

【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】平成28年4月14日 (2016.4.14)

【公表番号】特表2015-514393(P2015-514393A)

【公表日】平成27年5月21日 (2015.5.21)

【年通号数】公開・登録公報2015-034

【出願番号】特願2014-558977(P2014-558977)

【国際特許分類】

C 1 2 P	21/02	(2006.01)
A 6 1 K	47/42	(2006.01)
A 6 1 K	47/48	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	9/00	(2006.01)
A 6 1 P	25/00	(2006.01)
A 6 1 P	1/00	(2006.01)
A 6 1 P	5/00	(2006.01)
A 6 1 P	3/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/18	(2006.01)
A 6 1 P	29/00	(2006.01)
A 6 1 P	37/02	(2006.01)
A 6 1 P	31/00	(2006.01)
A 6 1 P	19/00	(2006.01)
A 6 1 P	13/12	(2006.01)
A 6 1 P	27/00	(2006.01)
A 6 1 P	25/04	(2006.01)
A 6 1 P	11/00	(2006.01)
A 6 1 K	45/00	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 0 7 K	19/00	(2006.01)
G 0 1 N	33/15	(2006.01)
G 0 1 N	30/02	(2006.01)
G 0 1 N	30/88	(2006.01)
G 0 1 N	30/00	(2006.01)
C 0 7 K	1/18	(2006.01)
C 4 0 B	40/10	(2006.01)

【 F I 】

C 1 2 P	21/02	C
A 6 1 K	47/42	
A 6 1 K	47/48	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	1/00	
A 6 1 P	5/00	
A 6 1 P	3/00	
A 6 1 P	31/18	
A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	31/00	

A 6 1 P	19/00	
A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	27/00	
A 6 1 P	25/04	
A 6 1 P	11/00	
A 6 1 K	45/00	
C 1 2 N	15/00	A
C 0 7 K	19/00	
G 0 1 N	33/15	Z
G 0 1 N	30/02	B
G 0 1 N	30/88	2 0 1 R
G 0 1 N	30/00	B
C 0 7 K	1/18	
C 4 0 B	40/10	

## 【手続補正書】

【提出日】平成28年2月26日(2016.2.26)

## 【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】

伸長組換えポリペプチド (XTEN) を含むポリペプチドの均質な集団を含む組成物であって、前記集団中の個別のポリペプチド分子の少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% が同一配列長を有し、前記 XTEN が、

- a. 前記 XTEN が、少なくとも 36 ~ 3000 個のアミノ酸残基を含むことと、
- b. グリシン (G)、アラニン (A)、セリン (S)、トレオニン (T)、グルタミン酸塩 (E)、およびプロリン (P) 残基の合計が、前記 XTEN の全アミノ酸残基の約 90% 超を構成することと、
- c. 前記 XTEN 配列が、(i) 前記 XTEN 配列が、前記アミノ酸がセリンでない限り同一である 3 個の隣接するアミノ酸を含有しないか、(ii) 前記 XTEN 配列の少なくとも約 80% が、非重複配列モチーフからなり、前記配列モチーフのそれぞれが少なくとも 9 個 ~ 14 個のアミノ酸残基を含み、いずれの 2 個の隣接するアミノ酸残基も、前記配列モチーフのそれぞれにおいて 2 回を超えて発生しないか、または (iii) 前記 XTEN 配列が、10 未満の部分配列スコアを有することと、
- d. 前記 XTEN 配列が、GOR アルゴリズムによって決定される 90% を超えるランダムコイル形成を有することと、
- e. 前記 XTEN 配列が、Chou - Fasman アルゴリズムによって決定される 2% 未満の らせんおよび 2% 未満の シートを有するように実質的に非反復的であることと、
- f. 前記 XTEN 配列が、TEPITOPE アルゴリズムによって分析されるとき、予測された T 細胞エピトープを欠き、前記 XTEN 配列内のエピトープについての前記 TEPITOPE アルゴリズム予測は、-6 のスコアに基づき、前記集団の前記ポリペプチドは式 II :

【化 1】

(HS) - (CS1) - (XTEN) - (CS2) - (AT1) II

の構成を有し、式中、

g . H S が、ヘルパー配列であり、

h . A T 1 が、第 1 の親和性タグであり、

i . C S 1 が、第 1 の切断配列であり、

j . C S 2 が、第 2 の切断配列であり、

k . X T E N が、前記伸長組換えポリペプチドである、

ことと、を特徴とする、組成物。

**【請求項 2】**

前記 X T E N が、表 5 に記載の配列の群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の組成物。

**【請求項 3】**

前記 X T E N 配列が、表 2 または表 3 に記載のアミノ酸の群から選択される配列に対して少なくとも約 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % の配列同一性を有する、請求項 1 に記載の組成物。

**【請求項 4】**

前記第 1 の親和性タグが、表 7 に記載の配列からなる群から選択される請求項 1 または請求項 2 に記載の組成物。

**【請求項 5】**

前記第 1 の親和性タグが、疎水性相互作用クロマトグラフィー ( H I C ) 基質、カチオン交換基質、アニオン交換基質、固定化金属イオン親和性クロマトグラフィー ( I M A C ) 基質、および固定化抗体基質からなる群から選択されるクロマトグラフィー基質に対する結合親和性を有する、請求項 4 に記載の組成物。

**【請求項 6】**

前記ヘルパー配列が、表 10 に記載の配列からなる群から選択される配列に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有する配列を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

**【請求項 7】**

前記第 1 の切断配列および前記第 2 の切断配列が、トリプシンにより切断されることができる、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

**【請求項 8】**

前記第 1 の切断配列および前記第 2 の切断配列が、独立して配列 R X または K X を含み、X は、プロリン以外の任意の L アミノ酸である、請求項 7 に記載の組成物。

**【請求項 9】**

前記第 1 の切断配列および前記第 2 の切断配列が、独立して表 8 に記載の配列からなる群から選択される、請求項 7 または請求項 8 に記載の組成物。

**【請求項 10】**

前記第 1 の切断配列および前記第 2 の切断配列が、独立して、配列 S A S R S A および S A S K S A からなる群から選択される、請求項 7 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

**【請求項 11】**

前記集団の前記ポリペプチドが、表 7 に記載の配列からなる群から選択される第 2 の親和性タグをさらに含み、前記第 2 の親和性タグが、疎水性相互作用クロマトグラフィー ( H I C ) 基質、カチオン交換基質、アニオン交換基質、固定化金属イオン親和性クロマトグラフィー ( I M A C ) 基質、および固定化抗体基質からなる群から選択されるクロマトグラフィー基質に対する結合親和性を有する、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の組成物。

**【請求項 12】**

請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の組成物に含まれるポリペプチドの均質な集団のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

**【請求項 13】**

請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチドを含むベクターを含む原核宿主細胞。

【請求項 1 4】

ポリペプチドの均質な集団を含む組成物を産生する方法であって、前記方法は、

- a . 請求項 1 3 に記載の宿主細胞を提供すること、
  - b . 前記ポリペプチドの集団を前記宿主細胞中に発現させるか、またはそれを可能にする条件下で宿主細胞を培養し、それにより、前記ポリペプチドの集団を産生すること、
  - c . 前記親和性タグを捕捉するのに有効な条件下で、クロマトグラフィー基質の上に前記発現されたポリペプチドの集団を吸着させることと、
  - d . 前記切断配列（複数可）を切断するのに有効な条件下で、トリプシンで前記組成物を処理すること、
  - e . 前記 X T E N を回収すること、
- とを含む、方法。

【請求項 1 5】

前記集団の個別のポリペプチドの少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % が、同一配列長を有する、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記クロマトグラフィー基質が、疎水性相互作用クロマトグラフィー（H I C）基質、カチオン交換基質、アニオン交換基質、固定化金属イオン親和性クロマトグラフィー（I M A C）基質、および固定化抗体基質からなる群から選択される、請求項 1 4 または請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記宿主細胞が大腸菌である、請求項 1 4 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 8】

請求項 1 4 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の方法により産生される組成物。

【請求項 1 9】

少なくとも第 1 の架橋剤の 1 つ以上の分子をさらに含み、前記第 1 の架橋剤が、表 1 3 に記載の架橋剤、表 1 5 に記載のアルキン反応物、および表 1 5 に記載のアジド反応物からなる群から選択される、請求項 1 ~ 1 1 および 1 8 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 2 0】

前記第 1 の架橋剤が、

- a . 前記 X T E N の N 末端アミノ酸残基の アミノ基、
  - b . 前記 X T E N の各システイン残基のチオール基、
- からなる群から選択される場所で、前記 X T E N に共役される、請求項 1 9 に記載の組成物。

【請求項 2 1】

前記第 1 の架橋剤が、N - マレイミド、ヨードアセチル試薬、ピリジルジスルフィド試薬、ビニルスルホン試薬、3 - プロパルギルオキシプロパン酸、（オキシエチル）n - アセチレン（n が 1 ~ 1 0）、ジベンジルシクロオクチン（D B C O）、シクロオクチン（C O T）、3 - アジド - プロピオン酸、6 - アジド - ヘキサン酸、および（オキシエチル）n - アジド（n が 1 ~ 1 0）からなる群から選択される、請求項 2 0 に記載の組成物。

【請求項 2 2】

各第 1 の架橋剤に共役された第 1 のペイロードの単一原子残基をさらに含み、前記残基が、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、請求項 2 0 または請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 2 3】

