

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載  
 【部門区分】第1部門第1区分  
 【発行日】令和3年5月20日(2021.5.20)

【公表番号】特表2020-516287(P2020-516287A)  
 【公表日】令和2年6月11日(2020.6.11)  
 【年通号数】公開・登録公報2020-023  
 【出願番号】特願2019-555817(P2019-555817)  
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/13 (2006.01)  
 C 1 2 N 15/62 (2006.01)  
 C 1 2 N 15/63 (2006.01)  
 C 0 7 K 16/28 (2006.01)  
 C 0 7 K 16/46 (2006.01)  
 C 1 2 P 21/08 (2006.01)  
 C 1 2 N 1/15 (2006.01)  
 C 1 2 N 1/19 (2006.01)  
 C 1 2 N 1/21 (2006.01)  
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)  
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)  
 A 6 1 P 37/04 (2006.01)  
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/13 Z N A  
 C 1 2 N 15/62 Z  
 C 1 2 N 15/63 Z  
 C 0 7 K 16/28  
 C 0 7 K 16/46  
 C 1 2 P 21/08  
 C 1 2 N 1/15  
 C 1 2 N 1/19  
 C 1 2 N 1/21  
 C 1 2 N 5/10  
 A 6 1 K 39/395 E  
 A 6 1 K 39/395 T  
 A 6 1 P 37/04  
 A 6 1 P 35/00

【手続補正書】

【提出日】令和3年4月9日(2021.4.9)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

ヘテロ二量体免疫グロブリンFc領域を含む第1の成分およびCD3結合領域を含む第2の成分を含む、多重特異性ポリペプチド構築物であって、  
 第1および第2の成分がリンカーによってカップリングされており、Fc領域がCD3結合領

域に対してアミノ末端側に位置付けられており；

CD3結合領域が、重鎖可変領域（VH）および軽鎖可変領域（VL）を含むFv抗体断片である抗CD3抗体またはその抗原結合断片であり、かつVHおよびVLがヘテロ二量体Fcの反対のポリペプチドに連結されており；かつ

第1および第2の成分の一方または両方が、腫瘍関連抗原（TAA）に結合する少なくとも1個の抗原結合ドメインを含む、多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項2】

免疫グロブリンFc領域を含む第1の成分およびCD3結合領域を含む第2の成分を含む、多重特異性ポリペプチド構築物であって、

第1および第2の成分がリンカーによってカップリングされており、Fc領域がCD3結合領域に対してアミノ末端側に位置付けられており；かつ

腫瘍関連抗原（TAA）に結合し、かつCD3結合領域に対してカルボキシ末端側に位置付けられている少なくとも1個の抗原結合ドメインをさらに含む、多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項3】

免疫グロブリンFc領域を含む第1の成分およびCD3結合領域を含む第2の成分を含む、多重特異性ポリペプチド構築物であって、

第1および第2の成分がリンカーによってカップリングされており、Fc領域がCD3結合領域に対してアミノ末端側に位置付けられており；かつ

第1の成分が少なくとも第1の抗原結合ドメインを含み、第2の成分が少なくとも第2の抗原結合ドメインを含み、抗原結合ドメインの各々が腫瘍関連抗原（TAA）に結合する、多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項4】

リンカーがポリペプチドリンカーである、請求項1～3のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項5】

リンカーが切断可能リンカーである、請求項1～4のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項6】

免疫グロブリンFc領域を含む第1の成分およびCD3結合領域を含む第2の成分を含む、多重特異性ポリペプチド構築物であって、

第1および第2の成分が切断可能リンカーによってカップリングされており、Fc領域がCD3結合領域に対してアミノ末端側に位置付けられており；かつ

腫瘍関連抗原（TAA）に結合する少なくとも1個の抗原結合ドメインを含む、多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項7】

Fc領域がヘテロ二量体Fc領域を含み、CD3結合領域が重鎖可変領域（VH）および軽鎖可変領域（VL）を含む抗CD3抗体またはその抗原結合断片を含む第2の成分とを含み、

抗CD3抗体またはその抗原結合断片を構成するVHおよびVLがヘテロ二量体Fcの反対のポリペプチドに連結されており；かつ

第1および第2の成分の一方または両方が、腫瘍関連抗原（TAA）に結合する少なくとも1個の抗原結合ドメインを含む、

請求項6記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項8】

少なくとも1個の抗原結合ドメインが、Fc領域に対してアミノ末端側に位置付けられ、かつ/またはCD3結合領域に対してカルボキシ末端側に位置付けられている、請求項1、2および4～7のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項9】

第1の成分が第1の抗原結合ドメインを含み、第2の成分が第2の抗原結合ドメインを含み

、抗原結合ドメインの各々が腫瘍関連抗原（TAA）に結合する、請求項1~8のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項10】

CD3結合領域がCD3（CD3）に結合する、請求項1~9のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項11】

第1の抗原結合ドメインがFc領域に対してアミノ末端側に位置付けられており、第2の抗原結合ドメインがCD3結合領域に対してカルボキシ末端側に位置付けられている、請求項9または10記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項12】

Fc領域が、ヒトIgG1、ヒトIgG2、ヒトIgG3、もしくはヒトIgG4のFc領域であるか、またはそれらの免疫活性断片である、請求項1~11のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項13】

