

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-533487
(P2024-533487A)

(43)公表日 令和6年9月12日(2024.9.12)

(51)国際特許分類			F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	19/00	(2006.01)	C 0 7 K	19/00	Z N A	4 C 0 7 6
C 0 7 K	16/00	(2006.01)	C 0 7 K	16/00		4 C 0 8 5
C 0 7 K	14/47	(2006.01)	C 0 7 K	14/47		4 H 0 4 5
C 0 7 K	16/30	(2006.01)	C 0 7 K	16/30		
C 0 7 K	16/28	(2006.01)	C 0 7 K	16/28		
			審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全53頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-516396(P2024-516396)		(71)出願人	501181075		
(86)(22)出願日	令和4年9月13日(2022.9.13)			ザ・ホスピタル・フォー・シック・チルドレン		
(85)翻訳文提出日	令和6年3月29日(2024.3.29)			THE HOSPITAL FOR SICK CHILDREN		
(86)国際出願番号	PCT/CA2022/051360			カナダ、エム5ジー・1エックス8、オンタリオ、トロント、ユニバーシティ・アベニュー555番		
(87)国際公開番号	WO2023/035083					
(87)国際公開日	令和5年3月16日(2023.3.16)					
(31)優先権主張番号	63/243,402					
(32)優先日	令和3年9月13日(2021.9.13)					
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		(71)出願人	524094745		
(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,			レイディアント バイオセラピューティクス インコーポレイテッド		
	最終頁に続く			カナダ国 エイチ3ビー 0イー7 ケベック, モントリオール, プラス ヴィルマリー 3 - 12350		
			(74)代理人	100078282		
				最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 最適化されたM u l t a b o d y 構築物、組成物、及び方法

(57)【要約】

1) ナノケージ単量体またはそのサブユニットに連結したFcポリペプチドを含む融合ポリペプチドと、2) 抗原結合抗体断片を含む融合ポリペプチドと、を含む最適化された自己組織化ポリペプチド複合体。一態様では、(1) Fcポリペプチドと、(2) ナノケージ単量体またはそのサブユニットと、を含む融合ポリペプチドが提供され、Fcポリペプチドは、IgG1 Fc鎖を含み、IgG1 Fc鎖は、EU番号付けによる、(1) 237位のグリシン以外のアミノ酸残基、及び(2) 329位のプロリン残基を含む。

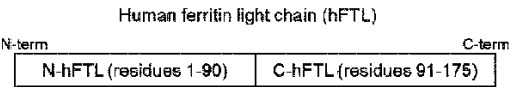


FIG. 1A

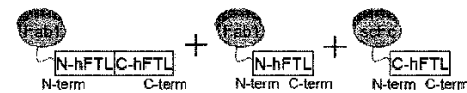


FIG. 1B

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

融合ポリペプチドであって、

(1) F c ポリペプチドと、

(2) ナノケージ単量体またはそのサブユニットと、を含み、

前記 F c ポリペプチドが、I g G 1 F c 鎖を含み、前記 I g G 1 F c 鎖が、E U 番号付けによる、(1) 237 位のグリシン以外のアミノ酸残基、及び (2) 329 位のプロリン残基を含む、前記融合ポリペプチド。

【請求項 2】

前記ナノケージ単量体またはそのサブユニットが、フェリチン単量体またはそのサブユニットである、請求項 1 に記載の融合ポリペプチド。

10

【請求項 3】

前記フェリチン単量体またはそのサブユニットが、フェリチン軽鎖またはそのサブユニットである、請求項 2 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 4】

前記フェリチン単量体またはそのサブユニットが、ヒトフェリチンまたはそのサブユニットである、請求項 2 または 3 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 5】

前記フェリチン単量体またはそのサブユニットが、フェリチン単量体サブユニットである、請求項 2 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

20

【請求項 6】

前記フェリチン単量体サブユニットが、C-半フェリチンである、請求項 5 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 7】

前記 F c ポリペプチドが、前記 C-半フェリチンの N 末端に連結されている、請求項 6 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 8】

前記 F c ポリペプチドが、アミノ酸リンカーを介して前記 C-半フェリチンの N 末端に連結されている、請求項 9 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 9】

前記アミノ酸リンカーが、(G_nS)_m リンカーを含む、請求項 8 に記載の融合ポリペプチド。

30

【請求項 10】

前記 (G_nS)_m リンカーが、(GGGG S)_m (配列番号 19) リンカーである、請求項 9 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 11】

前記 F c ポリペプチドが、2つの F c 鎖を含む一本鎖 F c (sc F c) を含み、前記 2つの F c 鎖が、アミノ酸リンカーを介して連結されている、請求項 1 ～ 10 のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 12】

前記 2つの F c 鎖を連結する前記アミノ酸リンカーが、(G_nS)_m リンカーを含む、請求項 11 に記載の融合ポリペプチド。

40

【請求項 13】

前記 (G_nS)_m リンカーが、(GGGG S)_m (配列番号 19) リンカーである、請求項 12 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 14】

前記 F c ポリペプチドが、I g G 1 F c 鎖を含む、請求項 1 ～ 13 のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 15】

前記 I g G 1 F c 鎖が、E U 番号付けによる、237 位のアラニンを含む、請求項 1

50

4 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 16】

前記 IgG1Fc 鎖が、EU 番号付けによる、234 位のアラニン、235 位のアラニン、236 位のアルギニン、及び 330 位のロイシンを含む、請求項 14 または 15 に記載の融合ポリペプチド。