前記第 1 のペイロードが、表 1 1、1 2、1 8 および 2 1 に記載のペイロードからなる群から選択される、請求項 2 2 に記載の組成物。

【請求項 2 4】

各第 1 の架橋剤に共役された表 1 1、1 2、1 8 および 2 1 に記載のペイロードからな

る群から選択されるペイロードをさらに含む、請求項 20 または請求項 21 に記載の組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0058

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0058】

別の実施形態において、本発明は、図 117 に記載される構造を有する組成物を提供する。

本発明は、例えば、以下の項目も提供する。

(項目 1)

X T E N 配列の実質的に均質な集団を含む組成物を産生する方法であって、

a. 表 6 に記載される配列の群から選択されるアミノ酸配列であって、少なくとも 1 つの切断配列を含む、アミノ酸配列を有する少なくとも 1 つのポリペプチドを含む組成物を提供することと、

b. 前記ポリペプチド組成物を、前記切断配列を切断するのに有効な条件下で、トリプシンで処置することと、を含み、

得られた X T E N 配列の実質的に均質な集団中の個別の配列の少なくとも 95%、96%、97%、98%、または 99% が、同一配列長を有する、方法。

(項目 2)

a. 前記 X T E N 配列を、クロマトグラフィー基質の上に、前記 X T E N 配列を捕捉するのに有効であるが、プロテアーゼにはそうでない条件下で吸着させることと、

b. 前記 X T E N 配列を溶離することと、

c. 前記 X T E N 配列を回収することと、をさらに含み、前記集団の個別の分子の少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% が、同一配列長を有する、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記クロマトグラフィー基質が、アニオン交換基質である、項目 2 に記載の方法。

(項目 4)

前記アニオン交換基質が、macrocap Q、capto Q、super Q - 650 M、および poros D からなる群から選択される、項目 3 に記載の方法。

(項目 5)

前記 X T E N 配列が、表 6 に記載されるアミノ酸配列の群から選択される配列に対して少なくとも約 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の配列同一性を有する、項目 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 6)

前記 X T E N 配列が、表 2 または 3 に記載されるアミノ酸配列の群から選択される配列に対して少なくとも約 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の配列同一性を有する、項目 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 7)

項目 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法によって産生される、組成物。

(項目 8)

伸長組換えポリペプチド (X T E N) を含むポリペプチドの実質的に均質な集団を含む組成物であって、前記集団中の個別のポリペプチド分子の少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、または 95% が、同一配列長を有する、組成物。

(項目 9)

前記 X T E N が、

- a . 前記 X T E N が、約 3 6 ~ 約 3 0 0 0 個のアミノ酸残基を含むことと、
- b . グリシン ( G )、アラニン ( A )、セリン ( S )、トレオニン ( T )、グルタミン酸塩 ( E )、およびプロリン ( P ) 残基の合計が、前記 X T E N の全アミノ酸残基の約 9 0 % 超を構成することと、
- c . 前記 X T E N 配列が、( i ) 前記 X T E N 配列が、前記アミノ酸がセリンでない限り同一である 3 個の隣接するアミノ酸を含有しないか、( i i ) 前記 X T E N 配列の少なくとも約 8 0 % が、非重複配列モチーフからなり、前記配列モチーフのそれぞれが約 9 個 ~ 約 1 4 個のアミノ酸残基を含み、いずれの 2 個の隣接するアミノ酸残基も、前記配列モチーフのそれぞれにおいて 2 回を超えて発生しないか、または ( i i i ) 前記 X T E N 配列が、1 0 未満の部分列スコアを有するように、実質的に非反復的であることと、
- d . 前記 X T E N 配列が、G O R アルゴリズムによって決定される 9 0 % を超えるランダムコイル形成を有することと、
- e . 前記 X T E N 配列が、C h o u - F a s m a n アルゴリズムによって決定される 2 % 未満の らせんおよび 2 % の シートを有することと、
- f . 前記 X T E N 配列が、T E P I T O P E アルゴリズムによって分析されるとき、予測された T 細胞エピトープを欠き、前記 X T E N 配列内のエピトープについての前記 T E P I T O P E アルゴリズム予測は、- 9 のスコアに基づくことと、を特徴とする、項目 8 に記載の組成物。

( 項目 1 0 )

前記 X T E N が、表 2、表 3、表 4、および表 2 2 ~ 2 5 に記載される配列からなる群から選択される配列に対して少なくとも約 9 0 %、または少なくとも約 9 1 %、または少なくとも約 9 2 %、または少なくとも約 9 3 %、または少なくとも約 9 4 %、または少なくとも約 9 5 %、または少なくとも約 9 6 %、または少なくとも約 9 7 %、または少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % の配列同一性を有する配列を含む、項目 8 に記載の組成物。

( 項目 1 1 )

第 1 の親和性タグをさらに含む、項目 8 に記載の組成物。

( 項目 1 2 )

前記第 1 の親和性タグが、疎水性相互作用クロマトグラフィー ( H I C ) 基質、カチオン交換基質、アニオン交換基質、固定化金属イオン親和性クロマトグラフィー ( I M A C ) 基質、および固定化抗体基質からなる群から選択されるクロマトグラフィー基質に対する結合親和性を有する、項目 1 1 に記載の組成物。

( 項目 1 3 )

前記第 1 の親和性タグが、表 7 に記載される配列からなる群から選択される、項目 1 1 に記載の組成物。

( 項目 1 4 )

ヘルパー配列をさらに含む、項目 1 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

( 項目 1 5 )

前記ヘルパー配列が、表 1 0 に記載される配列からなる群から選択される配列に対して少なくとも約 9 0 %、または少なくとも約 9 1 %、または少なくとも約 9 2 %、または少なくとも約 9 3 %、または少なくとも約 9 4 %、または少なくとも約 9 5 %、または少なくとも約 9 6 %、または少なくとも約 9 7 %、または少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % の配列同一性を有する配列を含む、項目 1 4 に記載の組成物。

( 項目 1 6 )

前記ヘルパー配列が、

- a . K N P E Q A E E Q X 1 E E T ( 式中、X 1 が、独立して、S または R である )、
- b . A N P E Q A E E Q X 1 E E T ( 式中、X 1 が、独立して、S または R である )、
- c . K N P E Q A E E Q A E E Q X 1 E E T ( 式中、X 1 が、独立して、S または R で

ある)、

d.  $KX_2X_3EQAE EQAE EQX_1EET$  (式中、 $X_1$ が、独立して、SまたはRであり、 $X_2$ が、独立して、KまたはNであり、 $X_3$ が、独立して、K、N、T、Q、H、P、E、D、A、R、またはSである)、

e.  $KX_2(X_3)10QX_1EET$  (式中、 $X_1$ が、独立して、SまたはRであり、 $X_2$ が、独立して、KまたはNであり、 $X_3$ が、独立して、K、N、T、Q、H、P、E、D、A、R、またはSである)、

f.  $KX_2(X_3)7AE EQX_1EET$  (式中、 $X_1$ が、独立して、SまたはRであり、 $X_2$ が、独立して、KまたはNであり、 $X_3$ が、独立して、K、N、T、Q、H、P、E、D、A、R、またはSである)、

g.  $KX_2X_3EQE(X_3)3AE EQREET$  (式中、 $X_2$ が、独立して、KまたはNであり、 $X_3$ が、独立して、K、N、T、Q、H、P、E、D、A、R、またはSである)、

h.  $KX_2X_3EQE(X_3)3AE E(X_3)5$  (式中、 $X_2$ が、独立して、KまたはNであり、 $X_3$ が、独立して、K、N、T、Q、H、P、E、D、A、R、またはSである)、

i.  $KKQE QE KE QAEEQ(X_4X_5)2REET$  (式中、 $X_4$ が、独立して、AまたはSであり、 $X_5$ が、独立して、K、Q、またはEである) ;  $KKQE QE KE QAEEQ(X_4X_5)4REET$  (式中、 $X_4$ が、独立して、AまたはSであり、 $X_5$ が、独立して、K、Q、またはEである)、

j.  $KKQE QE KE QAEEQ(Z)4REET$  (式中、Zが、任意の天然に存在するLアミノ酸である)、

k.  $KX_2(X_3)n$  (式中、nが、10～40の整数であり、 $X_2$ が、独立して、KまたはNであり、 $X_3$ が、独立して、K、N、T、Q、H、P、E、D、A、R、またはSである)、

l.  $(X_3)n$  (式中、nが、10～50の整数であり、 $X_3$ が、独立して、K、N、T、Q、H、P、E、D、A、R、またはSである)、

m.  $KX_2QE QE KE QAEEQ(X_4X_5)nX_1EET$  (式中、nが、ゼロまたは1～10の整数であり、 $X_1$ が、独立して、SまたはRであり、 $X_2$ が、独立して、KまたはNであり、 $X_4$ が、独立して、AまたはSであり、 $X_5$ が、独立して、K、Q、またはEである)、

n.  $KX_2(X_3)n(X_4X_5)mX_1EET$  (式中、nが、5～20の整数であり、mが、ゼロまたは1～10の整数であり、 $X_1$ が、独立して、SまたはRであり、 $X_2$ が、独立して、KまたはNであり、 $X_3$ が、独立して、K、N、T、Q、H、P、E、D、A、R、またはSであり、 $X_4$ が、独立して、AまたはSであり、 $X_5$ が、独立して、K、Q、またはEである)、

o.  $KX_2(X_3)n(Z)mX_1EET$  (式中、nが、5～20の整数であり、mが、ゼロまたは1～10の整数であり、 $X_1$ が、独立して、SまたはRであり、 $X_2$ が、独立して、KまたはNであり、 $X_3$ が、独立して、K、N、T、Q、H、P、E、D、A、R、またはSであり、Zが、任意の天然に存在するLアミノ酸である) からなる群から選択される、項目14に記載の組成物。

