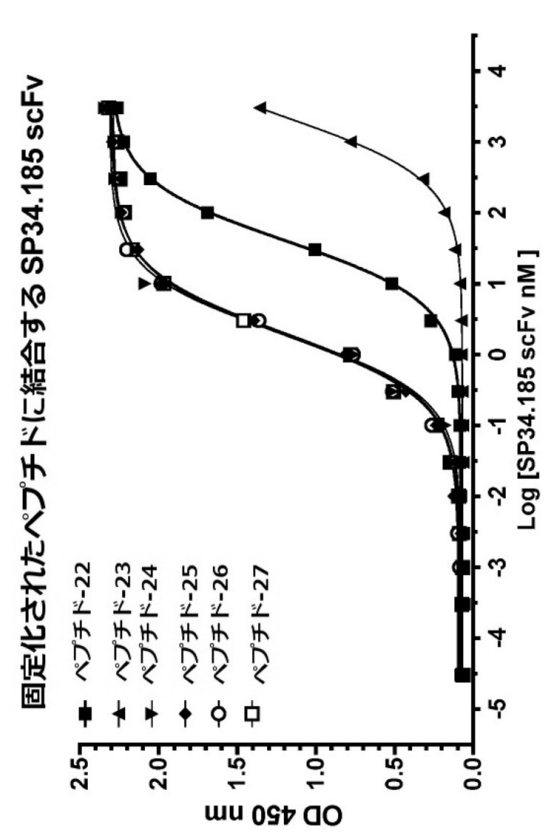
【図 1 D】



【図 1 E】



【図 1 F】



10

20

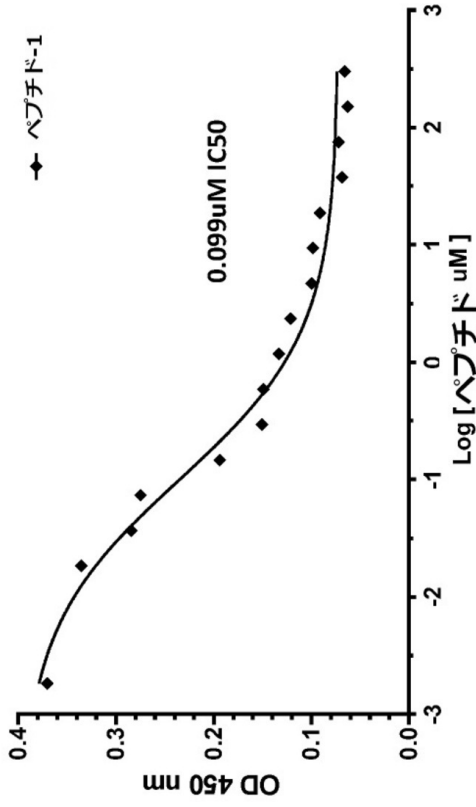
30

40

50

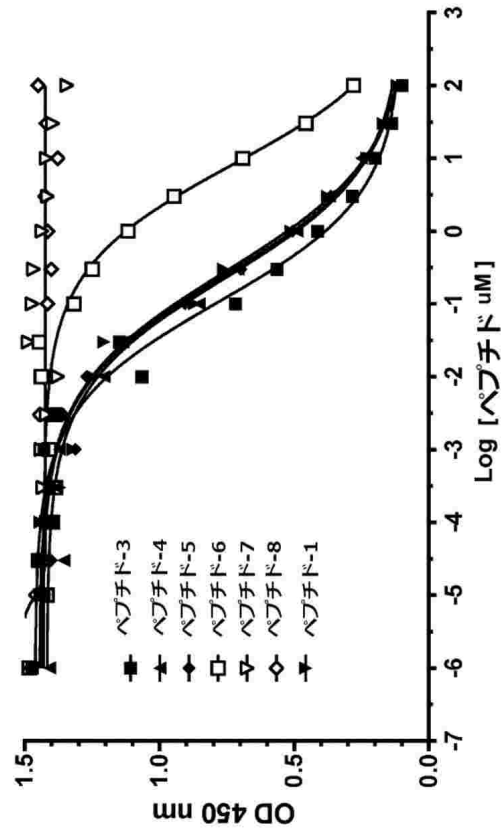
【図 2 A】

ペプチドはSP34.185 scFvがCD3eに結合するのを阻害する



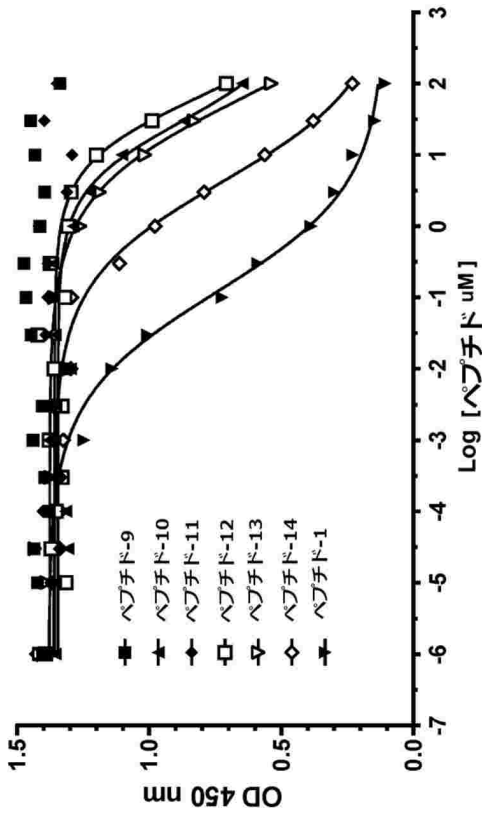
【図 2 B】

CD3eへのSP34.185 scFv結合のペプチド阻害



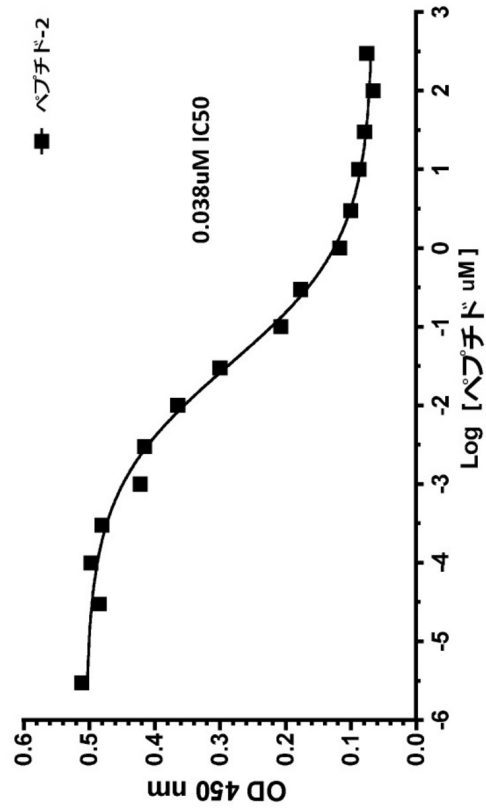
【図 2 C】

CD3eへのSP34.185 scFv結合のペプチド阻害



【図 2 D】

ペプチドはSP34.185 scFvがCD3eに結合するのを阻害する



10

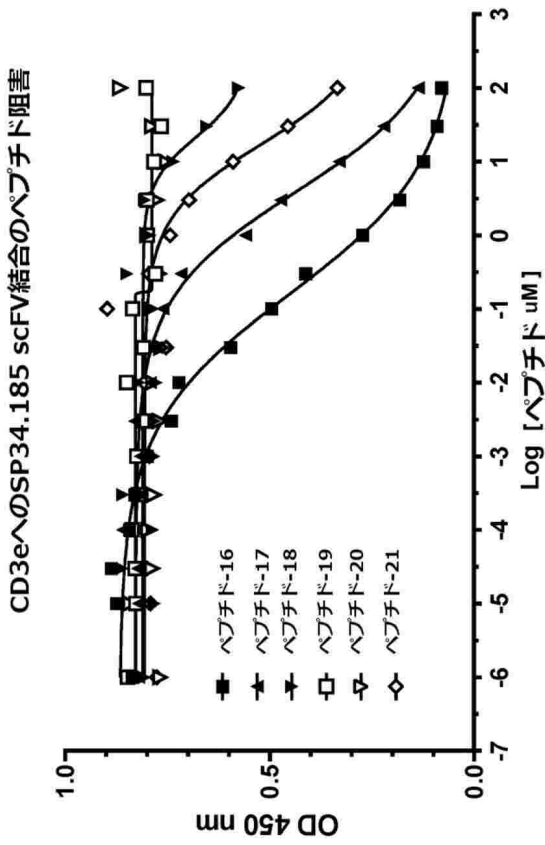
20

30

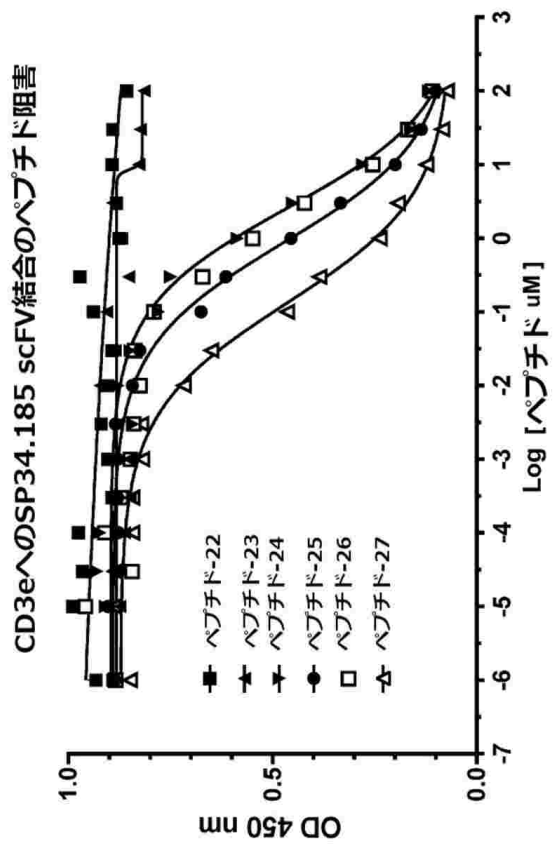
40

50

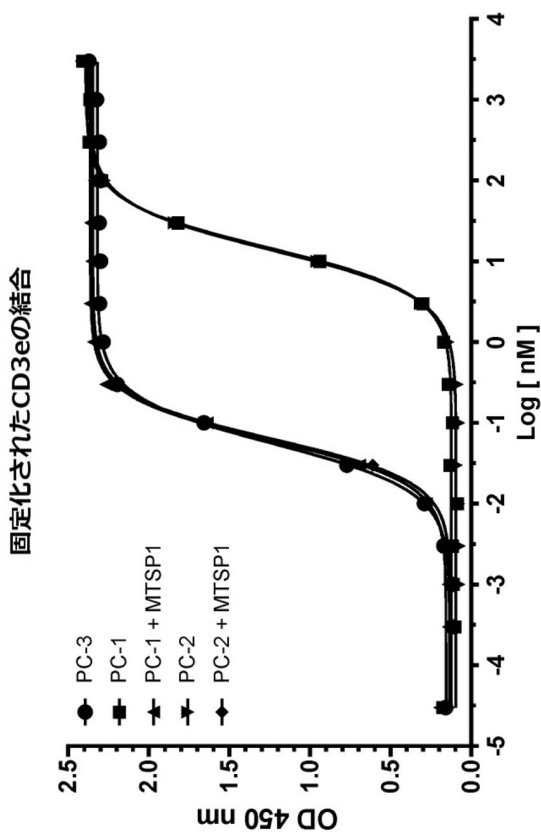
【図 2 E】



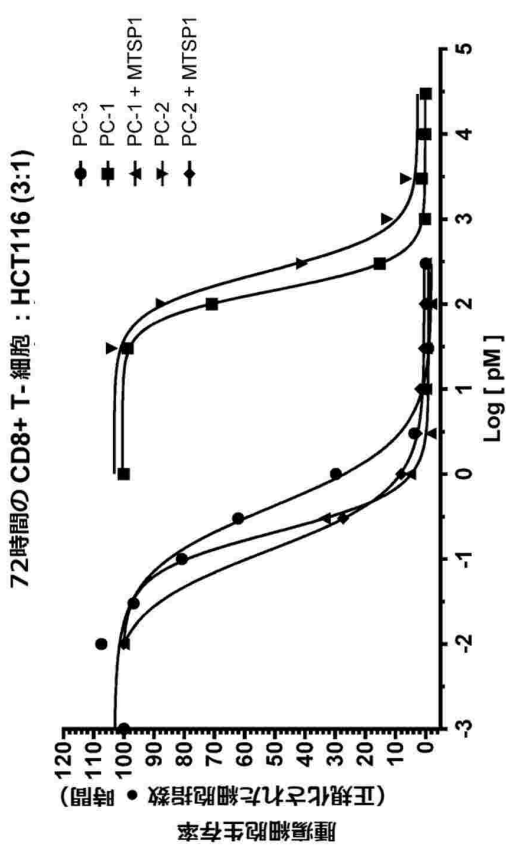
【図 2 F】



【図 3】



【図 4】



10

20

30

40

50

10

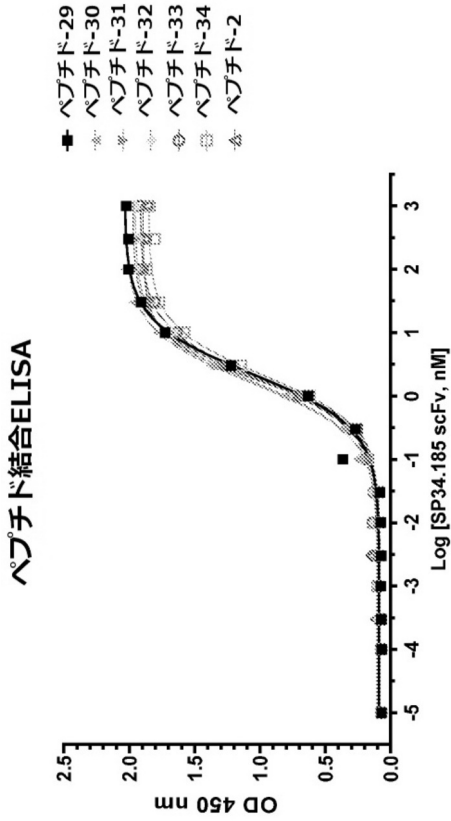
20

30

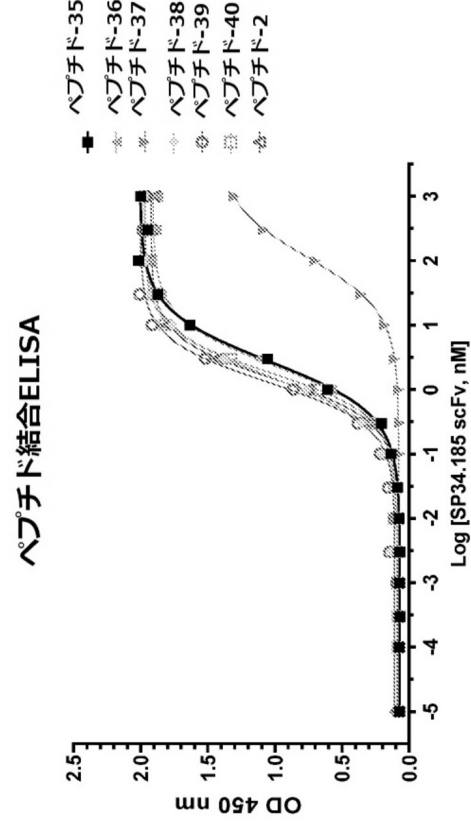
40

50

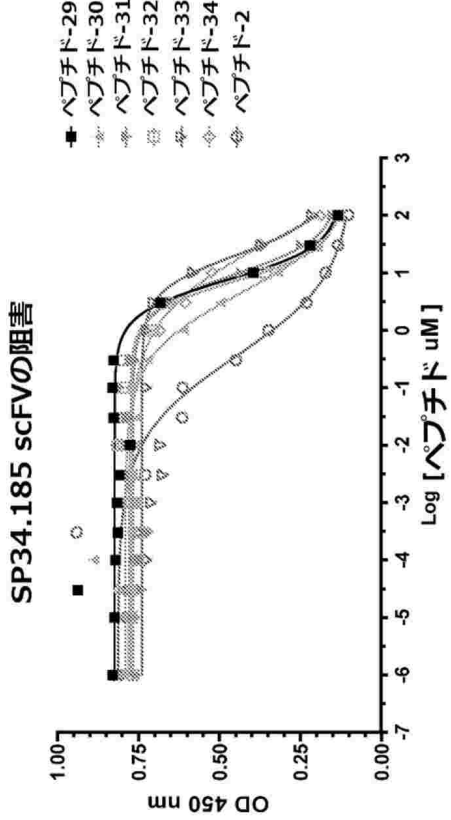
【図 5 A】



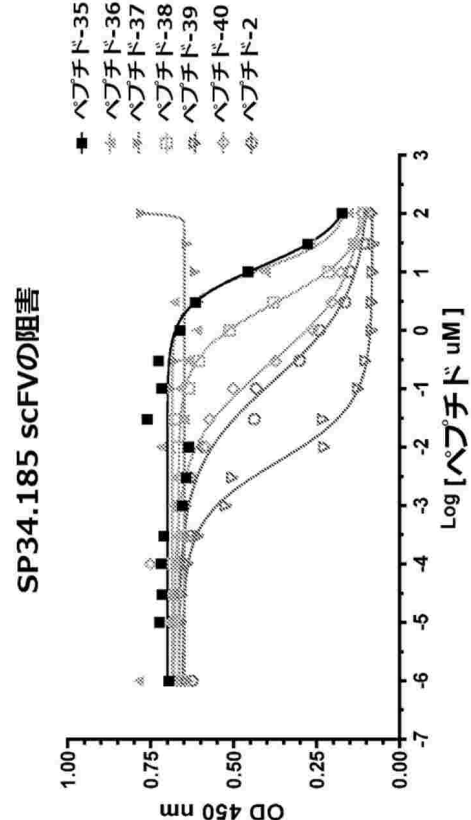
【図 5 B】