Fc領域がヘテロ二量体Fc領域である、請求項2~6および8~12のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項14】

ヘテロ二量体Fc領域の一方または両方のFcポリペプチドが、ホモ二量体Fc領域のポリペプチドと比較して、任意で、SEQ ID NO:1に示されるFcポリペプチドまたはその免疫活性断片と比較して、ヘテロ二量体化を促進するための少なくとも1個のアミノ酸修飾を含む、請求項1、4、5、および7~13のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項15】

ヘテロ二量体Fc領域のFcポリペプチドの各々が、ノブイントゥホール修飾を含むか、またはポリペプチドの静電的相補性を増加させるための電荷変異を含む、請求項1、4、5、および7~14のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項16】

Fc領域が、FcRn結合を増強するための少なくとも1個のアミノ酸修飾を含むポリペプチドを含む、請求項1~15のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項17】

Fc領域が、  
エフェクター機能を低下させかつ/またはFc受容体もしくはC1qとの結合を低下させる少なくとも1個のアミノ酸修飾を含むポリペプチドを含む、請求項1~16のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項18】

CD3結合領域が抗CD3抗体またはその抗原結合断片である、請求項2~6および8~17のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項19】

抗CD3抗体またはその抗原結合断片が、重鎖可変領域（VH）および軽鎖可変領域（VL）を含む、請求項18記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項20】

CD3結合領域が1価である、請求項1~19のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項21】

抗CD3抗体またはその抗原結合断片が単鎖抗体ではなく、任意で、単鎖可変断片（scFv）ではない、請求項1、4、5、および7~20のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項22】

Fcがヘテロ二量体Fcであり、抗CD3抗体またはその抗原結合断片を構成するVHおよびVLがヘテロ二量体Fcの反対のポリペプチドに連結されている、請求項1および7~21のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

## 【請求項 2 3】

少なくとも1個の抗原結合ドメインがそのTAAに結合しない限り、任意で、少なくとも2個の抗原結合ドメインがそれらのTAAに結合しない限り、CD3結合領域が、CD3に結合または係合することができないかまたは実質的にできない、請求項1~22のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

## 【請求項 2 4】

多重特異性ポリペプチド構築物が未切断状態にある時、切断状態と比較して、CD3結合領域のCD3との結合が実質的に低下する、請求項5~23のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

## 【請求項 2 5】

切断可能リンカーが、プロテアーゼの基質として機能するポリペプチドである、請求項5~24のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

## 【請求項 2 6】

プロテアーゼが、マトリプターゼ、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)、グランザイムB、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項25記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

## 【請求項 2 7】

抗原結合ドメインが、または抗原結合ドメインの各々が独立に、Fab断片、F(ab')<sub>2</sub>断片、Fv断片、scFv、scAb、dAb、シングルドメイン重鎖抗体、およびシングルドメイン軽鎖抗体からなる群より選択される抗体またはその抗原結合断片である、請求項1~26のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

## 【請求項 2 8】

抗原結合ドメインが、または抗原結合ドメインの各々が独立に、シングルドメイン抗体(sdAb)である、請求項1~27のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

## 【請求項 2 9】

抗原結合ドメインが、または抗原結合ドメインの各々が独立に、1-92-LFA-3、5T4、4インテグリン、Vインテグリン、41インテグリン、47インテグリン、AGR2、抗ルイスY、アペリンJ受容体、APRIL、B7-H3、B7-H4、BAFF、BTLA、C5補体、C-242、CA9、CA19-9、(ルイスa)、炭酸脱水酵素9、CD2、CD3、CD6、CD9、CD11a、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD27、CD28、CD30、CD33、CD38、CD40、CD40L、CD41、CD44、CD44v6、CD47、CD51、CD52、CD56、CD64、CD70、CD71、CD74、CD80、CD81、CD86、CD95、CD117、CD123、CD125、CD132、(IL-2RG)、CD133、CD137、CD138、CD166、CD172A、CD248、CDH6、CEACAM5(CEA)、CEACAM6(NCA-90)、クローニン3、クローニン4、cMet、コラーゲン、Cripto、CSFR、CSFR-1、CTLA-4、CTGF、CXCL10、CXCL13、CXCR1、CXCR2、CXCR4、CYR61、DL44、DLK1、DLL3、DLL4、DPP-4、DSG1、EDA、EDB、EGFR、EGFRviii、エンドセリンB受容体(ETBR)、ENPP3、EpCAM、EPHA2、EPHB2、ERBB3、RSVのFタンパク質、FAP、FGF-2、FGF8、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT-3、葉酸受容体(FR)、GAL3ST1、G-CSF、G-CSFR、GD2、GITR、GLUT1、GLUT4、GM-CSF、GM-CSFR、GP11b/111a受容体、Gp130、GPIIb/IIIa、GPNMB、GRP78、HER2/neu、HER3、HER4、HGF、hGH、HVEM、ヒアルロニダーゼ、ICOS、IFN $\alpha$ 、IFN $\beta$ 、IFN $\gamma$ 、IgE、IgE受容体(Fc $\epsilon$ R1)、IGF、IGF1R、IL1B、IL1R、IL2、IL11、IL12、IL12p40、IL-12R、IL-12R $\alpha$ 1、IL13、IL13R、IL15、IL17、IL18、IL21、IL23、IL23R、IL27/IL27R(wsx1)、IL29、IL-31R、IL31/IL31R、IL2R、IL4、IL4R、IL6、IL6R、インスリン受容体、ジャギド(Jagged)リガンド、ジャギド1、ジャギド2、KISS1-R、LAG-3、LIF-R、ルイスX、LIGHT、LRP4、LRRc26、Ly6G6D、LyPD1、MCSP、メソテリン、MRP4、MUC1、ムチン16(MUC16、CA-125)、Na/K ATPアーゼ、NGF、ニカストリン(Nicestrin)、ノッチ受容体、ノッチ1、ノッチ2、ノッチ3、ノッチ4、NOV、OSM-R、OX-40、PAR2、PDGF-AA、PDGF-BB、PDGFR $\alpha$ 、PDGFR $\beta$ 、PD-1、PD-L1、PD-L2、ホスファチジルセリン、P1GF、PSCA、PSMA、PSGR、RAAG12、RAGE、SLC44A4、スフィンゴシン-1-リン酸、STEAP1、STEA P2、TAG-72、TAPA1、TEM-8、TGF $\beta$ 、TIGIT、TIM-3、TLR2、TLR4、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TMEM31、TNF $\alpha$ 、TNFR、TNFRS12A、TRAIL-R1、TRAIL-R2、トランスフェリン、トランス