(項目17)

第1の切断配列をさらに含み、前記第1の切断配列が、表8および表9に記載される配列からなる群から選択される、項目11～16のいずれか1項に記載の組成物。

(項目18)

前記組成物が、式I:

【化101】

(HS) - (AT1) - (CS1) - (XTEN) I

の構成を有し、式中、

- a . HS が、前記ヘルパー配列であり、
  - b . AT1 が、前記第1の親和性タグであり、
  - c . CS1 が、前記第1の切断配列であり、
  - d . XTEN が、前記伸長組換えポリペプチドである、項目17に記載の組成物。
- (項目19)

第2の切断配列をさらに含み、前記第1および前記第2の切断配列が、同じプロテアーゼによって切断されることができ、前記組成物が、式II:

**【化102】**

(HS) - (CS1) - (XTEN) - (CS2) - (AT1)    II

の構成を有し、式中、

- a . HS が、ヘルパー配列であり、
- b . AT1 が、前記第1の親和性タグであり、
- c . CS1 が、前記第1の切断配列であり、
- d . CS2 が、前記第2の切断配列であり、
- e . XTEN が、前記伸長組換えポリペプチドである、項目17に記載の組成物。

(項目20)

前記第1の親和性タグが、配列RPRPRPRPRPRPRPRまたはHHHHHHを含む、項目18または項目19に記載の組成物。

(項目21)

第2の親和性タグおよび第2の切断配列をさらに含み、前記第2の親和性タグが、前記第1の親和性タグとは異なるクロマトグラフィー基質に対する結合親和性を有し、前記クロマトグラフィー基質が、HIC基質、カチオン交換基質、アニオン交換基質、IMAC基質、および固定化抗体基質からなる群から選択され、前記第1および前記第2の切断配列が、同じプロテアーゼによって切断されることができる、項目11~17のいずれか1項に記載の組成物。

(項目22)

前記第2の親和性タグが、前記第1の親和性タグとは異なり、前記第2の親和性タグが、表7に記載される配列の群から選択される、項目21に記載の組成物。

(項目23)

前記組成物が、式III:

**【化103】**

(HS) - (AT1) - (CS1) - (XTEN) - (CS2) - (AT2)    III

I

の構成を有し、式中、

- a . HS が、前記ヘルパー配列であり、
- b . AT1 が、前記第1の親和性タグであり、
- c . CS1 が、前記第1の切断配列であり、
- d . CS2 が、前記第2の切断配列であり、
- e . XTEN が、前記伸長組換えポリペプチドであり、
- f . AT2 が、前記第2の親和性タグである、項目21または項目22に記載の組成物。

(項目24)

前記第1の親和性タグが、前記配列RPRPRPRPRPRPRPRを含み、前記第2の親和性タグが、前記配列HHHHHHを含む、項目23に記載の組成物。

(項目25)

前記第1の親和性タグが、前記配列HHHHHHを含み、前記第2の親和性タグが、前記配列RPRPRPRPRPRPRPRを含み、項目23に記載の組成物。

(項目26)



a. ポリペプチドをコードするベクターを含む宿主細胞を、発酵反応において、前記宿主細胞の粗発現産物の成分として前記ポリペプチドを発現するのに有効な条件下で培養することであって、前記コードされたポリペプチドが、X T E Nと、第1の切断配列と、第1の親和性タグとを含む、培養することと、

b. 前記粗発現産物の前記ポリペプチドを、第1のクロマトグラフィー基質の上に、前記第1の親和性タグを前記第1のクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で吸着させることと、

c. 前記ポリペプチドを溶離することと、

d. 前記集団の前記ポリペプチドの少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、または95%が、同一配列長を有する、前記ポリペプチドを回収することと、を含むプロセスによって得られたポリペプチドの実質的に均質な集団を含む、組成物。

(項目27)

前記第1のクロマトグラフィー基質が、H I C基質、カチオン交換基質、アニオン交換基質、およびI M A C基質からなる群から選択される、項目26に記載の組成物。

(項目28)

前記親和性タグが、表7に記載される親和性タグからなる群から選択される、項目26に記載の組成物。

(項目29)

前記第1のクロマトグラフィー基質が、カチオン交換であり、前記第1の親和性タグが、前記配列R P R P R P R P R P R P Rを含む、項目27に記載の組成物。

(項目30)

前記第1のクロマトグラフィー基質が、I M A Cであり、前記第1の親和性タグが、前記配列H H H H H H H Hを含む、項目27に記載の組成物。

(項目31)

前記ベクターが、項目11～19のいずれか1項に記載のポリペプチドをコードする、項目26に記載の組成物。

(項目32)

前記ベクターが、第2の切断配列および第2の親和性タグをさらにコードし、前記第1および前記第2の切断配列が、同じプロテアーゼによって切断されることができ、前記第2の親和性タグが、前記第1の親和性タグとは異なる第2のクロマトグラフィー基質に対する結合親和性を有し、前記組成物が、

a. 前記ポリペプチドを、第2のクロマトグラフィー基質の上に、前記第2の親和性タグを前記第2のクロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で吸着させることと、

b. 前記ポリペプチドを溶離することと、

c. 前記集団の前記ポリペプチドの少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、または95%が、同一配列長を有する、前記ポリペプチドを回収することと、をさらに含むプロセスによって得られる、項目26～28のいずれか1項に記載の組成物。

(項目33)

前記ベクターが、項目23に記載のポリペプチドをコードする、項目32に記載の組成物。

(項目34)

前記第1のクロマトグラフィー基質が、前記第2のクロマトグラフィー基質とは異なり、前記第1および前記第2のクロマトグラフィー基質のそれぞれが、独立して、H I C、カチオン交換、アニオン交換、およびI M A Cからなる群から選択される、項目32に記載の組成物。

(項目35)

前記第1のクロマトグラフィー基質が、カチオン交換であり、前記第1の親和性タグが、前記配列R P R P R P R P R P R P Rを含み、前記第2のクロマトグラフィー基質が、I M A Cであり、前記第1の親和性タグが、前記配列H H H H H H H Hを含む、項目32

( 項目 4 5 )

前記クロマトグラフィー基質が、カチオン交換基質、H I C基質、またはI M A C基質のうちの1つ以上である、項目42～44のいずれか1項に記載の組成物。

(項目46)

X T E N配列を含む組成物であって、前記X T E N配列が、トリプシンによって切断されることができる1つ以上の切断配列をさらに含み、前記切断配列の全てを切断するのに有効な条件下で、トリプシンを用いた処置が、X T E Nフラグメントの調製物をもたらし、各X T E Nフラグメントが、前記調製物中のあらゆる他のフラグメントに対して少なくとも約95%、96%、97%、98%、または99%の配列同一性を有する、組成物。

(項目47)

前記切断配列が、配列S A S R S AまたはS A S K S Aに対して少なくとも86%の配列同一性を有するか、または同一である、項目46に記載の組成物。

(項目48)

前記切断配列が、配列R XまたはK Xを含み、式中、Xが、プロリン以外の任意のLアミノ酸である、項目46に記載の組成物。

(項目49)

前記組成物が、表6に記載される配列の群から選択される前記配列に対して少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、項目46に記載の組成物。

(項目50)

X T E N配列を宿主細胞中で産生するための方法であって、a)前記X T E N配列と、b)ヘルパー配列とを含むポリペプチドをコードするベクターを含む宿主細胞を、発酵反応において、粗発現産物の成分として前記ポリペプチドを発現するのに有効な条件下で、約2グラム/リットル(g/L)、または約3g/L、または約4g/L、または約5g/L、または約6g/L、または約7g/Lを超える前記ポリペプチドの濃度で培養することを含む、方法。

(項目51)

X T E N配列を宿主細胞中で産生するための方法であって、a)前記X T E N配列と、b)ヘルパー配列とを含むポリペプチドをコードするベクターを含む宿主細胞を、発酵反応において、粗発現産物の成分として前記ポリペプチドを発現するのに有効な条件下で、約10ミリグラム/グラムを超える乾燥重量宿主細胞(mg/g)濃度、または少なくとも約15mg/g、もしくは少なくとも約20mg/g、もしくは少なくとも約25mg/g、もしくは少なくとも約30mg/g、もしくは少なくとも約40mg/g、もしくは少なくとも約50mg/gの前記ポリペプチドの濃度で培養することを含む、方法。

(項目52)

X T E N配列を宿主細胞中で産生するための方法であって、a)前記X T E N配列と、b)ヘルパー配列とを含むポリペプチドをコードするベクターを含む宿主細胞を、発酵反応において、粗発現産物の成分として前記ポリペプチドを発現するのに有効な条件下で、約10ミリグラム/グラムを超える乾燥重量宿主細胞(mg/g)濃度、または少なくとも約250マイクロモル/L、もしくは約300マイクロモル/L、もしくは約350マイクロモル/L、もしくは約400マイクロモル/L、もしくは約450マイクロモル/L、もしくは約500マイクロモル/Lの前記ポリペプチドの濃度で培養することを含む、方法。