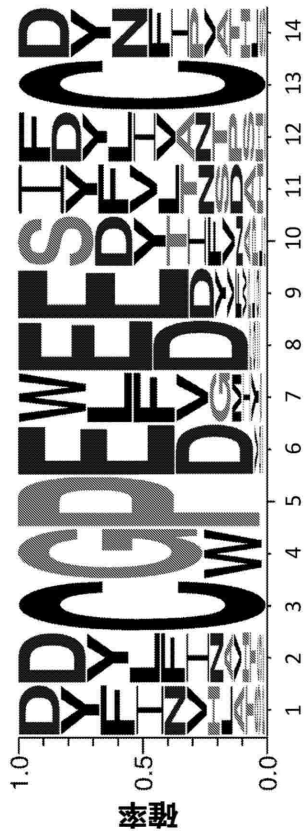
【図 6 A】



【図 6 B】



【圖 7】



10

20

【配列表】

2024500335000001.app

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/62233

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - A61K 38/08, A61K 47/66, C07K 7/06, C12N 15/62, A61K 38/00 (2022.01)

CPC - A61K 47/646, C07K 14/7051, C07K 2319/00, G01N 2333/7051

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 2019/0070248 A1 (BIONTECH AG et al.) 7 March 2019 (07.03.2019) Abstract; Claim 1; para [0015]	1-3, 77-78, 128-129
A	UniProtKB Accession No. A0A101XTH3_9BACL, <i>Acidibacillus ferrooxidans</i> ATW55_11625 gene Uncharacterized protein. 13 April 2016 [online]. [Retrieved on 04 March 2022]. Retrieved from the internet: <URL: https://www.uniprot.org/uniprot/A0A101XTH3 > Entire document	1-3, 77-78, 128-129

☐ 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

4 March 2022

