

【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4年10月18日(2022.10.18)

【国際公開番号】WO2020/076992

【公表番号】特表2022-504802(P2022-504802A)

【公表日】令和4年1月13日(2022.1.13)

【年通号数】公開公報(特許)2022-005

【出願番号】特願2021-520187(P2021-520187)

【国際特許分類】

10

C 1 2 N 15/13(2006.01)

C 0 7 K 16/28(2006.01)

C 0 7 K 16/46(2006.01)

C 1 2 N 15/62(2006.01)

C 1 2 N 15/63(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)

C 1 2 P 21/02(2006.01)

20

A 6 1 K 39/395(2006.01)

A 6 1 P 35/00(2006.01)

A 6 1 K 47/62(2017.01)

A 6 1 K 38/19(2006.01)

A 6 1 K 38/21(2006.01)

A 6 1 K 35/17(2015.01)

A 6 1 P 37/04(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/13 Z N A

C 0 7 K 16/28

30

C 0 7 K 16/46

C 1 2 N 15/62 Z

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

C 1 2 P 21/02 C

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 K 39/395 D

40

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 47/62

A 6 1 K 38/19

A 6 1 K 38/21

A 6 1 K 35/17 Z

A 6 1 P 37/04

【手続補正書】

【提出日】令和4年10月7日(2022.10.7)

【手続補正1】

50

【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】

5T4に特異的に結合する少なくとも1つの重鎖のみの可変ドメイン（5T4 VHHドメイン）と、5T4以外の標的に結合する1つまたは複数の追加の結合ドメインとを含む、5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項2】

SEQ ID NO: 86~87、および288~292、296、および297からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域1（CDR1）；

SEQ ID NO: 88~99、298、および299からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域2（CDR2）；ならびに

SEQ ID NO: 100~102、300、301、および303からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域3（CDR3）

を含む、少なくとも1つの重鎖のみの可変ドメイン（5T4 VHHドメイン）を含む、5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項3】

5T4以外の標的に結合する1つまたは複数の追加の結合ドメインを含む、請求項2記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項4】

前記5T4がヒト5T4である、請求項1~3のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項5】

前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインがヒト化されている、請求項1~4のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項6】

前記1つまたは複数の追加の結合ドメインが、免疫細胞上の活性化受容体に結合する、請求項1および3~5のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項7】

前記活性化受容体がCD3（CD3）である、請求項6記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項8】

前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインが放射性作用物質にコンジュゲートされている、請求項1~7のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項9】

免疫グロブリンFc領域を含む、請求項1~8のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項10】

二量体である、請求項1~9のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項11】

前記Fc領域がヘテロ二量体Fc領域である、請求項9または10記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項12】

前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインが、(i) SEQ ID NO: 245に示される配列、(ii) SEQ ID NO: 245のヒト化バリエーション、または(iii) SEQ ID NO: 245に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含み、かつ5T4に結合する、請求項1~11のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

10

20

30

40

50

## 【請求項 13】

(a) 前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインが、

SEQ ID NO: 288および289からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1;

SEQ ID NO: 88に示されるアミノ酸配列を含むCDR2;ならびに

SEQ ID NO: 100に示されるアミノ酸配列を含むCDR3

を含む、かつ/または

(b) 前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインが、それぞれSEQ ID NO: 288、88、

および100、もしくはそれぞれSEQ ID NO: 289、88、および100に示されるCDR1、

CDR2、およびCDR3を含む、

請求項1~12のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

10

## 【請求項 14】

前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインが、SEQ ID NO: 246~253、および360のいずれか1つに示されるアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO: 246~253、および360に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含み、かつ5T4に結合する、請求項1~13のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

## 【請求項 15】

前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインが、(i) SEQ ID NO: 255に示される配列、(ii) SEQ ID NO: 255のヒト化バリエーション、または(iii) SEQ ID NO: 255に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含み、かつ5T4に結合する、請求項1~14のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

20

## 【請求項 16】

(a) 前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインが、

SEQ ID NO: 86、290~292からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1;

SEQ ID NO: 89~94からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2;および

SEQ ID NO: 101に示されるアミノ酸配列を含むCDR3

を含む、かつ/または

(b) 前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインが、それぞれSEQ ID NO: 290、90、

および101;それぞれSEQ ID NO: 290、91、および101;それぞれSEQ ID NO: 290、

92、および101;それぞれSEQ ID NO: 290、93、および101;それぞれSEQ ID NO

: 290、94、および101;それぞれSEQ ID NO: 291、94、および101;それぞれSEQ

ID NO: 292、94、および101;またはそれぞれSEQ ID NO: 86、94、および101に

示されるCDR1、CDR2、およびCDR3を含む、

請求項1~15および16のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

30

## 【請求項 17】

前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインが、SEQ ID NO: 256~275のいずれか1つに示されるアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO: 256~275に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含み、かつ5T4に結合する、請求項1~15、16および17のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