(項目53)

前記発酵反応が、600nmの波長で少なくとも130の光学密度に到達するときに、前記濃度が測定される、項目50～52のいずれか1項に記載の方法。

(項目54)

前記発現されたポリペプチドの前記ヘルパー配列が、前記ポリペプチドのN末端に存在し、前記配列が、表10に記載される配列からなる群から選択される配列に対して少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、または95%の配列同一性を有するか、または同一である、項目50～52のいずれか1項に記載の方法。

( 項目 5 5 )

前記ベクターが、項目 1 4 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドをコードする、  
項目 5 4 に記載の方法。

( 項目 5 6 )

- a . 前記宿主細胞発酵反応混合物の前記粗発現産物を回収することと、
- b . 前記粗発現産物の前記ポリペプチドを、第 1 のクロマトグラフィー基質の上に、前記ポリペプチドの前記第 1 の親和性タグを前記クロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で吸着させることであって、前記第 1 のクロマトグラフィー基質が、H I C 基質、カチオン交換基質、アニオン交換基質、および I M A C 基質からなる群から選択される、吸着させることと、
- c . 前記 X T E N 配列を溶離および回収することと、をさらに含み、前記ポリペプチドの少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、または 9 5 % が、同一配列長を有する、項目 5 5 に記載の方法。

( 項目 5 7 )

前記ベクターが、項目 2 1 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドをコードする、  
項目 5 0 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 5 8 )

- a . 前記宿主細胞発酵反応混合物の前記粗発現産物を回収することと、
- b . 前記ポリペプチドを、第 1 のクロマトグラフィー基質の上に、前記ポリペプチドの前記第 1 の親和性タグを前記クロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で吸着させることであって、前記第 1 のクロマトグラフィー基質が、H I C 基質、カチオン交換基質、アニオン交換基質、および I M A C 基質からなる群から選択される、吸着させることと、
- c . 前記ポリペプチドを溶離することと、
- d . 前記ポリペプチドを、第 2 のクロマトグラフィー基質の上に、前記ポリペプチドの前記第 2 の親和性タグを前記クロマトグラフィー基質の上に捕捉するのに有効な条件下で吸着させることであって、前記第 2 のクロマトグラフィー基質が、H I C 基質、カチオン交換基質、アニオン交換基質、および I M A C 基質からなる群から選択される、吸着させることと、
- e . 前記ポリペプチドを溶離することと、
- f . 前記 X T E N 配列を回収することと、をさらに含み、前記ポリペプチドの少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、または 9 5 % が、同一配列長を有する、項目 5 7 に記載の方法。

( 項目 5 9 )

- a . 前記ポリペプチドを、前記切断配列を切断するのに有効な条件下で、プロテアーゼで処置し、それにより前記 X T E N を前記ポリペプチドから遊離させることと、
- b . 前記 X T E N を、アニオンクロマトグラフィー基質の上に、前記 X T E N を捕捉するのに有効な条件下で吸着させることと、
- c . 前記 X T E N を溶離することと、
- d . 前記 X T E N を回収することと、をさらに含み、前記個別の X T E N 分子の少なくとも 9 0 %、または少なくとも 9 1 %、または少なくとも 9 2 %、または少なくとも 9 3 %、または少なくとも 9 4 %、または少なくとも 9 5 % が、同一配列長を有する、項目 5 6 または項目 5 8 に記載の方法。

( 項目 6 0 )

前記アニオンクロマトグラフィー基質が、m a c r o c a p Q、c a p t o Q、s u p e r Q - 6 5 0 M、および p o r o s D からなる群から選択される、項目 5 9 に記載の方法。

( 項目 6 1 )

前記プロテアーゼがトリプシンであり、前記配列が、表 8 に記載される配列からなる群から選択される、項目 5 9 または項目 6 0 に記載の方法。

( 項目 6 2 )

a . 前記ポリペプチドを、前記切断配列 ( 複数可 ) を切断するのに有効な条件下で、プロテアーゼで処置し、それにより前記 X T E N を前記ポリペプチドから遊離させることと

、  
b . 前記プロテアーゼを、クロマトグラフィー基質の上に、前記プロテアーゼを捕捉するのに有効であるが、前記 X T E N にはそうではない条件下で吸着させることと、

c . 前記溶離液中の前記 X T E N を回収することと、をさらに含み、前記 X T E N の少なくとも 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、または 9 5 % が、同一配列長を有する、項目 5 6 または項目 5 8 に記載の方法。

( 項目 6 3 )

前記プロテアーゼがトリプシンであり、前記配列が、表 8 に記載される配列からなる群から選択される、項目 6 2 に記載の方法。

( 項目 6 4 )

前記クロマトグラフィー基質が、H I C 基質、カチオン交換基質、および I M A C 基質のうちの 1 つ以上である、項目 6 2 または項目 6 3 に記載の方法。

( 項目 6 5 )

上に固定化された実質的に同一のポリペプチドの集団を含む、固体支持体であり、前記固体支持体が、クロマトグラフィー基質を含み、前記固定化されたポリペプチドが、それぞれ、X T E N 、第 1 の親和性タグ、および第 2 の親和性タグを含み、

a . 前記第 1 の親和性タグが、前記 X T E N の前記 N 末端における切断配列によって、前記 X T E N に接合され、

b . 前記第 2 の親和性タグが、前記 X T E N の前記 C 末端における切断配列によって、前記 X T E N に接合され、

c . 前記第 2 の親和性タグが、前記第 1 の親和性タグとは異なり、

d . 前記クロマトグラフィー基質が、双方にではないが、前記第 1 または前記第 2 の親和性タグのいずれかに結合することができ、

e . 前記固定化ポリペプチド分子の少なくとも 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、または 9 5 % が、同一配列長を有する、固体支持体。

( 項目 6 6 )

前記固定化ポリペプチド分子が、項目 2 1 ~ 2 5 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドを含む、項目 6 5 に記載の固定支持体。

( 項目 6 7 )

前記切断配列が、配列 S A S R S A または S A S K S A に対して少なくとも 8 6 % の配列同一性を有するか、または同一である、項目 6 5 または項目 6 6 に記載の固定支持体。

( 項目 6 8 )

前記切断配列が、配列 R X または K X を含み、式中、X が、プロリン以外の任意の L アミノ酸である、項目 6 5 または項目 6 6 に記載の固体支持体。

( 項目 6 9 )

前記固体支持体が、H I C クロマトグラフィー樹脂、カチオン交換樹脂、アニオン交換クロマトグラフィー樹脂、および I M A C クロマトグラフィー樹脂からなる群から選択される、項目 6 5 ~ 6 8 のいずれか 1 項に記載の固体支持体。

( 項目 7 0 )

前記第 1 の親和性タグが、前記配列 R P R P R P R P R P R P R P R を含み、前記第 2 の親和性タグが、前記配列 H H H H H H を含む、項目 6 9 に記載の組成物。

( 項目 7 1 )

前記第 1 の親和性タグが、前記配列 H H H H H H を含み、前記第 2 の親和性タグが、前記配列 R P R P R P R P R P R P R P R を含む、項目 6 9 に記載の組成物。

( 項目 7 2 )

少なくとも第 1 の架橋剤の 1 つ以上の分子に共有結合した X T E N を含む共役組成物であって、前記架橋剤が、表 1 3 に記載される架橋剤、表 1 5 に記載されるアルキン反応物

、および表 15 に記載されるアジド反応物からなる群から選択され、前記 X T E N が、項目 37 に記載の X T E N、項目 42 に記載の X T E N、項目 7 に記載の X T E N、表 2 に記載される配列、および表 3 に記載される配列からなる群から選択される、共役組成物。

(項目 73)

前記第 1 の架橋剤が、

- a . 前記 X T E N の N 末端アミノ酸残基の アミノ基、
- b . 前記 X T E N の各リジン残基の アミノ基、
- c . 前記 X T E N の各システイン残基のチオール基、からなる群から選択される場所で、前記少なくとも第 1 の X T E N に共役される、項目 72 に記載の共役組成物。

(項目 74)

前記 X T E N が、表 2 および表 3 に記載される配列からなる群から選択される配列に対して少なくとも約 90 %、または少なくとも約 91 %、または少なくとも約 92 %、または少なくとも約 93 %、または少なくとも約 94 %、または少なくとも約 95 %、または少なくとも約 96 %、または少なくとも約 97 %、または少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 %、または 100 % の配列同一性を有する、項目 72 または項目 73 に記載の共役組成物。

(項目 75)

前記 X T E N が、A E 144、A E 288、A E 432、A E 576、A E 864、セグメント 174、セグメント 175、セグメント 176、セグメント 177、セグメント 186、セグメント 187、セグメント 188、セグメント 189、セグメント 190、セグメント 191、セグメント 192、セグメント 193、セグメント 194、セグメント 195、セグメント 196、セグメント 197、セグメント 198、およびセグメント 199 からなる群から選択され、前記架橋剤が、前記 X T E N の前記 N 末端アミノ酸の前記 アミノ基に共役される、項目 74 に記載の共役組成物。

(項目 76)