Date of mailing of the international search report

APR 26 2022

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Kari Rodriguez

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/62233

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed:

☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/82233

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

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

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

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

—Please see continuation in first 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.:
1-3, 77-78, 128-129 limited to a peptide of SEQ ID NO:1

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/62233

Continuation of Box No. III. Observations where unity of invention is lacking.

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I+, Claims 1-129, directed to an isolated polypeptide or polypeptide complex comprising a peptide that impairs binding of an anti-CD3 binding domain to cluster of differentiation 3 (CD3). The polypeptide or polypeptide complex will be searched to the extent that the polypeptide or polypeptide complex encompasses a single polypeptide comprising a peptide that impairs binding of an anti-CD3 binding domain to cluster of differentiation 3 (CD3) wherein the peptide comprises an amino acid sequence selected from SEQ ID NO: 1 (note, this is the first claimed sequence for the inventive peptide embodiment). It is believed that claims 1-3, 77-78, 128-129 encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that the polypeptide comprises a peptide that impairs binding of an anti-CD3 binding domain to cluster of differentiation 3 (CD3) wherein the peptide comprises an amino acid sequence selected from SEQ ID NO: 1. Additional polypeptide(s) and/or polypeptide complex(es) comprising additional peptide(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected polypeptide(s) and/or polypeptide complex(es) comprising additional peptide(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be a polypeptide comprising a peptide that impairs binding of an anti-CD3 binding domain to cluster of differentiation 3 (CD3) wherein the peptide comprises an amino acid sequence selected from SEQ ID NO: 2 (claims 1-2, 4, 77-78, 128-129).

The inventions listed as Group I+ do not relate to a single special technical feature under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special technical features

The inventions of Group I+ each include the special technical feature of a unique amino acid sequence. Each amino acid sequence comprises a unique peptide, and is considered a distinct technical feature.