【請求項 17】

自己組織化ポリペプチド複合体であって、

(a) 複数の第 1 の融合ポリペプチドであって、各第 1 の融合ポリペプチドが、請求項 1～16 のいずれか 1 項に記載の融合ポリペプチドである、前記複数の第 1 の融合ポリペプチドと、

(b) 複数の第 2 の融合ポリペプチドであって、各第 2 の融合ポリペプチドが、(1) 抗原結合抗体断片及び (2) ナノケージ単量体またはそのサブユニットを含む、前記複数の第 2 の融合ポリペプチドと、を含む、前記自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 18】

各第 2 の融合ポリペプチドの前記ナノケージ単量体またはそのサブユニットが、フェリチン単量体またはそのサブユニットである、請求項 17 に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 19】

前記フェリチン単量体またはそのサブユニットが、フェリチン軽鎖またはそのサブユニットである、請求項 18 に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 20】

前記フェリチン単量体またはそのサブユニットが、ヒトフェリチンまたはそのサブユニットである、請求項 18 または 19 に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 21】

いずれのフェリチン重鎖またはフェリチン重鎖のサブユニットも含まない、請求項 19 または 20 に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 22】

前記抗原結合抗体断片が、各第 2 の融合ポリペプチド内で、アミノ酸リンカーを介して前記ナノケージ単量体またはそのサブユニットに連結されている、請求項 17～21 のいずれか 1 項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 23】

前記アミノ酸リンカーが、(G_nS)_m リンカーを含む、請求項 22 に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 24】

前記 (G_nS)_m リンカーが、(GGGS)_m (配列番号 19) リンカーである、請求項 23 に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 25】

各第 2 の融合ポリペプチドの前記抗原結合抗体断片が、ナノケージ単量体またはそのサブユニットの N 末端に連結されている、請求項 17～24 のいずれか 1 項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 26】

各第 2 の融合ポリペプチドの前記抗原結合抗体断片が、Fab 断片である、請求項 17～25 のいずれか 1 項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 27】

各第 2 の融合ポリペプチドが、いずれの抗体 CH2 または CH3 ドメインも含まない、請求項 17～26 のいずれか 1 項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 28】

複数の第 3 の融合ポリペプチドをさらに含み、各第 3 の融合ポリペプチドが、(1) 抗原結合抗体断片及び (2) ナノケージ単量体またはそのサブユニットを含み、前記第 3 の融合ポリペプチドが、前記第 2 の融合ポリペプチドとは異なる、請求項 17～27 のい

10

20

30

40

50

れか 1 項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 29】

各第 3 の融合ポリペプチドの前記抗原結合抗体断片が、F a b 断片である、請求項 28 に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 30】

各第 3 の融合ポリペプチドが、いずれの抗体 C H 2 または C H 3 ドメインも含まない、請求項 29 に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 31】

各第 1 の融合ポリペプチド及び各第 2 の融合ポリペプチドの前記ナノケージ単量体またはそのサブユニットが、フェリチン単量体サブユニットであり、

a. 各第 1 の融合ポリペプチドが、C-半フェリチンを含み、各第 2 の融合ポリペプチドが、N-半フェリチンを含むか、または

b. 各第 1 の融合ポリペプチドが、N-半フェリチンを含み、各第 2 の融合ポリペプチドが、C-半フェリチンを含む、請求項 17～30 のいずれか 1 項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 32】

前記自己組織化ポリペプチド複合体が、第 1 の融合ポリペプチド対第 2 の融合ポリペプチドの比が 1 : 1 であることを特徴とする、請求項 17～31 のいずれか 1 項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 33】

合計で 24～48 個の融合ポリペプチドを含む、請求項 17～32 のいずれか 1 項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 34】

合計で少なくとも 24 個の融合ポリペプチドを含む、請求項 17～32 のいずれか 1 項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 35】

合計で少なくとも 32 個の融合ポリペプチドを含む、請求項 34 に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 36】

合計で約 32 個の融合ポリペプチドを有する、請求項 35 に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 37】

インビトロアッセイで決定された場合、少なくとも 1 つのヒト F c γ 受容体への結合を示さない、請求項 17～36 のいずれか 1 項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 38】

インビトロアッセイで決定された場合、h F c γ R I、h F c γ R I I a、h F c γ R I I b、h F c γ R I I I a、h F c γ R I I I b、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される 1 つ以上のヒト F c γ 受容体への結合を示さない、請求項 37 に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 39】

インビトロアッセイで決定された場合、h F c γ R I への結合を示さない、請求項 38 に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 40】

インビトロアッセイで決定された場合、h F c γ R I I a への結合を示さない、請求項 38 または 39 に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 41】

インビトロアッセイで決定された場合、h F c γ R I I I a への結合を示さない、請求項 38、39、または 40 のいずれか 1 項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 42】

インビトロアッセイで決定された場合、h F c γ R I I b への結合を示さない、請求項

10

20

30

40

50

38～41のいずれか1項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項43】

インビトロアッセイで決定された場合、hFcγRIIIbへの結合を示さない、請求項38～42のいずれか1項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項44】

自己組織化ポリペプチド複合体であって、

(a) 複数の第1の融合ポリペプチドであって、各第1の融合ポリペプチドが、(1) sFc及び(2) フェリチン単量体またはそのサブユニットを含む、前記複数の第1の融合ポリペプチドと、