フェリン受容体、TRK-A、TRK-B、uPAR、VAP1、VCAM-1、VEGF、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、VISTA、WISP-1、WISP-2、およびWISP-3より選択される腫瘍抗原に結合する、請求項1～27のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項30】

少なくとも第1の抗原結合ドメインおよび第2の抗原結合ドメインを含み、第1の抗原結合ドメインおよび第2の抗原結合ドメインが同一のTAAに結合する、請求項1～29のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項31】

少なくとも第1の抗原結合ドメインおよび第2の抗原結合ドメインを含み、第1の抗原結合ドメインおよび第2の抗原結合ドメインが異なるTAAに結合する、請求項1～30のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項32】

抗CD3抗体またはその抗原結合断片がFv抗体断片である、請求項7～31のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項33】

Fv抗体断片がジスルフィドによって安定化された抗CD3結合Fv断片(dsFv)を含む、請求項1、4、5、および8～32のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項34】

多重特異性ポリペプチド構築物が薬剤にコンジュゲートされており、任意で、薬剤が、治療剤、抗腫瘍剤、毒素もしくはその断片、検出可能モエティ、または診断剤である、請求項1～33のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項35】

請求項1～34のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物をコードする、ポリヌクレオチド。

【請求項36】

請求項1～34のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物の第1のポリペプチドをコードする第1の核酸配列と、該多重特異性ポリペプチド構築物の第2のポリペプチドをコードする第2の核酸配列とを含む、ポリヌクレオチドであって、

第1および第2の核酸配列が、配列内リボソーム進入部位(IRES)によって、または自己切断ペプチドもしくはリボソームスキッピングを引き起こすペプチドをコードする核酸によって、分離されている、

ポリヌクレオチド。

【請求項37】

請求項35または36記載の1つもしくは複数のポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項38】

請求項35または36記載の1つもしくは複数のポリヌクレオチドまたは請求項37記載のベクターを含む、細胞。

【請求項39】

請求項35または36記載の1つもしくは複数のポリヌクレオチドまたは請求項37記載のベクターを細胞へ導入する工程、および

多重特異性ポリペプチド構築物が産生される条件下で該細胞を培養する工程を含む、多重特異性ポリペプチド構築物を作製する方法。

【請求項40】

請求項39記載の方法によって作製された、多重特異性ポリペプチド構築物。

【請求項41】

請求項1～34および40のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物と、薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物。

【請求項42】

標的細胞およびT細胞を、請求項1～34および40のいずれか一項記載の多重特異性ポリペ

プチド構築物または請求項41記載の薬学的組成物と接触させる工程を含む、エキスピボまたはインピトロで免疫応答を刺激するかまたは誘導する方法であって、標的細胞が、多重特異性ポリペプチド構築物によって認識される腫瘍関連抗原を発現しており、接触がエキスピボまたはインピトロで実施される、方法。

【請求項43】

対象における免疫応答を刺激もしくは誘導するための、または対象における疾患または状態を処置するための、請求項41記載の薬学的組成物。

【請求項44】

請求項1～34および40のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物を含む、対象における免疫応答を刺激もしくは誘導するための、または対象における疾患または状態を処置するための薬学的組成物。

【請求項45】

対象における免疫応答を刺激もしくは誘導するための、または対象における疾患または状態を処置するための医薬の製造のための、請求項1～34および40のいずれか一項記載の多重特異性ポリペプチド構築物または請求項41記載の薬学的組成物の使用。