40

## 【請求項 18】

前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインが、(i) SEQ ID NO: 276に示される配列、(ii) SEQ ID NO: 276のヒト化バリエーション、または(iii) SEQ ID NO: 276に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含み、かつ5T4に結合する、請求項1~17のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

## 【請求項 19】

(a) 前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインが、

50

SEQ ID NO: 86および87からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1;  
SEQ ID NO: 95～99からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2;ならびに  
SEQ ID NO: 102に示されるアミノ酸配列を含むCDR3

を含む、かつ/または

(b) 前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインが、それぞれSEQ ID NO: 87、95、および102;それぞれSEQ ID NO: 87、96、および102;それぞれSEQ ID NO: 87、97、および102;それぞれSEQ ID NO: 87、98、および102;それぞれSEQ ID NO: 87、99、および102;もしくはそれぞれSEQ ID NO: 86、98、および102に示されるCDR1、CDR2、およびCDR3を含む、

請求項1～11、および18のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

10

【請求項20】

前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインが、SEQ ID NO: 277～287のいずれか1つに示されるアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO: 277～287に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含み、かつ5T4に結合する、請求項1～11、18および19のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項21】

(a) 前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインが、(i) SEQ ID NO: 294、295、もしくは302に示される配列、(ii) SEQ ID NO: 294、295、もしくは302のヒト化バリエーション、もしくは(iii) SEQ ID NO: 294、295、もしくは302に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含み、かつ5T4に結合する、かつ/または

20

(b) 前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインが、SEQ ID NO: 288、296、もしくは297からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1; SEQ ID NO: 88、298、もしくは299からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2; およびSEQ ID NO: 300、301、もしくは303に示されるアミノ酸配列を含むCDR3を含む、

請求項1～11のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項22】

(a) 第1のFcポリペプチドと第2のFcポリペプチドとを含むヘテロ二量体Fc領域を含む、第1の構成要素、および(b) 可変重鎖領域(VH)と可変軽鎖領域(VL)とを含む抗CD3抗体または抗原結合断片を含む、第2の構成要素を含む、

30

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の相対するポリペプチドに連結されており;

第1および第2の構成要素が、リンカーによりカップリングされ、ヘテロ二量体Fc領域が、抗CD3抗体または抗原結合断片のアミノ末端に位置づけられ;かつ

第1および第2の構成要素の一方または両方が、前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインを含む、

請求項1～21のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

40

【請求項23】

前記ヘテロ二量体Fc領域の前記第1および前記第2のFcポリペプチドの各々が、ノブ-イントゥ-ホール(knob-into-hole)改変を含む、または該ポリペプチドの静電的相補性を増加させる電荷の変異を含む、請求項22記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項24】

前記抗CD3抗体または抗原結合断片が、Fv抗体断片である、請求項22または23記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項25】

前記Fv抗体断片が、ジスルフィド安定化抗CD3結合Fv断片(dsFv)を含む、請求項24記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

50

## 【請求項 26】

前記抗CD3抗体または抗原結合断片が、

(a) アミノ酸配列TYAMN (SEQ ID NO: 350) を含むVH CDR1; アミノ酸配列RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 351) を含むVH CDR2; アミノ酸配列HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 31) を含むVH CDR3、アミノ酸配列RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 357) を含むVL CDR1; アミノ酸配列GTNKRAP (SEQ ID NO: 33) を含むVL CDR2; およびアミノ酸配列ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 353) を含むVL CDR3;

(b) アミノ酸配列TYAMN (SEQ ID NO: 29) を含むVH CDR1; アミノ酸配列RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 30) を含むVH CDR2; アミノ酸配列HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 31) を含むVH CDR3、アミノ酸配列RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 32) を含むVL CDR1; アミノ酸配列GTNKRAP (SEQ ID NO: 33) を含むVL CDR2; およびアミノ酸配列ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 34) を含むVL CDR3;

(c) アミノ酸配列TYAMN (SEQ ID NO: 355) を含むVH CDR1; アミノ酸配列RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 356) を含むVH CDR2; アミノ酸配列HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 352) を含むVH CDR3、アミノ酸配列RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 357) を含むVL CDR1; アミノ酸配列GTNKRAP (SEQ ID NO: 33) を含むVL CDR2; およびアミノ酸配列ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 353) を含むVL CDR3; または

(d) アミノ酸配列TYAMN (SEQ ID NO: 350) を含むVH CDR1; アミノ酸配列RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 351) を含むVH CDR2; アミノ酸配列HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 31) を含むVH CDR3、アミノ酸配列RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 32) を含むVL CDR1; アミノ酸配列GTNKRAP (SEQ ID NO: 33) を含むVL CDR2; およびアミノ酸配列ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 34) を含むVL CDR3 を含む、請求項22～25のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

## 【請求項 27】

前記抗CD3抗体または抗原結合断片が、

SEQ ID NO: 27、35～65、341、343、および358のいずれかのアミノ酸配列、またはSEQ ID NO: 27、35～65、341、343、および358のいずれかに対して少なくとも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し、かつCD3に結合する、VH;ならびに