(b) 複数の第2の融合ポリペプチドであって、各第2の融合ポリペプチドが、(1) 抗原結合抗体断片であって、(2) フェリチン単量体またはそのサブユニットに連結された、前記抗原結合抗体断片を含み、前記sFcが、2つのIgG1Fc鎖を含み、各IgG1Fc鎖が、EU番号付けによる、234位のアラニン、235位のアラニン、236位のアルギニン、237位のアラニン、329位のプロリン、及び330位のロイシンを含む、前記複数の第2の融合ポリペプチドと、を含む、前記自己組織化ポリペプチド複合体。

10

【請求項45】

a. 各第1の融合ポリペプチドが、C-半フェリチンを含み、各第2の融合ポリペプチドが、N-半フェリチンを含むか、または

b. 各第1の融合ポリペプチドが、N-半フェリチンを含み、各第2の融合ポリペプチドが、C-半フェリチンを含む、請求項44に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

20

【請求項46】

各第1の融合ポリペプチドが、前記C-半フェリチンのN末端に連結されたsFcを含み、各第2の融合ポリペプチドが、前記N-半フェリチンのN末端に連結されたFabを含む、請求項45に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項47】

(1) 各第1の融合ポリペプチドにおいて、前記sFcが、アミノ酸リンカーを介して、前記C-半フェリチンのN末端に連結されており、及び／または(2) 各第2の融合ポリペプチドにおいて、前記Fabが、アミノ酸リンカーを介して、N-半フェリチンのN末端に連結されている、請求項46に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

30

【請求項48】

前記自己組織化ポリペプチド複合体が、第1の融合ポリペプチド対第2の融合ポリペプチドの比が1:1であることを特徴とする、請求項45～47のいずれか1項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項49】

複数の第3の融合ポリペプチドをさらに含み、各第3の融合ポリペプチドが、(1) 抗原結合抗体断片であって、(2) ナノケージ単量体またはそのサブユニットに連結された、前記抗原結合抗体断片を含み、前記第3の融合ポリペプチドが、前記第2の融合ポリペプチドとは異なる、請求項44～48のいずれか1項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

40

【請求項50】

合計で24～48個の融合ポリペプチドを含む、請求項44～49のいずれか1項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項51】

合計で少なくとも24個の融合ポリペプチドを含む、請求項44～50のいずれか1項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項52】

合計で少なくとも32個の融合ポリペプチドを含む、請求項51に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項53】

50

合計で約 3 2 個の融合ポリペプチドを有する、請求項 5 2 に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 5 4】

前記抗体結合断片が、腫瘍関連抗原または自己免疫障害に関連する抗原に結合することができる、請求項 1 7 ～ 5 3 のいずれか 1 項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体。

【請求項 5 5】

請求項 1 7 ～ 5 4 のいずれか 1 項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体を含む組成物を、哺乳動物対象に投与することを含む、方法。

【請求項 5 6】

前記対象が、ヒトである、請求項 5 5 に記載の方法。

10

【請求項 5 7】

前記対象が、がんを有するか、またはがんを発症するリスクがある、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

【請求項 5 8】

前記対象が、自己免疫障害を有するか、または自己免疫障害を発症するリスクがある、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

【請求項 5 9】

全身経路による投与を含む、請求項 5 5 ～ 5 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記全身経路が、皮下、静脈内、または筋肉内注射、吸入、または鼻腔内投与を含む、請求項 5 9 に記載の方法。

20

【請求項 6 1】

哺乳動物対象への投与のための、請求項 1 7 ～ 5 4 のいずれか 1 項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体を含む組成物の使用。

【請求項 6 2】

前記対象が、ヒトである、請求項 6 1 に記載の使用。

【請求項 6 3】

前記対象が、がんを有するか、がんを発症するリスクがある、請求項 6 1 または 6 2 に記載の使用。

【請求項 6 4】

前記対象が、自己免疫障害を有するか、または自己免疫障害を発症するリスクがある、請求項 6 1 または 6 2 に記載の使用。

30

【請求項 6 5】

全身経路による投与のためのものである、請求項 6 1 ～ 6 4 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 6 6】

前記全身経路が、皮下、静脈内、または筋肉内注射、吸入、または鼻腔内投与を含む、請求項 6 5 に記載の使用。

【請求項 6 7】

哺乳動物対象への投与で使用するための、請求項 1 7 ～ 5 4 のいずれか 1 項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体を含む組成物。

40

【請求項 6 8】

前記対象が、ヒトである、請求項 6 7 に記載の使用のための組成物。

【請求項 6 9】

前記対象が、がんを有するか、がんを発症するリスクがある、請求項 6 7 または 6 8 に記載の使用のための組成物。

【請求項 7 0】

前記対象が、自己免疫障害を有するか、または自己免疫障害を発症するリスクがある、請求項 6 7 または 6 8 に記載の使用のための組成物。

【請求項 7 1】

50

全身経路による投与のためのものである、請求項 67～70 のいずれか 1 項に記載の使用のための組成物。

【請求項 72】

前記全身経路が、皮下、静脈内、または筋肉内注射、吸入、または鼻腔内投与を含む、請求項 71 に記載の使用のための組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2021年9月13日に出願された米国仮出願第63／243,402号の利益及び優先権を主張するものであり、その全体の内容は、すべての目的のためにその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

配列表

本出願は、XMLフォーマットで電子的に提出され、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる配列表を含む。当該XMLファイルは、2022年9月13日に作成され、Sequence Listing Sep-2022 3206-5070_Rという名前で、サイズは24.8キロバイトである。