【請求項46】

薬学的組成物が対象における免疫応答を刺激または誘導するためのものであり、腫瘍またはがんに対する免疫応答が増加する、請求項43または44記載の薬学的組成物。

【請求項47】

医薬が対象における免疫応答を刺激または誘導するためのものであり、腫瘍またはがんに対する免疫応答が増加する、請求項45記載の使用。

【請求項48】

対象における、腫瘍もしくはがんである疾患または状態を処置するためのものである、請求項43または44記載の薬学的組成物。

【請求項49】

医薬が、対象における、腫瘍もしくはがんである疾患または状態を処置するためのものである、請求項45記載の使用。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0112

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0112】

当業者は、本開示の抗体が多様な使用を有することを認識するであろう。例えば、本開示のタンパク質は、多様な障害のための治療剤として使用される。本開示の抗体は、診断キット内の試薬または診断ツールとしても使用され、またはこれらの抗体は、治療用試薬を生成するため、競合アッセイにおいて使用されてもよい。

[本発明1001]

免疫グロブリンFc領域を含む第1の成分およびCD3結合領域を含む第2の成分を含む、多重特異性ポリペプチド構築物であって、

第1および第2の成分がリンカーによってカップリングされており、Fc領域がCD3結合領域のN末端側に位置付けられており；

第1および第2の成分の一方または両方が、腫瘍関連抗原（TAA）に結合する抗原結合ドメインを含む、多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1002]

CD3結合領域がCD3（CD3）に結合する、本発明1001の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1003]

抗原結合ドメインが、多重特異性ポリペプチド構築物のFc領域に対してアミノ末端側に

位置付けられ、かつ/またはCD3結合領域に対してカルボキシ末端側に位置付けられている、本発明1001または本発明1002の多重特異性構築物。

[本発明1004]

第1の成分が第1の抗原結合ドメインを含み、第2の成分が第2の抗原結合ドメインを含み、抗原結合ドメインの各々が腫瘍関連抗原（TAA）に結合する、本発明1001～1003のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1005]

第1の抗原結合ドメインが多重特異性構築物のFc領域に対してアミノ末端側に位置付けられており、第2の抗原結合ドメインが多重特異性構築物のCD3結合領域に対してカルボキシ末端側に位置付けられている、本発明1004の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1006]

N末端からC末端へ順に、  
腫瘍関連抗原（TAA）に結合する第1の抗原結合ドメイン；  
免疫グロブリンFc領域；  
リンカー；  
CD3（CD3）に結合するCD3結合領域；および  
腫瘍関連抗原（TAA）に結合する第2の抗原結合ドメイン  
を含む、多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1007]

Fc領域が、ヒトIgG1、ヒトIgG2、ヒトIgG3、もしくはヒトIgG4のFc領域であるか、またはそれらの免疫活性断片である、本発明1001～1006のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1008]

Fc領域が、  
SEQ ID NO:1に示されるアミノ酸配列、もしくはSEQ ID NO:1との少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%の配列同一性を有するアミノ酸の配列を含む、ポリペプチド；  
SEQ ID NO:2に示されるアミノ酸配列、もしくはSEQ ID NO:2との少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%の配列同一性を有するアミノ酸の配列を含む、ポリペプチド；  
SEQ ID NO:4に示されるアミノ酸配列、もしくはSEQ ID NO:4との少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%の配列同一性を有するアミノ酸の配列を含む、ポリペプチド；または  
SEQ ID NO:5に示されるアミノ酸配列、もしくはSEQ ID NO:5との少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%の配列同一性を有するアミノ酸の配列を含む、ポリペプチド  
を含む、本発明1001～1007のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1009]

Fc領域がヘテロ二量体Fc領域である、本発明1001～1008のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1010]

ヘテロ二量体Fc領域の一方または両方のFcポリペプチドが、ホモ二量体Fc領域のポリペプチドと比較して、任意で、SEQ ID NO:1に示されるFcポリペプチドまたはその免疫活性断片と比較して、ヘテロ二量体化を促進するための少なくとも1個の修飾を含む、本発明1009の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1011]

ヘテロ二量体FcのFcポリペプチドの各々が、ノブイントゥホール修飾を含むか、またはポリペプチドの静電的相補性を増加させるための電荷変異を含む、本発明1010の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1012]

ヘテロ二量体Fcの第1のFcポリペプチドが、Thr366Ser、Leu368Ala、Tyr407Val、およびそれらの組み合わせより選択される修飾を含み、ヘテロ二量体Fcの第2のFcポリペプチドが修飾T366Wを含み、任意で、第1および第2のFcポリペプチドが非システイン残基のシステイン残基への修飾をさらに含み、第1のポリペプチドの修飾が位置Ser354およびY349の一方にあり、第2のFcポリペプチドの修飾が位置Ser354およびY349の他方にある、本発明1010および本発明1011の多重特異性融合ポリペプチド。

[本発明1013]

アミノ酸修飾がポリペプチドの静電的相補性を増加させるための電荷変異である、本発明1011の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1014]

Fc領域が、修飾Ile253ArgまたはHis435Argを含むポリペプチドを含む、本発明1001～1013のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1015]

Fc領域が、FcRn結合を増強するための少なくとも1個の修飾を含むポリペプチドを含む、本発明1001～1014のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1016]

修飾が、Met252Y、Ser254T、Thr256E、Met428L、Met428V、Asn434S、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される位置にある、本発明1015の多重特異性融合ポリペプチド。

[本発明1017]