前記 X T E N が、表 3 に記載されるセグメント 174、セグメント 175、セグメント 176、セグメント 177、セグメント 186、セグメント 187、セグメント 188、セグメント 189、セグメント 190、セグメント 191、セグメント 192、セグメント 193、セグメント 194、セグメント 195、セグメント 196、セグメント 197、セグメント 198、およびセグメント 199 からなる群から選択され、前記架橋剤が、前記 X T E N の各システイン残基の前記チオール基に共役される、項目 74 に記載の共役組成物。

(項目 77)

前記第 1 の架橋剤が、N - マレイミド、ヨードアセチル試薬、ピリジルジスルフィド試薬、ビニルスルホン試薬、3 - プロパルギルオキシプロパン酸、(オキシエチル) n - アセチレン (n が 1 ~ 10)、ジベンジルシクロオクチン (D B C O)、シクロオクチン (C O T)、3 - アジド - プロピオン酸、6 - アジド - ヘキサン酸、および (オキシエチル) n - アジド (n が 1 ~ 10) からなる群から選択される、項目 72 ~ 76 のいずれか 1 項に記載の共役体。

(項目 78)

前記第 1 の架橋剤が、前記 X T E N の各システイン残基の前記チオール基に共役され、前記共役体が、前記 X T E N の前記 N 末端アミノ酸の前記 アミノ基に共役された第 2 の架橋剤をさらに含み、前記架橋剤が、表 13 に記載される架橋剤、表 15 に記載のアルキン反応物、および表 15 に記載のアジド反応物からなる群から選択される、項目 76 に記載の共役組成物。

(項目 79)

式 V :

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、

- a . C L 1 が、前記 X T E N のシステイン残基に共役された前記第 1 の架橋剤であり、
- b . C L 2 が、前記 N 末端において X T E N に共役された前記第 2 の架橋剤であり、

c.  $x$  が、1 ~ 約 10 の整数であり、

d.  $y$  が整数 1 であるが、但し、 $x + y > 2$  を条件とし、

e. X T E N が、 $x$  個のシステイン残基を含むシステイン操作された X T E N である、  
項目 78 に記載の共役組成物。

(項目 80)

各第 1 の架橋剤に共役された第 1 のペイロードの単一原子残基をさらに含み、前記残基が、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、項目 72 ~ 77 のいずれか 1 項に記載の共役組成物。

(項目 81)

前記単一原子残基の前記第 1 のペイロードが、表 6、7、18、および 21 に記載されるペイロードからなる群から選択される、項目 80 に記載の共役組成物。

(項目 82)

各第 1 の架橋剤に共役された表 6、7、18、および 21 に記載されるペイロードからなる群から選択されるペイロードをさらに含む、項目 72 ~ 77 のいずれか 1 項に記載の共役組成物。

(項目 83)

第 1 の架橋剤のそれぞれに共役された第 1 のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、前記第 2 の架橋剤に共役された第 2 のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される残基と、をさらに含む、項目 78 または項目 79 に記載の共役組成物。

(項目 84)

前記単一原子残基の前記第 1 のペイロードが、表 6、7、18、および 21 に記載されるペイロードからなる群から選択され、前記単一原子残基の前記第 2 のペイロードが、前記第 1 のペイロードとは異なるペイロードであり、表 6、7、18、および 21 に記載されるペイロードからなる群から選択される、項目 83 に記載の共役組成物。

(項目 85)

前記第 1 の架橋剤のそれぞれに共役された第 1 のペイロードであって、表 6、7、18、および 21 に記載されるペイロードからなる群から選択される、第 1 のペイロードと、前記第 2 の架橋剤に共役された前記第 1 のペイロードとは異なる第 2 のペイロードであって、表 6、7、18、および 21 に記載されるペイロードからなる群から選択される、第 2 のペイロードと、をさらに含む、項目 78 または項目 79 に記載の共役組成物。

(項目 86)

前記第 1 の架橋剤のそれぞれに共役された第 1 のペイロードであって、表 21 の薬物部分からなる群から選択される、第 1 のペイロードと、前記第 2 の架橋剤に共役された前記第 1 のペイロードとは異なる第 2 のペイロードであって、表 21 の標的部分からなる群から選択される、第 2 のペイロードと、をさらに含む、項目 78 または項目 79 に記載の共役組成物。

(項目 87)

前記第 2 のペイロードが、表 15 の反応物からなる群から選択される、アルキン反応物とアジド反応物との反応によって共役された前記第 2 の架橋剤によって、前記 X T E N の前記 N 末端に結合される、項目 85 または項目 86 に記載の共役組成物。

(項目 88)

少なくとも第 1 および第 2 の X T E N を含む、共役組成物であって、前記 X T E N が、同じであるか、または異なり、それぞれが項目 37 に記載の X T E N、項目 42 に記載の X T E N、項目 7 に記載の X T E N、および表 3 に記載される配列からなる群から選択され、前記第 1 および前記第 2 の X T E N が、前記第 1 および前記第 2 の X T E N の前記 N 末端によって、表 15 の反応物からなる群から選択されるアルキン反応物とアジド反応物との反応によって形成された架橋剤を用いて互いに共役される、共役組成物。

(項目 89)

前記第 1 の X T E N および前記第 2 の X T E N が異なり、それぞれが独立して、表 3 に

記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約 90 %、または少なくとも約 91 %、または少なくとも約 92 %、または少なくとも約 93 %、または少なくとも約 94 %、または少なくとも約 95 %、または少なくとも約 96 %、または少なくとも約 97 %、または少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 %、または 100 % の配列同一性を有する、項目 88 に記載の共役組成物。

(項目 90)

前記第 1 の X T E N が、表 3 に記載されるセグメント 174、セグメント 175、セグメント 176、セグメント 177、セグメント 186、セグメント 187、セグメント 188、セグメント 189、セグメント 190、セグメント 191、セグメント 192、セグメント 193、セグメント 194、セグメント 195、セグメント 196、セグメント 197、セグメント 198、およびセグメント 199 からなる配列の群から選択される配列に対して少なくとも約 90 %、または少なくとも約 91 %、または少なくとも約 92 %、または少なくとも約 93 %、または少なくとも約 94 %、または少なくとも約 95 %、または少なくとも約 96 %、または少なくとも約 97 %、または少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 %、または 100 % の配列同一性を有し、前記第 2 の X T E N が、表 3 に記載されるセグメント 174、セグメント 175、セグメント 176、セグメント 177、セグメント 186、セグメント 187、セグメント 188、セグメント 189、セグメント 190、セグメント 191、セグメント 192、セグメント 193、セグメント 194、セグメント 195、セグメント 196、セグメント 197、セグメント 198、およびセグメント 199 からなる配列の群から選択される異なる配列に対して少なくとも約 90 %、または少なくとも約 91 %、または少なくとも約 92 %、または少なくとも約 93 %、または少なくとも約 94 %、または少なくとも約 95 %、または少なくとも約 96 %、または少なくとも約 97 %、または少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 %、または 100 % の配列同一性を有する、項目 89 に記載の共役組成物。

(項目 91)

前記第 1 の X T E N および前記第 2 の X T E N が、同じであり、それぞれが、表 3 に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約 90 %、または少なくとも約 91 %、または少なくとも約 92 %、または少なくとも約 93 %、または少なくとも約 94 %、または少なくとも約 95 %、または少なくとも約 96 %、または少なくとも約 97 %、または少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 %、または 100 % の配列同一性を有する、項目 88 に記載の共役組成物。

(項目 92)

前記第 1 の X T E N および前記第 2 の X T E N が、それぞれ、表 3 に記載されるセグメント 174、セグメント 175、セグメント 176、セグメント 177、セグメント 186、セグメント 187、セグメント 188、セグメント 189、セグメント 190、セグメント 191、セグメント 192、セグメント 193、セグメント 194、セグメント 195、セグメント 196、セグメント 197、セグメント 198、およびセグメント 199 からなる配列の群から選択される配列に対して少なくとも約 90 %、または少なくとも約 91 %、または少なくとも約 92 %、または少なくとも約 93 %、または少なくとも約 94 %、または少なくとも約 95 %、または少なくとも約 96 %、または少なくとも約 97 %、または少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 %、または 100 % の配列同一性を有する、項目 91 に記載の共役組成物。

(項目 93)

前記第 1 および前記第 2 の X T E N が、それぞれ、1 つ以上のシステイン残基を含み、前記第 1 の X T E N の各システイン残基に共役された第 1 の架橋剤と、前記第 2 の X T E N の各システイン残基に共役された第 2 の架橋剤と、をさらに含み、前記第 1 および前記第 2 の架橋剤が、独立して、表 13 に記載される架橋剤からなる群から選択される、項目 88 ~ 92 のいずれか 1 項に記載の共役組成物。

(項目 94)

前記第 1 および前記第 2 の X T E N が、それぞれ、1 つ以上のリジン残基を含み、前記



共役体の第 1 および / または前記第 2 の X T E N の各リジン残基に共役された架橋剤をさらに含み、前記架橋剤が、表 1 3 に記載される架橋剤からなる群から選択される、項目 8 8 ~ 9 2 のいずれか 1 項に記載の共役組成物。

(項目 9 5 )

前記第 1 の X T E N の各架橋剤に共役された第 1 のペイロードの単一原子残基をさらに含み、前記残基が、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択され、前記第 2 の X T E N の各架橋剤に共役された第 2 のペイロードの単一原子残基であって、前記残基が、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、項目 9 3 または項目 9 4 に記載の共役組成物。

(項目 9 6 )