Common technical features

No technical features are shared between the peptide amino acid sequences of Group I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Group I+ inventions were considered to share the technical features of including:

an isolated polypeptide or polypeptide complex comprising a peptide that impairs binding of an anti-CD3 binding domain to cluster of differentiation 3 (CD3) wherein the peptide comprises an amino acid sequence;

an isolated polypeptide or polypeptide complex comprising an anti-CD3 binding domain that is linked to a peptide that impairs binding of the anti-CD3 binding domain to CD3 wherein the peptide comprises an amino acid sequence;

these shared technical features are made obvious by US 2019/0070248 A1 to Biontech AG et al., (hereinafter 'Biontech').

Biontech teaches an isolated polypeptide or polypeptide complex comprising a peptide that impairs binding of an anti-CD3 binding domain to cluster of differentiation 3 (CD3) wherein the peptide comprises an amino acid sequence (Abstract - 'The present invention provides molecules that mimic antigenic determinants of the CD3 (cluster of differentiation 3) T-cell co-receptor epsilon chain (CD3ε). These molecules compete with CD3ε for binding to a CD3ε binding domain, e.g. a CD3ε binding domain of an antibody, and are capable of detecting antibodies against CD3ε'; Claim 1 - 'A peptide mimotope of CD3, which comprises the amino acid sequence: ...'; para [0015] - 'In one embodiment, the peptide mimotope has a binding capacity to a CD3 binding domain and/or competes with CD3 for binding to a CD3 binding domain. In one embodiment, the CD3 binding domain is comprised by a binding agent to CD3. In one embodiment, the binding agent to CD3 is selected from the group consisting of an antibody or antibody fragment to CD3, or a bispecific or multispecific molecule comprising a binding domain to CD3'). Biontech further teaches an isolated polypeptide comprising an extraneous peptide that is linked to a peptide that impairs binding of the anti-CD3 binding domain to CD3 wherein the peptide comprises an amino acid sequence (para [0069] - 'To facilitate isolation of the peptide mimotope, a fusion polypeptide can be made wherein the peptide mimotope is translationally fused (covalently linked) to a heterologous tag such as a heterologous polypeptide or polyhistidine, preferably six histidine residues, which allows for the simplified recovery of the fusion polypeptide, e.g. its isolation by affinity chromatography or metal affinity chromatography, preferably nickel affinity chromatography'; para [0033] - 'In one embodiment of the methods of the invention, the peptide mimotope is conjugated to a label or a reporter'). Biontech further teaches an anti-CD3 binding domain (para [0071] - 'The peptide mimotopes can further be used in therapies for treating animals or humans exposed to CD3 binding molecules such as therapeutic CD3 antibodies, e.g. for modulating, in particular reducing, the activity of the CD3 binding molecule'). Since Biontech teaches the CD3 mimotopes can bind to the variable fragment of anti-CD3ε antibodies in the context of a whole IgG or as a part of an engineered bi- or trispecific format and be used to alter an immune response (para [0007] - 'These peptide-based mimotopes bind to the variable fragment of anti-CD3ε antibodies in the context of a whole IgG or as a part of an engineered bi- or trispecific format. ... The resulting mimotopes were shown to bind strongly and specifically to two different CD3ε specific antibodies and may serve to generate or inhibit immune responses in animals and preferably humans'), it would have been obvious to one of ordinary skill in the art that the CD3-binding peptide mimotope could be linked to an anti-CD3 antibody, as a complex to modulate an immune response.

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Therefore, Group I+ inventions lack unity under PCT Rule 13 because they do not share the same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 0 7 K 16/46 (2006.01)**C 0 7 K 16/46****C 1 2 N 15/62 (2006.01)****C 1 2 N 15/62****Z****A 6 1 P 35/00 (2006.01)****A 6 1 P 35/00****A 6 1 K 39/395 (2006.01)****A 6 1 K 39/395****A 6 1 K 47/60 (2017.01)****A 6 1 K 47/60**

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,IT,JO,JP,K
E,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,N
G,NI,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 9 2 1 3 0 カリフォルニア州 サンディエゴ ビスタ・ソレント・パークウェイ
1 0 9 5 5 スイート 2 0 0

F ターム (参考)

4C076 CC27 DD09M EE23M FF31 FF68**4C085 AA13 AA16 BB11 BB34 BB36 BB37 BB41 BB42 CC04 CC21
DD62 EE01****4H045 AA10 AA11 AA30 BA09 BA10 BA16 BA41 CA40 CA42 DA70
DA76 EA20 FA74**