SEQ ID NO: 28、66～84、293、340、および342のいずれかのアミノ酸配列、またはSEQ ID NO: 28、66～84、293、340、および342、および293のいずれかに対して少なくとも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し、かつCD3に結合する、VLを含む、請求項22～26のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

## 【請求項 28】

前記少なくとも1つの5T4 VHHドメインが、前記Fc領域に対してアミノ末端に、かつ/または前記抗CD3抗体もしくは抗原結合断片に対してカルボキシ末端に位置づけられた、請求項22～27のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

## 【請求項 29】

5T4に特異的に結合する第1の5T4 VHHドメインと、5T4に特異的に結合する第2の5T4 VHHドメインを含む、請求項22～28のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

## 【請求項 30】

(a) 前記第1および前記第2の5T4 VHHドメインの各々が、独立して、SEQ ID NO: 245～253、255～287、294、295、302、および360のいずれかに示されるVHHドメイン配列、もしくはSEQ ID NO: 245～253、255～287、294、295、302、および360のいずれかに対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すア

10

20

30

40

50

ミノ酸の配列を含み、かつ5T4に結合する、または  
 (b) 前記第1の5T4 VHHドメインが、SEQ ID NO: 245~253、295、302、および360のいずれか1つに示されるアミノ酸配列、そのヒト化バリエーション、もしくはSEQ ID NO: 245~253、295、302、および360のいずれかに対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含み、かつ5T4に結合し、かつ  
 前記第2の5T4 VHHドメインが、SEQ ID NO: 255~287、294、302のいずれか1つに示されるアミノ酸配列、そのヒト化バリエーション、もしくはSEQ ID NO: 255~287、294、302のいずれかに対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含み、かつ5T4に結合する、  
 請求項29記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

10

【請求項31】

前記第1および前記第2の構成要素の一方または両方が、共刺激受容体に結合する少なくとも1つの共刺激受容体結合領域(CRBR)を含む、請求項22~30のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項32】

前記第1および前記第2の構成要素の一方または両方が、抑制性受容体に結合する少なくとも1つの抑制性受容体結合領域(IRBR)を含む、請求項22~31のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

20

【請求項33】

前記リンカーが、切断不可能なリンカーである、請求項22~32のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物。

【請求項34】

SEQ ID NO: 86~87および288~292、296、および297からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域1(CDR1)；

SEQ ID NO: 88~99、298、および299からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域2(CDR2)；ならびに

SEQ ID NO: 100~102、300、301、および303からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域3(CDR3)

30

を含む、5T4に結合する単離されたシングルドメイン抗体(sdAb)。

【請求項35】

SEQ ID NO: 245~253、255~287、294、295、302、および360のいずれかに示されるアミノ酸配列、またはSEQ ID NO: 245~253、255~287、294、295、302、および360のいずれかに対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含み、かつ5T4に結合する、請求項34記載の単離されたシングルドメイン抗体。

【請求項36】

請求項1~33のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物をコードする、ポリヌクレオチド(複数可)。

40

【請求項37】

請求項34または請求項35記載のシングルドメイン抗体をコードする、ポリヌクレオチド。

【請求項38】

請求項36または請求項37記載の1つまたは複数のポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項39】

請求項36または請求項37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38記載のベクターを含む、細胞。

50

## 【請求項 4 0】

5T4結合ポリペプチド構築物を産生する方法であって、

請求項36または請求項37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38記載のベクターを細胞中に導入する工程、および5T4結合ポリペプチド構築物を産生する条件で該細胞を培養する工程を含む、方法。

## 【請求項 4 1】

請求項34または請求項35記載のシングルドメイン抗体を含む細胞外ドメイン；膜貫通ドメイン；および細胞内シグナル伝達ドメインを含むキメラ抗原受容体を含む、操作された免疫細胞。

10

## 【請求項 4 2】

請求項1～33のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物、請求項34または請求項35記載のシングルドメイン抗体、または請求項41記載の操作された免疫細胞と、薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物。

## 【請求項 4 3】

対象において免疫応答を刺激するかまたは誘導するための、請求項1～33のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物、請求項34または請求項35記載のシングルドメイン抗体、または請求項41記載の操作された免疫細胞を含む、薬学的組成物。

## 【請求項 4 4】

対象において疾患または状態を治療するための、請求項1～33のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物、請求項34または請求項35記載のシングルドメイン抗体、または請求項41記載の操作された免疫細胞を含む、薬学的組成物。

20

## 【請求項 4 5】

対象において免疫応答を刺激するかまたは誘導するための医薬の製造のための、請求項1～33のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物、請求項34または請求項35記載のシングルドメイン抗体、請求項41記載の操作された免疫細胞、または請求項42記載の薬学的組成物の使用。

## 【請求項 4 6】

対象において疾患または状態を治療するための医薬の製造のための、請求項1～33のいずれか一項記載の5T4結合ポリペプチド構築物、請求項34または請求項35記載のシングルドメイン抗体、請求項41記載の操作された免疫細胞、または請求項42記載の薬学的組成物の使用。

30

40

50