前記単一原子残基の前記第 1 のペイロードが、表 6、7、1 8、および 2 1 に記載されるペイロードからなる群から選択され、前記単一原子残基の前記第 2 のペイロードが、前記第 1 のペイロードとは異なるペイロードであり、表 6、7、1 8、および 2 1 に記載されるペイロードからなる群から選択される、項目 9 5 に記載の共役組成物。

(項目 9 7 )

前記第 1 の X T E N の各架橋剤に共役された第 1 のペイロードをさらに含み、前記第 1 のペイロードが、表 6、7、1 8、および 2 1 に記載されるペイロードからなる群から選択され、前記第 1 のペイロードとは異なる第 2 のペイロードをさらに含み、前記第 2 のペイロードが、表 6、7、1 8、および 2 1 に記載されるペイロードからなる群から選択される、項目 9 3 または項目 9 4 に記載の共役組成物。

(項目 9 8 )

前記第 1 の X T E N の各架橋剤に共役された第 1 のペイロードをさらに含み、前記第 1 のペイロードが、表 1 8 に記載される標的部分からなる群から選択され、前記第 1 のペイロードとは異なる第 2 のペイロードをさらに含み、前記第 2 のペイロードが、表 1 8 に記載される毒素の群から選択される、項目 9 3 または項目 9 4 に記載の共役組成物。

(項目 9 9 )

前記第 1 の X T E N の各架橋剤に共役された第 1 のペイロードをさらに含み、前記第 1 のペイロードが、表 2 1 に記載される標的部分からなる群から選択され、前記第 1 のペイロードとは異なる第 2 のペイロードをさらに含み、前記第 2 のペイロードが、表 2 1 に記載される毒素の群から選択される、項目 9 3 または項目 9 4 に記載の共役組成物。

(項目 1 0 0 )

前記第 1 の X T E N が、表 3 のセグメント 1 7 6 であり、前記第 2 の X T E N が、表 3 に記載されるセグメント 1 7 6 およびセグメント 1 7 7 からなる群から選択される、項目 9 9 に記載の共役組成物。

(項目 1 0 1 )

少なくとも第 1 の X T E N、第 2 の X T E N、および第 3 の X T E N を含む、共役組成物であって、前記 X T E N が、それぞれ、独立して、項目 3 7 に記載の X T E N、項目 4 2 に記載の X T E N、項目 7 に記載の X T E N、および表 3 に記載の配列からなる群から選択され、前記第 1 および前記第 2 および前記第 3 の X T E N が、表 1 3 または表 1 4 に記載される三価架橋剤からなる群から選択される三価架橋剤を使用し、前記 N 末端で互いに共役される、共役組成物。

(項目 1 0 2 )

前記三価架橋剤が、トリス - ( 2 - マレイミドエチル ) アミン ( T M E A ) およびアミン反応性トリス - ( スクシンイミジルアミノトリアセテート ( T S A T ) からなる群から選択される、項目 1 0 0 に記載の共役組成物。

(項目 1 0 3 )

前記第 1、前記第 2、および前記第 3 の X T E N が、同一であり、それぞれが、表 3 に記載されるセグメント 1 7 4、セグメント 1 7 5、セグメント 1 7 6、セグメント 1 7 7、セグメント 1 8 6、セグメント 1 8 7、セグメント 1 8 8、セグメント 1 8 9、セグメント 1 9 0、セグメント 1 9 1、セグメント 1 9 2、セグメント 1 9 3、セグメント 1 9

4、セグメント195、セグメント196、セグメント197、セグメント198、およびセグメント199からなる群から選択される配列に対して少なくとも約90%、または少なくとも約91%、または少なくとも約92%、または少なくとも約93%、または少なくとも約94%、または少なくとも約95%、または少なくとも約96%、または少なくとも約97%、または少なくとも約98%、または少なくとも約99%、または100%の配列同一性を有する、項目100～102のいずれか1項に記載の共役組成物。

(項目104)

前記第1および前記第2のXTENが、同じであり、それぞれが、表3に記載されるセグメント174、セグメント175、セグメント176、セグメント177、セグメント186、セグメント187、セグメント188、セグメント189、セグメント190、セグメント191、セグメント192、セグメント193、セグメント194、セグメント195、セグメント196、セグメント197、セグメント198、およびセグメント199からなる群から選択される配列に対して少なくとも約90%、または少なくとも約91%、または少なくとも約92%、または少なくとも約93%、または少なくとも約94%、または少なくとも約95%、または少なくとも約96%、または少なくとも約97%、または少なくとも約98%、または少なくとも約99%、または100%の配列同一性を有し、前記第3のXTENが、前記第1および前記第2のXTENとは異なり、表3に記載されるセグメント174、セグメント175、セグメント176、セグメント177、セグメント186、セグメント187、セグメント188、セグメント189、セグメント190、セグメント191、セグメント192、セグメント193、セグメント194、セグメント195、セグメント196、セグメント197、セグメント198、およびセグメント199からなる群から選択される配列に対して少なくとも約90%、または少なくとも約91%、または少なくとも約92%、または少なくとも約93%、または少なくとも約94%、または少なくとも約95%、または少なくとも約96%、または少なくとも約97%、または少なくとも約98%、または少なくとも約99%、または100%の配列同一性を有する、項目100～102のいずれか1項に記載の共役組成物。

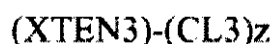
(項目105)

前記共役体が、前記第1のXTENの各システイン残基に共役された第1の架橋剤と、前記第2のXTENの各システイン残基に共役された第2の架橋剤と、前記第3のXTENの各システイン残基に共役された第3の架橋剤と、をさらに含み、前記架橋剤が、表13に記載される架橋剤からなる群から選択される、項目103または項目104に記載の共役組成物。

(項目106)

式XII:

【化104】



XII

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、

- a. 3xCLが、前記三価架橋剤であり、
- b. CL1が、XTEN1に共役された前記第1の架橋剤であり、
- c. CL2が、XTEN2に共役された前記第2の架橋剤であり、
- d. CL3が、XTEN3に共役された前記第3の架橋剤であり、
- e. xが、1～約10の整数であり、
- f. yが、1～約10の整数であり、
- g. zが、1～約10の整数であるが、但し、 $x + y > 3$ を条件とし、
- h. XTEN1が、前記第1のXTENであり、

i . X T E N 2 が、前記第 2 の X T E N であり、

j . X T E N 3 が、前記第 3 の X T E N である、項目 1 0 5 に記載の共役組成物。

( 項目 1 0 7 )

a . 前記第 1 の X T E N の各第 1 の架橋剤に共役された第 1 のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、

b . 前記第 2 の X T E N の各第 2 の架橋剤に共役された第 2 のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、

c . 前記第 3 の X T E N の各第 3 の架橋剤に共役された第 3 のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、をさらに含む、項目 1 0 5 または項目 1 0 6 に記載の共役組成物。

( 項目 1 0 8 )

a . 表 6、7、1 8、および 2 1 に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第 1 の X T E N の各第 1 の架橋剤に共役された第 1 のペイロードと、

b . 表 6、7、1 8、および 2 1 に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第 2 の X T E N の各第 2 の架橋剤に共役された第 2 のペイロードと、

c . 表 6、7、1 8、および 2 1 に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第 3 の X T E N の各第 3 の架橋剤に共役された第 3 のペイロードと、をさらに含む、項目 1 0 5 または項目 1 0 6 に記載の共役組成物。

( 項目 1 0 9 )

前記第 1 のペイロードが、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的部分であり、前記標的部分が、表 1 7 ~ 1 9 および 2 1 に記載される標的部分からなる群から選択され、前記第 2 および前記第 3 のペイロードが、同じであり得るか、または異なり得る薬物であり、前記薬物が、表 6、表 1 8、および表 2 1 に記載される薬物からなる群から選択される、項目 1 0 8 に記載の共役組成物。

( 項目 1 1 0 )

前記標的部分が、L H R H および葉酸からなる群から選択され、前記薬物が、ドキソルビシン、パクリタキセル、オーリスタチン、モノメチルオーリスタチン E ( M M A E )、モノメチルオーリスタチン F、メイタンシン、ドラスタチン、カリケアミシン、ピンカアルカロイド、カンプトテシン、ミトマイシン C、エボチロン、h T N F、I 1 - 1 2、ボルテゾミブ、ランビルナーゼ、スードモナス、エキソトキシン、S N - 3 8、およびラケルマイシンからなる群から選択される、項目 1 0 9 に記載の共役組成物。

( 項目 1 1 1 )

前記標的部分、および前記薬物部分が、表 2 1 に記載される共役体 1 ~ 2 9 0 のうちのいずれか 1 つに対応する、項目 1 0 8 に記載の共役組成物。

( 項目 1 1 2 )

前記共役体が、前記 X T E N、前記標的部分、および表 2 1 の共役体 7 1 に対応する前記薬物部分を有する、項目 1 1 1 に記載の共役組成物。

( 項目 1 1 3 )

少なくとも第 1 および第 2 および第 3 および第 4 の X T E N を含む共役組成物であって、前記 X T E N が、項目 3 7 に記載の X T E N、項目 4 2 に記載の X T E N、項目 7 に記載の X T E N、および表 3 に記載される配列からなる群から選択され、前記 X T E N が、同じであり得るか、または異なり得、前記第 1 および前記第 2 および前記第 3 および前記第 4 の X T E N が、四価架橋剤を使用し、前記 N 末端によって互いに共役され、前記四価架橋剤が、四価マレイミドクラスターである、共役組成物。