ヘテロ二量体Fcの第1のポリペプチドが、SEQ ID NO:82、86、94、または96のいずれかに示されるアミノ酸の配列を含み、ヘテロ二量体Fcの第2のポリペプチドが、SEQ ID NO:83、87、90、92、98、または100のいずれかに示されるアミノ酸の配列を含む、本発明1009～1016のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1018]

Fc領域が、エフェクター機能を低下させかつ/またはFc 受容体もしくはC1qより選択されるエフェクター分子との結合を低下させる少なくとも1個のアミノ酸修飾を含むポリペプチドを含む、本発明1001～1017のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1019]

1つまたは複数のアミノ酸修飾が、Glu233、Leu234、またはLeu235のうちの1つまたは複数の欠失である、本発明1018の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1020]

ヘテロ二量体Fcの第1のポリペプチドが、SEQ ID NO:84、88、95、または97のいずれかに示されるアミノ酸の配列を含み、ヘテロ二量体Fcの第2のポリペプチドが、SEQ ID NO:85、89、91、93、99、または101のいずれかに示されるアミノ酸の配列を含む、本発明1009～1016、1018、および1019のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1021]

CD3結合領域が抗CD3抗体または抗原結合断片である、本発明1001～1020のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1022]

抗CD3抗体または抗原結合断片が、重鎖可変領域(VH)および軽鎖可変領域(VL)を含む、本発明1021の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1023]

CD3結合領域が1個である、本発明1001～1022のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1024]

抗CD3抗体または抗原結合断片が単鎖抗体ではなく、任意で、単鎖可変断片(scFv)ではない、本発明1021～1023のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1025]

Fcがヘテロ二量体Fcであり、抗CD3抗体または抗原結合断片を構成するVHおよびVLがヘテロ二量体Fcの反対のポリペプチドに連結されている、本発明1022～1024のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1026]

抗原結合ドメインのうち少なくとも1個がそのTAAに結合しない限り、任意で、抗原結合ドメインのうち少なくとも2個がそのTAAに結合しない限り、CD3結合領域が、CD3に結合または係合することができないかまたは実質的にできない、本発明1001～1025のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1027]

リンカーがポリペプチドリinkerである、本発明1001～1026のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1028]

リンカーが切断可能リンカーである、本発明1001～1027のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1029]

ヘテロ二量体Fc領域を含む第1の成分と、重鎖可変領域（VH）および軽鎖可変領域（VL）を含む抗CD3抗体または抗原結合断片を含む第2の成分とを含む、多重特異性ポリペプチド構築物であって、

抗CD3抗体または抗原結合断片を構成するVHおよびVLがヘテロ二量体Fcの反対のポリペプチドに連結されており；

第1および第2の成分が切断可能リンカーによってカップリングされており、ヘテロ二量体Fc領域が抗CD3抗体のN末端側に位置付けられており；かつ

第1および第2の成分の一方または両方が、腫瘍関連抗原（TAA）に結合する抗原結合ドメインを含む、  
多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1030]

多重特異性ポリペプチド構築物が未切断状態にある時、切断状態と比較して、CD3結合領域のCD3との結合が実質的に低下する、本発明1028または本発明1029の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1031]

切断可能リンカーが、プロテアーゼの基質として機能するポリペプチドである、本発明1028～1030のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1032]

免疫エフェクター細胞によって、腫瘍によって、または腫瘍微小環境に存在する細胞によって、プロテアーゼが産生される、本発明1031の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1033]

プロテアーゼが、マトリプターゼ、マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）、グランザイムB、およびそれらの組み合わせより選択される、本発明1031または本発明1032の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1034]

プロテアーゼがグランザイムBである、本発明1033の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1035]

切断可能リンカーが、

一般式P4 P3 P2 P1 P1'（SEQ ID NO:150）（P4はアミノ酸I、L、Y、M、F、V、またはAであり；P3はアミノ酸A、G、S、V、E、D、Q、N、またはYであり；P2はアミノ酸H、P、A、V、G、S、またはTであり；P1はアミノ酸DまたはEであり；P1'はアミノ酸I、L、Y、M、F、V、T、S、G、またはAである）のアミノ酸配列、

任意で、一般式P4 P3 P2 P1 P1'（SEQ ID NO:151）（P4はアミノ酸IまたはLであり；P3はアミノ酸Eであり；P2はアミノ酸PまたはAであり；P1はアミノ酸Dであり；P1'はアミノ酸I、V、T、S、またはGである）のアミノ酸配列

を含む、本発明1028～1034のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1036]

切断可能リンカーが、アミノ酸配列IEPDI (SEQ ID NO:136)、LEPDG (SEQ ID NO:152)、LEADT (SEQ ID NO:137)、IEPDG (SEQ ID NO:138)、IEPDV (SEQ ID NO:139)、IEPDS (SEQ ID NO:140)、IEPDT (SEQ ID NO:141)、またはLEADG (SEQ ID NO:153)を含む、本発明1028～1035のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1037]

切断可能リンカーが、SEQ ID NO:22、105～112、136～141、148、150～153からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、本発明1028～1036のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1038]

プロテアーゼがマトリプターゼである、本発明1033の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1039]