【背景技術】

【0003】

抗体または抗体断片に基づく治療薬は、様々な用途、例えば、様々な疾患または状態を治療するために開発されている。

【0004】

しかしながら、抗体ベースの治療薬は、対象への投与後に望ましい特徴（例えば、望ましい生体内分布、半減期等）を有するように調整される必要があり得る。一部の抗体ベースの治療薬は、天然の免疫グロブリン分子のそれとは異なるフォーマットを有する。例えば、いくつかの治療薬では、抗体または抗体断片は、別のポリペプチドに融合され、いくつかの場合、抗体または抗体断片（複数可）は、ある構成内にあるか、または天然には見られない価数を有する。これらの抗体ベースの治療法も、調整される必要があり得る。

【0005】

したがって、最適化された抗体ベースの治療薬の必要性が依然として存在する。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明は、(a) (1) Fcポリペプチド及び(2) ナノケージ単量体またはそのサブユニットを含む融合ポリペプチドと、(b) (1) 抗体断片及び(2) ナノケージ単量体またはそのサブユニットを含む融合ポリペプチドと、を含む自己組織化ポリペプチド複合体の提供によって、この必要性に対処する。ある特定の実施形態では、Fcポリペプチドは、特定の位置にあるある特定のアミノ酸残基を含む。

【0007】

一態様では、

(1) Fcポリペプチドと、

(2) ナノケージ単量体またはそのサブユニットと、を含む融合ポリペプチドが提供され、

Fcポリペプチドは、IgG1 Fc鎖を含み、IgG1 Fc鎖は、EU番号付けによる、(1) 237位のグリシン以外のアミノ酸残基、及び(2) 329位のプロリン残基を含む。

【0008】

いくつかの実施形態では、ナノケージ単量体またはそのサブユニットは、フェリチン単量体またはそのサブユニットである。

10

20

30

40

50

【0009】

いくつかの実施形態では、フェリチン単量体またはそのサブユニットは、フェリチン軽鎖またはそのサブユニットである。

【0010】

いくつかの実施形態では、フェリチン単量体またはそのサブユニットは、ヒトフェリチンまたはそのサブユニットである。

【0011】

いくつかの実施形態では、フェリチン単量体またはそのサブユニットは、フェリチン単量体サブユニット、例えば、C-半フェリチンである。いくつかのかかる実施形態では、Fcポリペプチドは、例えば、アミノ酸リンカーを介して、C-半フェリチンのN末端に連結されている。いくつかの実施形態では、アミノ酸リンカーは、(G_nS)_mリンカー、例えば、(GGGGS)_m（配列番号19）リンカーを含む。

10

【0012】

いくつかの実施形態では、Fcポリペプチドは、2つのFc鎖を含む一本鎖Fc(scFc)を含み、2つのFc鎖は、アミノ酸リンカー、例えば、(G_nS)_mリンカー、例えば、(GGGGS)_m（配列番号19）リンカーを介して連結されている。

【0013】

いくつかの実施形態では、Fcポリペプチドは、IgG1 Fc鎖を含む。

【0014】

いくつかの実施形態では、IgG1 Fc鎖は、EU番号付けによる、237位のアラニンを含む。

20

【0015】

いくつかの実施形態では、IgG1 Fc鎖は、EU番号付けによる、234位のアラニン、235位のアラニン、236位のアルギニン、及び330位のロイシンを含む。

【0016】

一態様では、

(a) 複数の第1の融合ポリペプチドであって、各第1の融合ポリペプチドが、請求項1～16のいずれか1項に記載の融合ポリペプチドである、複数の第1の融合ポリペプチドと、

(b) 複数の第2の融合ポリペプチドであって、各第2の融合ポリペプチドが、(1) 抗原結合抗体断片及び(2) ナノケージ単量体またはそのサブユニットを含む、複数の第2の融合ポリペプチドと、を含む、自己組織化ポリペプチド複合体が提供される。

30

【0017】

いくつかの実施形態では、各第2の融合ポリペプチドのナノケージ単量体またはそのサブユニットは、フェリチン単量体またはそのサブユニットである。

【0018】

いくつかの実施形態では、フェリチン単量体またはそのサブユニットは、フェリチン軽鎖またはそのサブユニットである。

【0019】

いくつかの実施形態では、フェリチン単量体またはそのサブユニットは、ヒトフェリチンまたはそのサブユニットである。

40

【0020】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、いずれのフェリチン重鎖またはフェリチン重鎖のサブユニットも含まない。

【0021】

いくつかの実施形態では、各第2の融合ポリペプチド内で、抗原結合抗体断片は、アミノ酸リンカー、例えば、(G_nS)_mリンカー、例えば、(GGGGS)_m（配列番号19）リンカーを含むアミノ酸リンカーを介して、ナノケージ単量体またはそのサブユニットに連結されている。

【0022】

50

いくつかの実施形態では、各第2の融合ポリペプチドの抗原結合抗体断片は、ナノケー
ジ単量体またはそのサブユニットのN末端に連結されている。

【0023】

いくつかの実施形態では、各第2の融合ポリペプチドの抗原結合抗体断片は、Fab断
片である。

【0024】

いくつかの実施形態では、各第2の融合ポリペプチドは、いずれの抗体CH2またはC
H3ドメインも含まない。

【0025】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、複数の第3の融合ポリ
ペプチドをさらに含み、各第3の融合ポリペプチドは、(1)抗原結合抗体断片及び(2)
ナノケージ単量体またはそのサブユニットを含み、第3の融合ポリペプチドは、第2の融
合ポリペプチドとは異なる。いくつかの実施形態では、各第3の融合ポリペプチドの抗原
結合抗体断片は、Fab断片である。いくつかの実施形態では、各第3の融合ポリペプチ
ドは、いずれの抗体CH2またはCH3ドメインも含まない。