( 項目 1 1 4 )

前記第 1、前記第 2、前記第 3、および前記第 4 の X T E N が、同じであり、それぞれが、表 3 に記載される、セグメント 1 7 4、セグメント 1 7 5、セグメント 1 7 6、セグメント 1 7 7、セグメント 1 8 6、セグメント 1 8 7、セグメント 1 8 8、セグメント 1 8 9、セグメント 1 9 0、セグメント 1 9 1、セグメント 1 9 2、セグメント 1 9 3、セグメント 1 9 4、セグメント 1 9 5、セグメント 1 9 6、セグメント 1 9 7、セグメント

198、およびセグメント199からなる群から選択される配列に対して少なくとも約90%、または少なくとも約91%、または少なくとも約92%、または少なくとも約93%、または少なくとも約94%、または少なくとも約95%、または少なくとも約96%、または少なくとも約97%、または少なくとも約98%、または少なくとも約99%、または100%の配列同一性を有する、項目113に記載の共役組成物。

(項目115)

前記第1および前記第2のXTENが、同じであり、それぞれが、表3に記載されるセグメント174、セグメント175、セグメント176、セグメント177、セグメント186、セグメント187、セグメント188、セグメント189、セグメント190、セグメント191、セグメント192、セグメント193、セグメント194、セグメント195、セグメント196、セグメント197、セグメント198、およびセグメント199からなる群から選択される配列に対して少なくとも約90%、または少なくとも約91%、または少なくとも約92%、または少なくとも約93%、または少なくとも約94%、または少なくとも約95%、または少なくとも約96%、または少なくとも約97%、または少なくとも約98%、または少なくとも約99%、または100%の配列同一性を有し、前記第3および前記第4のXTENが、同じであるが、前記第1および前記第2のXTENとは異なり、それぞれが、表3に記載されるセグメント174、セグメント175、セグメント176、セグメント177、セグメント186、セグメント187、セグメント188、セグメント189、セグメント190、セグメント191、セグメント192、セグメント193、セグメント194、セグメント195、セグメント196、セグメント197、セグメント198、およびセグメント199からなる群から選択される配列に対して少なくとも約90%、または少なくとも約91%、または少なくとも約92%、または少なくとも約93%、または少なくとも約94%、または少なくとも約95%、または少なくとも約96%、または少なくとも約97%、または少なくとも約98%、または少なくとも約99%、または100%の配列同一性を有する、項目113のいずれか1項に記載の共役組成物。

(項目116)

前記共役体が、前記第1のXTENの各システイン残基に共役された第1の架橋剤と、前記第2のXTENの各システイン残基に共役された第2の架橋剤と、前記第3のXTENの各システイン残基に共役された第3の架橋剤と、前記第4のXTENの各システイン残基に共役された第4の架橋剤と、をさらに含み、各架橋剤が、表13に記載される架橋剤からなる群から選択される、項目114または項目115に記載の共役組成物。

(項目117)

式XIV

【化105】

(CL1)<sub>v</sub>-(XTEN1)-4xCL-(XTEN2)-(CL2)<sub>x</sub>

Λ

(CL3)<sub>y</sub>-(XTEN3) (XTEN4)-(CL4)<sub>z</sub>

XIV

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、

- a. 4xCLが、前記四価架橋剤であり、
- b. CL1が、XTEN1に共役された前記第1の架橋剤であり、
- c. CL2が、XTEN2に共役された前記第2の架橋剤であり、
- d. CL3が、XTEN3に共役された前記第3の架橋剤であり、
- e. CL4が、XTEN4に共役された前記第4の架橋剤であり、
- f. vが、1～約10の整数であり、
- g. xが、1～約10の整数であり、
- h. yが、1～約10の整数であり、
- i. zが、1～約10の整数であるが、但し、 $x + y > 4$ を条件とし、

j . X T E N 1 が、前記第 1 の X T E N であり、  
 k . X T E N 2 が、前記第 2 の X T E N であり、  
 l . X T E N 3 が、前記第 3 の X T E N であり、  
 m . X T E N 4 が、前記第 4 の X T E N である、項目 1 1 6 のいずれか 1 項に記載の共役組成物。

( 項目 1 1 8 )

a . 前記第 1 の X T E N の各第 1 の架橋剤に共役された第 1 のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、  
 b . 前記第 2 の X T E N の各第 2 の架橋剤に共役された第 2 のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、  
 c . 前記第 3 の X T E N の各第 3 の架橋剤に共役された第 3 のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、  
 d . 前記第 4 の X T E N の各第 4 の架橋剤に共役された第 4 のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、をさらに含む、項目 1 1 6 または項目 1 1 7 に記載の共役組成物。

( 項目 1 1 9 )

a . 表 6、7、18、および 21 に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第 1 の X T E N の各第 1 の架橋剤に共役された第 1 のペイロードと、  
 b . 表 6、7、18、および 21 に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第 2 の X T E N の各第 2 の架橋剤に共役された第 2 のペイロードであって、前記第 1 のペイロードと同じであるか、または異なる、ペイロードと、  
 c . 表 6、7、18、および 21 に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第 3 の X T E N の各第 3 の架橋剤に共役された第 3 のペイロードであって、前記第 1 または前記第 2 のペイロードと同じであるか、または異なる、ペイロードと、  
 d . 表 6、7、18、および 21 に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第 4 の X T E N の各第 4 の架橋剤に共役された第 4 のペイロードであって、前記第 1 または前記第 2 または前記第 3 のペイロードと同じであるか、または異なる、ペイロードと、をさらに含む、項目 1 1 6 または項目 1 1 7 に記載の共役組成物。

( 項目 1 2 0 )

前記第 1 のペイロードが、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的部分であり、前記標的部分が、表 1 7 ~ 1 9 および 2 1 に記載される標的部分からなる群から選択され、前記第 2、第 3、および第 4 のペイロードのうちの少なくとも他の 1 つが、薬物であり、前記薬物が、表 6、表 1 8、および表 2 1 に記載される薬物からなる群から選択される、項目 1 1 9 に記載の共役組成物。

( 項目 1 2 1 )

前記標的部分が、L H R H および葉酸からなる群から選択され、前記薬物が、ドキソルビシン、パクリタキセル、オーリスタチン、メイタンシン、ドラスタチン、カリケアミシン、ピンカアルカロイド、カンプトテシン、ミトマイシン C、エボチロン、h T N F、I 1 - 1 2、ボルテゾミブ、ランビルナーゼ、スードモナス、エキソトキシン、S N - 3 8、およびラケルマイシンからなる群から選択される、項目 1 2 0 に記載の共役組成物。

( 項目 1 2 2 )

前記第 1 のペイロードが、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的部分であり、前記標的部分が、表 1 7 ~ 1 9 および 2 1 に記載される標的部分からなる群から選択され、前記第 2、第 3、および第 4 のペイロードのうちの少なくとも他の 1 つが、薬物であり、前記薬物が、表 6、表 1 8、および表 2 1 に記載される薬物からなる群から選択され、前記 X T E N、前記標的部分、および前記薬物部分が、表 2 1 に記載される共役体 1 ~ 2 9 0 のうちのいずれか 1 つに対応する、項目 1 1 9 に記載の共役組成物。

( 項目 1 2 3 )

式 X V I :

【化 1 0 6】

(CL1)x-(XTEN1)-3xCL-(XTEN2)-(CL2)y

(XTEN3)

XVI

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、

- a. 3 x C L が、前記三価架橋剤であり、
- b. C L 1 が、X T E N 1 に共役された前記第 1 の架橋剤であり、
- c. C L 2 が、X T E N 2 に共役された前記第 2 の架橋剤であり、
- d. x が、1 ~ 約 1 0 の整数であり、
- e. y が整数 1 ~ 約 1 0 であるが、但し、 $x + y > 2$  を条件とし、
- f. X T E N 1 が、前記第 1 の X T E N であり、
- g. X T E N 2 が、前記第 2 の X T E N であり、
- h. X T E N 3 が、前記第 3 の X T E N であり、前記 X T E N が、表 2 に記載される配列からなる群から選択される、項目 1 0 1 に記載の共役組成物。

(項目 1 2 4)

- a. 前記第 1 の X T E N の各第 1 の架橋剤に共役された第 1 のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、
- b. 前記第 2 の X T E N の各第 2 の架橋剤に共役された第 2 のペイロードの単一原子残基であって、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、残基と、をさらに含む、項目 1 2 3 に記載の共役組成物。

(項目 1 2 5)

- a. 表 6、7、1 8、および 2 1 に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第 1 の X T E N の各第 1 の架橋剤に共役された第 1 のペイロードと、
- b. 表 6、7、1 8、および 2 1 に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第 2 の X T E N の各第 2 の架橋剤に共役された第 2 のペイロードであって、前記第 1 のペイロードと同じであるか、または異なる、ペイロードと、をさらに含む、項目 1 2 3 に記載の共役組成物。

(項目 1 2 6)

前記第 1 のペイロードが、標的に対する特異的結合親和性を持つ標的部分であり、前記標的部分が、表 1 7 ~ 1 9 および 2 1 に記載される標的部分からなる群から選択され、前記第 2 のペイロードが、同じであり得るか、または異なり得る薬物であり、前記薬物が、表 6、表 1 8、および表 2 1 に記載される薬物からなる群から選択される、項目 1 2 5 に記載の共役組成物。