切断可能リンカーが、配列P4QAR (A/V) (SEQ ID NO:154) (P4は任意のアミノ酸である)、任意で、配列RQAR(A/V) (SEQ ID NO:155)または配列RQARV (SEQ ID NO:156)を含む、本発明1028～1038のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1040]

切断可能リンカーが、SEQ ID NO:23、154～156からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、本発明1028～1039のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1041]

プロテアーゼが、MMP、任意でMMP-2である、本発明1033の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1042]

切断可能リンカーが、一般式P3 P2 P1 P1' (SEQ ID NO:157) (P3はP、V、またはAであり；P2はQまたはDであり；P1はAまたはNであり；P1'はL、I、またはMである)、任意で、一般式P3 P2 P1 P1' (SEQ ID NO:158) (P；P2はQまたはDであり；P1はAまたはNであり；P1'はLまたはIである)、任意で、配列PAGL (SEQ ID NO:24)を含む、本発明1028～1041のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1043]

切断可能リンカーが、SEQ ID NO:22～31、104～114、117～118、136～144、148、150～158からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、本発明1028～1042のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1044]

(i) ヘテロ二量体Fc領域の第1のFcポリペプチド、リンカー、および抗CD3抗体または抗原結合断片のVHドメインを含む、第1のポリペプチド；ならびに  
(ii) ヘテロ二量体Fc領域の第2のFcポリペプチド、リンカー、および抗CD3抗体または抗原結合断片のVLドメインを含む、第2のポリペプチドを少なくとも含み、第1および第2のポリペプチドの一方または両方が、腫瘍関連抗原 (TAA) に結合する少なくとも1個の抗原結合ドメインを含む、本発明1025～1043のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1045]

TAAに結合する1つまたは複数の抗原結合ドメインが、TAAとの1価、2価、3価、または4価の結合をもたらす、本発明1001～1044のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1046]

少なくとも1個の抗原結合ドメインが、多重特異性ポリペプチド構築物の第1もしくは第2ポリペプチドの一方のFc領域に対してアミノ末端側に位置付けられており、かつ/もしくは

はCD3結合領域に対してカルボキシ末端側に位置付けられているか；または

少なくとも1個の抗原結合ドメインが多重特異性構築物のFc領域に対してアミノ末端側に位置付けられており、第2の抗原結合ドメインが多重特異性構築物のCD3結合領域に対してカルボキシ末端側に位置付けられている、

本発明1044または本発明1045の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1047]

抗原結合ドメインが、または抗原結合ドメインの各々が独立に、Fab断片、F(ab')<sub>2</sub>断片、Fv断片、scFv、scAb、dAb、シングルドメイン重鎖抗体、およびシングルドメイン軽鎖抗体からなる群より選択される抗体またはその抗原結合断片である、本発明1001～1046のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1048]

抗体またはその抗原結合断片が、Fv、scFv、Fab、シングルドメイン抗体(sdAb)、V<sub>NA</sub>R、またはV<sub>H</sub>Hである、本発明1047の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1049]

抗体または抗原結合断片がFabであり、多重特異性ポリペプチド構築物が、

(i) ヘテロ二量体Fc領域の第1のFcポリペプチド、リンカー、および抗CD3抗体または抗原結合断片のVHドメインを含む、第1のポリペプチド；

(ii) ヘテロ二量体Fc領域の第2のFcポリペプチド、リンカー、および抗CD3抗体または抗原結合断片のVLドメインを含む、第2のポリペプチド、ならびに

(iii) 腫瘍関連抗原に結合するFab抗体断片のVH-CH1(Fd)またはVL-CLを含む、第3のポリペプチド

を含み、

第1および/または第2のポリペプチドがFab抗体断片のVH-CH1(Fd)またはVL-CLの他方を

さらに含む、

本発明1047または本発明1048の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1050]

第1もしくは第2のポリペプチドの一方のみがFab抗体断片のVH-CH1(Fd)もしくはVL-CLの他方を含むか；または

第1もしくは第2のポリペプチドの両方がFab抗体断片のVH-CH1(Fd)もしくはVL-CLの他方を含む、

本発明1049の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1051]

Fab抗体断片のVH-CH1(Fd)もしくはVL-CLの他方が、多重特異性ポリペプチド構築物の第1もしくは第2のポリペプチドの一方のFc領域のアミノにおよび/もしくはCD3結合領域のカルボキシに位置付けられているか；または

Fab抗体断片のVH-CH1(Fd)もしくはVL-CLの他方が、第1のポリペプチドもしくは第2のポリペプチドのFc領域のアミノにおよび第1もしくは第2のポリペプチドの他方のCD3結合領域のカルボキシに位置付けられている、

本発明1049または本発明1050の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1052]