【0026】

いくつかの実施形態では、各第1の融合ポリペプチド及び各第2の融合ポリペプチドの
ナノケージ単量体またはそのサブユニットは、フェリチン単量体またはそのサブユニット
であり、

a. 各第1の融合ポリペプチドは、C-半フェリチンを含み、各第2の融合ポリペプチ
ドは、N-半フェリチンを含むか、または

b. 各第1の融合ポリペプチドは、N-半フェリチンを含み、各第2の融合ポリペプチ
ドは、C-半フェリチンを含む。

【0027】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、第1の融合ポリペプチド
対第2の融合ポリペプチドの比が1:1であることを特徴とする。

【0028】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、合計で24~48個の融
合ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、合
計で少なくとも24個の融合ポリペプチドを含む。

【0029】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、合計で少なくとも32個
の融合ポリペプチドを含む。

【0030】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、合計約32個の融合ポリ
ペプチドを有する。

【0031】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、インビトロアッセイで決
定された場合、少なくとも1つのヒトFcγ受容体への結合を示さない。

【0032】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、インビトロアッセイで決
定された場合、hFcγRI、hFcγRIIa、hFcγRIIb、hFcγRIIIa、hFcγRIIIb、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される1つ以上の
ヒトFcγ受容体への結合を示さない。いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチ
ド複合体は、インビトロアッセイで決定された場合、hFcγRIへの結合を示さない。
いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、インビトロアッセイで決定
された場合、hFcγRIIaへの結合を示さない。いくつかの実施形態では、自己組織
化ポリペプチド複合体は、インビトロアッセイで決定された場合、hFcγRIIIaへ
の結合を示さない。いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、インビ
トロアッセイで決定された場合、hFcγRIIbへの結合を示さない。いくつかの実施

10

20

30

40

50

形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、インビトロアッセイで決定された場合、h F c y R I I I b への結合を示さない。

【0033】

一態様では、

(a) 複数の第1の融合ポリペプチドであって、各第1の融合ポリペプチドが、(1) s c F c 及び(2) フェリチン単量体またはそのサブユニットを含む、複数の第1の融合ポリペプチドと、

(b) 複数の第2の融合ポリペプチドであって、各第2の融合ポリペプチドが、(1) 抗原結合抗体断片であって、(2) フェリチン単量体またはそのサブユニットに連結された抗原結合抗体断片を含む、複数の第2の融合ポリペプチドと、を含む自己組織化ポリペプチド複合体が提供され、s c F c は、2つの I g G 1 F c 鎖を含み、各 I g G 1 F c 鎖は、E U 番号付けによる、234位のアラニン、235位のアラニン、236位のアルギニン、237位のアラニン、329位のプロリン、及び330位のロイシンを含む。

10

【0034】

いくつかの実施形態では、

a. 各第1の融合ポリペプチドは、C-半フェリチンを含み、各第2の融合ポリペプチドは、N-半フェリチンを含むか、または

b. 各第1の融合ポリペプチドは、N-半フェリチンを含み、各第2の融合ポリペプチドは、C-半フェリチンを含む。

【0035】

いくつかの実施形態では、各第1の融合ポリペプチドは、C-半フェリチンのN末端に連結された s c F c を含み、各第2の融合ポリペプチドは、N-半フェリチンのN末端に連結された F a b を含む。

20

【0036】

いくつかの実施形態では、(1) 各第1の融合ポリペプチドにおいて、s c F c は、アミノ酸リンカーを介して、C-半フェリチンのN末端に連結されており、及び/または(2) 各第2の融合ポリペプチドにおいて、F a b は、アミノ酸リンカーを介して、N-半フェリチンのN末端に連結されている。

【0037】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、第1の融合ポリペプチド対第2の融合ポリペプチドの比が1:1であることを特徴とする。

30

【0038】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、複数の第3の融合ポリペプチドをさらに含み、各第3の融合ポリペプチドは、(1) 抗原結合抗体断片であって、(2) ナノケージ単量体またはそのサブユニットに連結した抗原結合抗体断片を含み、第3の融合ポリペプチドは、第2の融合ポリペプチドとは異なる。

【0039】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、合計で24~48個の融合ポリペプチドを含む。

【0040】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、合計で少なくとも24個の融合ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、合計で少なくとも32個の融合ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、合計約32個の融合ポリペプチドを有する。

40

【0041】

いくつかの実施形態では、抗体結合断片は、腫瘍関連抗原または自己免疫障害に関連する抗原に結合することができる。

【0042】

一態様では、請求項17~54のいずれか1項に記載の自己組織化ポリペプチド複合体を含む組成物を、哺乳動物対象に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施

50

形態では、対象は、ヒトである。いくつかの実施形態では、対象は、がんを有するか、がんを発症するリスクがある。いくつかの実施形態では、対象は、自己免疫障害を有するか、または自己免疫障害を発症するリスクがある。