(項目 1 2 7)

前記標的部分が、L H R H および葉酸からなる群から選択され、前記薬物が、ドキソルビシン、パクリタキセル、オーリスタチン、モノメチルオーリスタチン E (M M A E)、モノメチルオーリスタチン F、メイタンシン、ドラスタチン、カリケアミシン、ピンカアルカロイド、カンプトテシン、ミトマイシン C、エボチロン、h T N F、I 1 - 1 2、ボルテゾミブ、ランビルナーゼ、スードモナス、エキソトキシン、S N - 3 8、およびラケルマイシンからなる群から選択される、項目 1 2 6 に記載の共役組成物。

(項目 1 2 8)

前記第 1 のペイロードが、表 1 1 の薬物および表 1 2 のタンパク質からなる群から選択され、前記第 2 のペイロードが、前記第 1 のペイロードとは異なり、表 1 1 の薬物および表 1 2 のタンパク質からなる群から選択される、項目 1 2 5 に記載の共役組成物。

(項目 1 2 9)

前記第 1 のペイロードおよび前記第 2 のペイロードが、同一であり、表 1 1 の薬物および表 1 2 のタンパク質からなる群から選択される、項目 1 2 5 に記載の共役組成物。

(項目 1 3 0)

式 X X V I I :

【化 1 0 7】

(CL1)x-(XTEN1)-3xCL-(XTEN2)

|  
(XTEN3)                      XVII

の構成を有し、式中、独立して、各発生に対し、

a .    3 x C L が、前記三価架橋剤であり、

b .    C L 1 が、X T E N 1 に共役された前記第 1 の架橋剤であり、

c .    x が、1 ~ 約 1 0 の整数であり、

d .    X T E N 1 が、前記第 1 の X T E N であり、前記 X T E N が、表 3 に記載される配列からなる群から選択され、

e .    X T E N 2 が、前記第 2 の X T E N であり、前記 X T E N が、表 2 に記載される配列からなる群から選択され、

f .    X T E N 3 が、前記第 3 の X T E N であり、前記 X T E N が、表 2 に記載される配列からなる群から選択される、項目 1 0 1 に記載の共役組成物。

(項目 1 3 1)

前記第 1 の X T E N の各第 1 の架橋剤に共役された第 1 のペイロードの単一原子残基をさらに含み、前記残基が、炭素、窒素、酸素、および硫黄からなる群から選択される、項目 1 3 0 に記載の共役組成物。

(項目 1 3 2)

表 6、7、1 8、および 2 1 に記載されるペイロードからなる群から選択される、前記第 1 の X T E N の各第 1 の架橋剤に共役された第 1 のペイロードをさらに含む、項目 1 3 0 に記載の共役組成物。

(項目 1 3 3)

多量体分岐 X T E N 分子を含む組成物であって、前記組成物の溶液が、同じアミノ酸数および同じモル濃度を有する対応する直線 X T E N を含む溶液よりも低い粘度を有する、組成物。

(項目 1 3 4)

前記 X T E N 分子が、三量体、四量体、または五量体構成を有する、項目 1 3 3 に記載の組成物。

(項目 1 3 5)

前記 X T E N 分子が、表 2 および表 3 に記載される配列からなる群から選択される、項目 1 3 3 に記載の組成物。

(項目 1 3 6)

前記溶液の前記粘土が、1 0 0 m g / m l の多量体 X T E N を含む溶液中で、1 0 0 m g / m l の等モル濃度の前記対応する直線 X T E N を含む溶液と比較して、少なくとも 5、6、7、8、9、または 1 0 c P だけ減少する、項目 1 3 3 ~ 1 3 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 1 3 7)

表 5 2 に記載される配列の群から選択される配列に対して少なくとも約 9 0 %、または少なくとも約 9 1 %、または少なくとも約 9 2 %、または少なくとも約 9 3 %、または少なくとも約 9 4 %、または少なくとも約 9 5 %、または少なくとも約 9 6 %、または少なくとも約 9 7 %、または少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % の配列同一性を有する、ポリペプチド。

(項目 1 3 8)

項目 8 5 ~ 8 7、9 7 ~ 9 9、1 0 8 ~ 1 1 2、1 1 8 ~ 1 2 2、1 2 5 ~ 1 2 7、1 2 9、または 1 3 2 のいずれか 1 項に記載の前記共役体と、薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物。

( 項目 1 3 9 )

表 1 6 に記載される状態の群から選択される状態の処置のための項目 1 3 8 に記載の薬学的組成物。

( 項目 1 4 0 )

対象の処置のための薬学的計画において使用するための、前記計画が、前記薬学的組成物を含む、項目 1 3 8 に記載の薬学的組成物。

( 項目 1 4 1 )

前記薬学的計画が、表 1 6 に記載される状態の群から選択される状態を有する対象において、有益な効果を達成するために必要とされる薬学的組成物の量を決定するステップをさらに含む、項目 1 4 0 に記載の薬学的組成物。

( 項目 1 4 2 )

前記対象を処置するための前記薬学的計画が、前記薬学的組成物を 2 つ以上の連続用量で前記対象に有効な量で投与することを含み、前記投与が、未処置の対象と比較して、前記状態と関連付けられた少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つのパラメータの少なくとも 1 0 %、または 2 0 %、または 3 0 %、または 4 0 %、または 5 0 %、または 6 0 %、または 6 0 %、または 7 0 %、または 8 0 %、または 9 0 % 超の改善をもたらす、項目 1 4 1 に記載の薬学的組成物。

( 項目 1 4 3 )

表 1 6 に記載される状態の群から選択される状態の処置のための薬剤の調製において使用するための、項目 8 5 ~ 8 7、9 7 ~ 9 9、1 0 8 ~ 1 1 2、1 1 8 ~ 1 2 2、1 2 5 ~ 1 2 7、1 2 9、または 1 3 2 のいずれか 1 項に記載の共役体。

( 項目 1 4 4 )

X T E N に結合されたペイロードの組合せを治療薬として選択する方法であって、  
a . 複数の X T E N 配列を含む X T E N のライブラリーを提供することであって、前記 X T E N 配列のそれぞれが、少なくとも第 1 のペイロード、および前記第 1 のペイロードとは異なる少なくとも第 2 のペイロードに共役される、提供することと、  
b . 前記ライブラリーから、( 1 ) 前記第 1 のペイロード単独に共役された X T E N 配列、および ( 2 ) 前記第 2 のペイロード単独に共役された X T E N 配列のものと比較して、改善されたインビトロまたはインビボパラメータを呈する場合に、X T E N 配列を治療薬として選択することと、を含む、方法。

( 項目 1 4 5 )

前記第 1 のペイロードおよび第 2 のペイロードが、共通の疾患を寛解させるために治療上有効である、項目 1 4 4 に記載の方法。

( 項目 1 4 6 )

前記第 1 の薬物および第 2 の薬物が、共通の疾患の異なる症状を処置するために治療上有効である、項目 1 4 4 に記載の方法。

( 項目 1 4 7 )

前記共通の疾患が、癌、癌の支持療法、心血管、中枢神経系、内分泌疾患、消化管、血液学的、H I V 感染、ホルモン疾患、炎症、自己免疫疾患、感染症、代謝疾患、筋骨格系疾患、腎臓学的障害、眼科疾患、疼痛、および呼吸器から選択される、項目 1 4 5 または項目 1 4 6 に記載の方法。

( 項目 1 4 8 )

前記第 1 のペイロードおよび第 2 のペイロードが、共通の生物学的経路を介して、それらの治療効果を媒介する、項目 1 4 4 に記載の方法。

( 項目 1 4 9 )

前記第 1 のペイロードおよび第 2 のペイロードが、表 6、表 1 8、および表 2 1 に記載される薬物からなる群から選択される、異なる薬物である、項目 1 4 4 に記載の方法。

( 項目 1 5 0 )

前記第 1 のペイロードおよび第 2 のペイロードが、表 7、表 1 8、および表 2 1 に記載されるタンパク質からなる群から選択される、異なる生物学的に活性なタンパク質である



、項目 1 4 4 に記載の方法。

(項目 1 5 1)

前記第 1 のペイロードが、表 6、表 1 8、および表 2 1 に記載される薬物からなる群から選択される薬物であり、前記第 2 のペイロードが、表 7、表 1 8、および表 2 1 に記載されるタンパク質からなる群から選択される生物学的に活性なタンパク質である、項目 1 4 4 に記載の方法。

(項目 1 5 2)

S A S R S A または S A S X S A ( X が、R または K である ) から選択される配列を有する、タンパク質分解切断部位を介して、親和性精製タグに結合される伸長組換えポリペプチド ( X T E N ) を含む、単離されたポリペプチド。

(項目 1 5 3)

S A S R S A または S A S X S A ( X が、R または K である ) から選択される配列を有する、タンパク質分解切断部位を介して、その N 末端で第 1 の親和性精製タグに結合され、S A S R S A または S A S X S A ( X が、R または K である ) から選択される配列を有する、タンパク質分解切断部位を介して、その C 末端で第 2 の親和性精製タグに結合される、伸長組換えポリペプチド ( X T E N ) を含む、ポリペプチド。

(項目 1 5 4)

図 1 1 7 に記載される構造を有する組成物。