抗原結合ドメインが、または抗原結合ドメインの各々が独立に、1-92-LFA-3、5T4、4インテグリン、Vインテグリン、4 1インテグリン、4 7インテグリン、AGR2、抗ルイスY、アペリンJ受容体、APRIL、B7-H3、B7-H4、BAFF、BTLA、C5補体、C-242、CA9、CA19-9、(ルイスa)、炭酸脱水酵素9、CD2、CD3、CD6、CD9、CD11a、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD27、CD28、CD30、CD33、CD38、CD40、CD40L、CD41、CD44、CD44v6、CD47、CD51、CD52、CD56、CD64、CD70、CD71、CD74、CD80、CD81、CD86、CD95、CD117、CD123、CD125、CD132、(IL-2RG)、CD133、CD137、CD138、CD166、CD172A、CD248、CDH6、CEA CAM5(CEA)、CEACAM6(NCA-90)、クローディン3、クローディン4、cMet、コラーゲン、Cripto、CSFR、CSFR-1、CTLA-4、CTGF、CXCL10、CXCL13、CXCR1、CXCR2、CXCR4、CYR61、DL44、DLK1、DLL3、DLL4、DPP-4、DSG1、EDA、EDB、EGFR、EGFRviii、エンドセリンB受容

体 (ETBR)、ENPP3、EpCAM、EPhA2、EPhB2、ERBB3、RSVのFタンパク質、FAP、FGF-2、FGF8、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT-3、葉酸受容体 (FR)、GAL3ST1、G-CSF、G-CSFR、GD2、GITR、GLUT1、GLUT4、GM-CSF、GM-CSFR、GP IIb/IIIa受容体、Gp130、GPIIB/IIIA、GPNMB、GRP78、HER2/neu、HER3、HER4、HGF、hGH、HVEM、ヒアルロニダーゼ、ICOS、IFN $\gamma$ 、IFN $\alpha$ 、IFN $\beta$ 、IgE、IgE受容体 (Fc $\epsilon$ R1)、IGF、IGF1R、IL1B、IL1R、IL2、IL11、IL12、IL12p40、IL-12R、IL-12R $\alpha$ 1、IL13、IL13R、IL15、IL17、IL18、IL21、IL23、IL23R、IL27/IL27R (wsx1)、IL29、IL-31R、IL31/IL31R、IL2R、IL4、IL4R、IL6、IL6R、インスリン受容体、ジャギド (Jagged) リガンド、ジャギド1、ジャギド2、KISS1-R、LAG-3、LIF-R、ルイスX、LIGHT、LRP4、LRRc26、Ly6G6D、LyPD1、MCSP、メソテリン、MRP4、MUC1、ムチン16 (MUC16、CA-125)、Na/K ATPアーゼ、NGF、ニカストリン (Nicastrin)、ノッチ受容体、ノッチ1、ノッチ2、ノッチ3、ノッチ4、NOV、OSM-R、OX-40、PAR2、PDGF-AA、PDGF-BB、PDGFR $\alpha$ 、PDGFR $\beta$ 、PD-1、PD-L1、PD-L2、ホスファチジルセリン、P1GF、PSCA、PSMA、PSGR、RAAG12、RAGE、SLC44A4、スフィンゴシン-1-リン酸、STEAP1、STEA P2、TAG-72、TAPA1、TEM-8、TGF $\beta$ 、TIGIT、TIM-3、TLR2、TLR4、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TMEM31、TNF $\alpha$ 、TNFR、TNFRS12A、TRAIL-R1、TRAIL-R2、トランスフェリン、トランスフェリン受容体、TRK-A、TRK-B、uPAR、VAP1、VCAM-1、VEGF、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、VISTA、WISP-1、WISP-2、およびWISP-3より選択される腫瘍抗原に結合する、本発明1001~1051のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1053]

少なくとも第1の抗原結合ドメインおよび第2の抗原結合ドメインを含み、

第1の抗原結合ドメインおよび第2の抗原結合ドメインが同一のTAAに結合する、  
本発明1001~1052のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1054]

少なくとも第1の抗原結合ドメインおよび第2の抗原結合ドメインを含み、

第1の抗原結合ドメインおよび第2の抗原結合ドメインが異なるTAAに結合する、  
本発明1001~1053のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1055]

第1の抗原結合ドメインとFc領域との間の第1の連結ペプチド (LP1) およびCD3結合領域と第2の抗原結合ドメインとの間の第2の連結ペプチド (LP2) を含み、

N末端からC末端へ以下の構造的配置：第1の抗原結合ドメイン - LP1 - Fc領域 - リンカー - CD3結合領域 - LP2 - 第2の抗原結合ドメインを有する、  
本発明1006~1054のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1056]

抗CD3抗体または抗原結合断片がFv抗体断片である、本発明1021~1055のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1057]

Fv抗体断片がジスルフィドによって安定化された抗CD3結合Fv断片 (dsFv) を含む、本発明1056の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1058]

抗CD3抗体または抗原結合断片が、

アミノ酸配列TYAMN (SEQ ID NO:16) を含むVH CDR1；

アミノ酸配列

RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 17)

を含むVH CD2；

アミノ酸配列

HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 18)

を含むVH CDR3；

アミノ酸配列

RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 19)

を含むVL CDR1；

アミノ酸配列GTNKRAP (SEQ ID NO:20)を含むVL CDR2 ; および  
アミノ酸配列ALWYSNLWW (SEQ ID NO:21)を含むVL CDR3  
を含む、本発明1021~1057のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1059]