【0043】

いくつかの実施形態では、方法は、全身経路による投与を含む。いくつかの実施形態では、全身経路は、皮下、静脈内、または筋肉内注射、吸入、または鼻腔内投与を含む。

【0044】

一態様では、哺乳動物対象への投与のための、本明細書に記載の自己組織化ポリペプチド複合体を含む組成物の使用が提供される。

【0045】

いくつかの実施形態では、対象は、ヒトである。

【0046】

いくつかの実施形態では、対象は、がんを有するか、がんを発症するリスクがある。

【0047】

いくつかの実施形態では、対象は、自己免疫障害を有するか、または自己免疫障害を発症するリスクがある。

【0048】

いくつかの実施形態では、組成物は、全身経路による投与のためのものである。

【0049】

いくつかの実施形態では、全身経路は、皮下、静脈内、または筋肉内注射、吸入、または鼻腔内投与を含む。

【0050】

一態様では、哺乳動物対象への投与で使用するための、本明細書に記載の自己組織化ポリペプチド複合体を含む組成物が提供される。

【0051】

いくつかの実施形態では、対象は、ヒトである。

【0052】

いくつかの実施形態では、対象は、がんを有するか、がんを発症するリスクがある。

【0053】

いくつかの実施形態では、対象は、自己免疫障害を有するか、または自己免疫障害を発症するリスクがある。

【0054】

いくつかの実施形態では、組成物は、全身経路による投与のためのものである。

【0055】

いくつかの実施形態では、全身経路は、皮下、静脈内、または筋肉内注射、吸入、または鼻腔内投与を含む。

【図面の簡単な説明】

【0056】

【図1A】ヒトフェリチン軽鎖（hFTL）及び例示的なN-半フェリチン（N-hFTL）及びC-半フェリチン（C-hFTL）分子の図的表現である。

【0057】

【図1B】本開示の例示的なMultabodyと一緒に形成する融合ポリペプチドの図的表現である。

【0058】

【図2】それぞれ、ヒトDR5、ヒトDR4、ヒトオステオプロテゲリン（OPG）、ヒトデコイ受容体1（DcR1）、及びヒトDcR2へのDR5標的化Multabody（Cona MB IgG1 LLRAL）の結合のためのバイオレイヤー干渉法（BLI）時間応答曲線を示す。

【0059】

【図3】会合のためにpH6.0及び解離のためにpH7.4で測定した、ヒト、カニク

10

20

30

40

50

イザル、及びマウスのFcRnへの様々なFc鎖を含むDR5標的化Multabodyの結合のための例示的なBLI時間応答曲線を示す。

【0060】

【図4】定量化され、ビヒクル処置された腫瘍細胞に対するMultabodyまたは抗体処置後の生存可能な細胞の割合として表される、異なるヒト腫瘍細胞株におけるCona MB IgG1 wt、Cona MB IgG1 LLRAL、及びコナツムマブ（Cona）によるがん細胞の用量依存的殺傷を示す。

【0061】

【図5A】実施例6に記載される薬物動態研究の設計を示す概略図である。

【0062】

【図5B】重症複合免疫不全症（SCID）マウスに投与された単回腹腔内（i.p.）または静脈内（i.v.）用量後のCona MB IgG1 wt、Cona MB IgG1 LLRAL、またはコナツムマブ（Cona）の血漿レベルを示すプロットを示す。

【0063】

【図5C】96時間間隔で、2つの腹腔内用量を投与されたSCIDマウスにおけるCona MB IgG1 LLRALまたはコナツムマブの血漿レベルを示す。

【0064】

【図6A】実施例7に記載され、かつCOLO205異種移植マウスモデルで実施されたインビボ有効性実験の設計を示す概略図である。

【0065】

【図6B】COLO205異種移植腫瘍を有し、ビヒクル、コナツムマブ、またはCona MB IgG1 LLRALで処置されたマウスにおける、様々な時点（図6B）及び88日目（図6C）の腫瘍体積を示す。

【図6C】COLO205異種移植腫瘍を有し、ビヒクル、コナツムマブ、またはCona MB IgG1 LLRALで処置されたマウスにおける、様々な時点（図6B）及び88日目（図6C）の腫瘍体積を示す。

【0066】

【図6D】ビヒクル（図6D）、コナツムマブ（図6E）、またはCona MB IgG1 LLRAL（図6F及び6G）で処置した個々のCOLO205異種移植腫瘍保有マウスの腫瘍増殖曲線を示す。

【図6E】ビヒクル（図6D）、コナツムマブ（図6E）、またはCona MB IgG1 LLRAL（図6F及び6G）で処置した個々のCOLO205異種移植腫瘍保有マウスの腫瘍増殖曲線を示す。

【図6F】ビヒクル（図6D）、コナツムマブ（図6E）、またはCona MB IgG1 LLRAL（図6F及び6G）で処置した個々のCOLO205異種移植腫瘍保有マウスの腫瘍増殖曲線を示す。

【図6G】ビヒクル（図6D）、コナツムマブ（図6E）、またはCona MB IgG1 LLRAL（図6F及び6G）で処置した個々のCOLO205異種移植腫瘍保有マウスの腫瘍増殖曲線を示す。

【0067】

【図6H】COLO205異種移植腫瘍保有マウスへの腹腔内投与後のCona MB IgG1 LLRALまたはコナツムマブの血漿レベルを示す時間プロットである。

【0068】

【図7A】第1の用量後の経時的な様々な群におけるマウスの腫瘍体積を示すプロットである。「MB」は、Cona MB IgG1 LLRAL群を示す。x軸上の三角形は、治療時点を示す。

【図7B】ビヒクル（図7B）ならびに5mg/kg、1mg/kg、0.25mg/kg、及び0.1mg/kgのCona MB IgG1 LLRAL処置（それぞれ、図7C、図7D、図7E、及び図7F）群内の個々のマウスの腫瘍体積を示す。図7B～7