抗CD3 dsFvが、  
SEQ ID NO:14および32~62のいずれかのアミノ酸配列またはSEQ ID NO:14および32~62  
のいずれかとの少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、も  
しくは99%の配列同一性を示す配列を有するVH ; ならびに  
SEQ ID NO:15および63~81のいずれかのアミノ酸配列またはSEQ ID NO:14および32~62  
のいずれかとの少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、も  
しくは99%の配列同一性を示す配列を有するVL  
を含む、本発明1057または本発明1058の多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1060]

抗CD3 dsFvが、SEQ ID NO:14のアミノ酸配列およびSEQ ID NO:15のアミノ酸配列 ; また  
はSEQ ID NO:44のアミノ酸配列およびSEQ ID NO:72のアミノ酸配列を含む、本発明1057~  
1059のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1061]

多重特異性ポリペプチド構築物が薬剤にコンジュゲートされており、任意で、薬剤が、  
治療剤、抗腫瘍剤、毒素もしくはその断片、検出可能モエティ、または診断剤である、本  
発明1001~1060のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1062]

本発明1001~1061のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物をコードする、ポリヌク  
レオチド。

[本発明1063]

本発明1001~1061のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物のいずれかのポリペプチ  
ド鎖をコードする、ポリヌクレオチド。

[本発明1064]

本発明1001~1061のいずれかの多重特異性構築物の第1のポリペプチドをコードする第1  
の核酸配列と、該多重特異性構築物の第2のポリペプチドをコードする第2の核酸配列とを  
含む、ポリヌクレオチドであって、

第1および第2の核酸配列が、配列内リボソーム進入部位 (IRES) によって、または自己  
切断ペプチドもしくはリボソームスキッピングを引き起こすペプチドをコードする核酸に  
よって、分離されている、  
ポリヌクレオチド。

[本発明1065]

前記多重特異性ポリペプチド構築物が第3のポリペプチド鎖を含み、  
前記ポリヌクレオチドが、該多重特異性構築物の第3のポリペプチドをコードする第3の  
核酸をさらに含み、

任意で、第3の核酸が、配列内リボソーム進入部位 (IRES) によって、または自己切断  
ペプチドもしくはリボソームスキッピングを引き起こすペプチドをコードする核酸によっ  
て、第1および/または第2のポリペプチドから分離されており、かつ/あるいは

第3の核酸配列が第1および/または第2の核酸配列と同一のプロモーターに機能的に連結  
されている、  
本発明1064のポリヌクレオチド。

[本発明1066]

本発明1062~1065のいずれかのポリヌクレオチドを含む、ベクター。

[本発明1067]

本発明1062~1065のいずれかの1つもしくは複数のポリヌクレオチドまたは本発明のベ  
クターを含む、細胞。

[本発明1068]

本発明1062～1065のいずれかの1つもしくは複数のポリヌクレオチドまたは本発明1066のベクターを細胞へ導入する工程、および

多重特異性ポリペプチド構築物が産生される条件下で該細胞を培養する工程を含む、多重特異性ポリペプチド構築物を作製する方法。

[本発明1069]

多重特異性ポリペプチドが細胞によって産生される条件の下で本発明1067の細胞を培養する工程を含む、多重特異性ポリペプチド構築物を作製する方法。

[本発明1070]

本発明1068または本発明1069の方法によって作製された、多重特異性ポリペプチド構築物。

[本発明1071]

本発明1001～1061および本発明1070のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物と、薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物。

[本発明1072]

標的細胞およびT細胞を、本発明1001～1061および本発明1070のいずれかの多重特異性ポリペプチド構築物または本発明1071の薬学的組成物と接触させる工程を含む、免疫応答を刺激するかまたは誘導する方法であって、標的細胞が、多重特異性ポリペプチド構築物によって認識される腫瘍関連抗原を発現している、方法。

[本発明1073]

標的細胞が腫瘍関連抗原（TAA）を発現している腫瘍細胞である、本発明1072の方法。

[本発明1074]

多重特異性ポリペプチド構築物が、プロテアーゼの基質として機能する切断可能リンカーを含み、免疫応答の誘導または刺激がプロテアーゼの存在下で増加する、本発明1072または本発明1073の方法。

[本発明1075]

プロテアーゼが、マトリプターゼ、マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）、グランザインB、およびそれらの組み合わせより選択される、本発明1072～1074のいずれかの方法。

[本発明1076]

接触が、エキスピボで、インピトロで、または対象においてインピボで実施される、本発明1072～1075のいずれかの方法。

[本発明1077]

本発明1001～1061および本発明1070のいずれかの多重特異性コンジュゲートまたは本発明1080の薬学的組成物を治療的に有効な量で、それを必要とする対象へ投与する工程を含む、対象における免疫応答を刺激するかまたは誘導する方法。

[本発明1078]

腫瘍またはがんに対する免疫応答が増加する、本発明1077の方法。

[本発明1079]

対象における疾患または状態を処置する、本発明1072～1078のいずれかの方法。

[本発明1080]

本発明1001～1061および1070のいずれかの多重特異性コンジュゲートまたは本発明1071の薬学的組成物を治療的に有効な量で、それを必要とする対象へ投与する工程を含む、対象における疾患または状態を処置する方法。

[本発明1081]

疾患または状態が腫瘍またはがんである、本発明1079または本発明1080の方法。

[本発明1082]

対象がヒトである、本発明1076～1081のいずれかの方法。