10

20

30

40

50

Fにおいて、「CR」は、完全な退縮を示す。

【図7C】ビヒクル（図7B）ならびに5mg/kg、1mg/kg、0.25mg/kg、及び0.1mg/kgのCona MB IgG1 LLRAL処置（それぞれ、図7C、図7D、図7E、及び図7F）群内の個々のマウスの腫瘍体積を示す。図7B～7Fにおいて、「CR」は、完全な退縮を示す。

【図7D】ビヒクル（図7B）ならびに5mg/kg、1mg/kg、0.25mg/kg、及び0.1mg/kgのCona MB IgG1 LLRAL処置（それぞれ、図7C、図7D、図7E、及び図7F）群内の個々のマウスの腫瘍体積を示す。図7B～7Fにおいて、「CR」は、完全な退縮を示す。

【図7E】ビヒクル（図7B）ならびに5mg/kg、1mg/kg、0.25mg/kg、及び0.1mg/kgのCona MB IgG1 LLRAL処置（それぞれ、図7C、図7D、図7E、及び図7F）群内の個々のマウスの腫瘍体積を示す。図7B～7Fにおいて、「CR」は、完全な退縮を示す。

【図7F】ビヒクル（図7B）ならびに5mg/kg、1mg/kg、0.25mg/kg、及び0.1mg/kgのCona MB IgG1 LLRAL処置（それぞれ、図7C、図7D、図7E、及び図7F）群内の個々のマウスの腫瘍体積を示す。図7B～7Fにおいて、「CR」は、完全な退縮を示す。

【0069】

【図7G】第1の用量が投与された後の様々な時点で収集された血液試料中で検出可能なCona MB IgG1 LLRALの量を示すプロットである。Cona MB IgG1 LLRALは、0.1mg/kg、0.25mg/kg、1mg/kg、及び5mg/kgのCona MB IgG1 LLRAL処置群で試験されたすべての時点で検出可能であり、薬物動態はすべての用量群で直線的に現れた。

【0070】

【図8】COLO205異種移植マウスモデルにおけるDR5標的化Multabodyによる大腫瘍浸透及びアポトーシス誘導の研究の設計を示す概略図である。実験は実施例9に記載する。

【0071】

【図9】未治療（図9A及び9C）のマウスまたはDR5標的化Multabody（「MB」）で治療（図9B及び9D）したマウス由来の代表的な腫瘍切片を示す。切片を、アポトーシスのマーカーである切断カスパーゼ-3に対する抗体で染色した。実験は実施例9に記載する。

【発明を実施するための形態】

【0072】

定義

用語「約（about）」及び「およそ（approximately）」は、値に関して本明細書で使用されるとき、互換的に使用され、参照される値と同様の値を指す。一般に、文脈に精通している当業者は、その文脈において「約」または「およそ」に包含される関連する程度の変動を理解するであろう。例えば、いくつかの実施形態では、用語「約」及び「およそ」は、参照値の25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、またはそれ以下の範囲に入る値を包含し得る。

【0073】

本明細書で使用される場合、用語「改変する」、「改変された」、「減少させる」、「減少された」、「増加させる」、「増加された」、または「低減」、「低減された」（例えば、特定の結果または効果に関して）は、参照レベルに対する意味を有する。いくつかの実施形態では、Fc鎖またはFcポリペプチドにおける変異を考察する文脈において、参照レベルは、Fc領域内の参照される変異（複数可）を含まないIgGで既知または決定されるレベルである。

【0074】

本明細書で使用される場合、「結合」という用語は、別途指定されない限り、2つ以上の実体間の、またはそれらの間の非共有結合会合を指す。「直接」結合は、実体または部分間の物理的接触を伴い、間接結合は、1つ以上の中間実体との物理的接触による物理的相互作用を伴う。2つ以上の実体間の結合は、典型的には、様々な状況のうちのいずれかで評価することができ、これには、相互作用する実体または部分が、単独で、またはより複雑なシステムの状況で（例えば、共有結合的に、またはそうでなければ担体実体と会合している間、及び／または生物学的システムもしくは細胞内で）研究される場合が含まれる。本明細書で使用される場合、2つの実体間の「非結合（non-binding）」もしくは「非結合（no binding）」、または同様の語句は、1）検出可能な結合の欠如、または2）適切なアッセイ、例えば、バイオレイヤー干渉法などのインビトロ結合アッセイにおける非結合に対応する、設定された閾値を下回る結合を指す。例えば、いくつかの実施形態では、インビトロバイオレイヤー干渉法アッセイにおいて、試験物品が20 nMの濃度で存在する場合、0.8 nmの標的を充填したバイオセンサへの、180秒後の0.1 nm未満の最大会合結合応答は、「非結合」として分類される。

10

20

30

40

50

【0075】

「フェリチン」及び「アポフェリチン」という用語は、本明細書において互換的に使用され、一般に、典型的には24個のタンパク質サブユニットを含むフェリチン複合体へと組織化することができるポリペプチド（例えば、フェリチン鎖）を指す。いくつかの実施形態では、フェリチンは、ヒトフェリチン、例えば、ヒトフェリチン軽鎖、例えば、配列番号1またはUniProt P02792と少なくとも85%の配列同一性を有するヒトフェリチン軽鎖である。いくつかの実施形態では、フェリチンは野生型フェリチンである。例えば、フェリチンは、野生型ヒトフェリチンであってもよい。

【0076】

「フェリチン単量体」という用語は、他のフェリチン鎖の存在下で、複数のフェリチン鎖、例えば24個以上のフェリチン鎖を含むポリペプチド複合体に自己組織化することができるフェリチンの一本鎖を指すために本明細書で使用される。

【0077】

本明細書で使用される場合、「リンカー」という用語は、2つ以上のエレメントを接続して多エレメント剤（agent）を形成する実体を指すために使用される。例えば、当業者は、2つ以上の機能的または組織的ドメインを含む構造を有するポリペプチド（例えば、融合ポリペプチド）が、それらを互いに連結するそのようなドメインの間に一連のアミノ酸を含むことが多いことを理解する。いくつかの実施形態では、リンカー要素を含むポリペプチドは、一般的な形態S1-L-S2の全体的な構造を有し、S1及びS2は、同じであっても異なってもよく、リンカー（L）によって互いに会合する2つのドメインを表す。いくつかの実施形態では、リンカーは、「アミノ酸リンカー」つまり、アミノ酸残基を含み、例えば、アミノ酸リンカーは、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100個以上のアミノ酸残基を含み得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、硬直した三次元構造を採用する傾向がなく、むしろポリペプチドに柔軟性を提供することを特徴とする。

【0078】

本明細書で使用される「多重特異性」という用語は、少なくとも2つの異なる結合パートナー、例えば、抗原または受容体（例えば、Fc受容体）が結合することができる少なくとも2つの結合部位を有する特徴を指す。例えば、少なくとも2つのFab断片を含むポリペプチド複合体であって、2つのFab断片のそれぞれが異なる抗原に結合することができるポリペプチド複合体は、「多重特異性」である。追加の例として、Fc断片（Fc受容体に結合することができる）及びFab断片（抗原に結合することができる）を含むポリペプチド複合体は、「多重特異性」である。

【0079】

本明細書で使用される「多価」という用語は、結合パートナー、例えば、抗原または受容体（例えば、Fc受容体）が結合することができる少なくとも2つの結合部位を有する特徴を指す。少なくとも2つの結合部位に結合することができる結合パートナーは、同じであっても異なってもよい。

【0080】

本明細書で使用される「ナノケージ単量体」という用語は、他のナノケージ単量体と自己組織化し、複数のナノケージ単量体を含む自己組織化ポリペプチド複合体を形成することができるポリペプチドの単一鎖を指す。いくつかの実施形態では、ナノケージ単量体は、フェリチン、アポフェリチン、エンカプスリン（encapsulin）、硫黄オキシゲナーゼ還元酵素（SOR）、ルマジン合成酵素、ビルビン酸脱水素酵素、カルボキシソーム、ヴォールトタンパク質、GroEL、熱ショックタンパク質、E2Pコートタンパク質、MS2コートタンパク質、その断片、及びその変異体の単量体から選択される。

10

【0081】

本明細書で使用される「ポリペプチド」という用語は、一般に、少なくとも3つのアミノ酸のポリマー、例えば、ペプチド結合によって互いに連結されたポリマーという当技術分野で認識されている意味を有する。当業者は、「ポリペプチド」という用語が、本明細書に列挙される完全な配列を有するポリペプチドだけでなく、そのような完全なポリペプチドの機能的断片（すなわち、少なくとも1つの活性を保持する断片）を表すポリペプチドを包含するように十分に一般的であることが意図されていることを理解するであろう。さらに、当業者は、タンパク質配列が一般に、活性を破壊することなくいくつかの置換を許容することを理解する。したがって、活性を保持し、少なくとも約30～40%、しばしば約50%、約60%、約70%、または約80%を超え、さらに通常は、はるかに高い同一性の少なくとも1つの領域内の1つ以上の高度に保存された領域においてしばしば90%を超え、またはなおも95%、96%、97%、98%、または99%を超え、通常、少なくとも3～4個、しばしば最大20個以上のアミノ酸を包含する全体的な配列同一性を、同じクラスの別のポリペプチドと共有する任意のポリペプチドは、本明細書で使用する関連用語「ポリペプチド」に包含される。ポリペプチドは、L-アミノ酸、D-アミノ酸、またはその両方を含み得、当該技術分野で既知の様々なアミノ酸修飾または類似体のいずれかを含み得る。有用な修飾としては、例えば、末端アセチル化、アミド化、メチル化、グリコシル化などが挙げられる。いくつかの実施形態では、タンパク質は、天然アミノ酸、非天然アミノ酸、合成アミノ酸、及びこれらの組み合わせを含んでもよい。

20

30

【0082】

巨大分子複合体（例えば、ポリペプチド複合体）に関して使用される場合、「自己組織化」という用語は、形成される複合体（例えば、融合ポリペプチド）の十分な構成要素が存在するときに、その複合体が自発的に形成されることを指す。いくつかの実施形態では、複合体は、生理学的条件において、または生理学的条件に対応する緩衝液（例えば、溶液）において自己組織化する。

【0083】

本明細書で使用される場合、用語「対象」は、生物、典型的には哺乳動物（例えば、ヒト）を指す。いくつかの実施形態では、対象は、関連する疾患、障害または状態に罹患しているか、または罹患しやすい。いくつかの実施形態では、対象は、疾患、障害または状態の1つ以上の症状または特徴を示す。いくつかの実施形態では、対象は、疾患、障害、または状態の感受性またはリスクに特徴的な1つ以上の特徴を有する人である。いくつかの実施形態では、対象は患者である。いくつかの実施形態では、対象は、診断及び／または治療が施される及び／または施されている対象である。

40

【0084】

本明細書で使用される場合、「治療」（また「治療する」または「治療すること」と）という用語は、特定の疾患、障害、及び／または状態の1つ以上の症状、特徴、及び／または原因の一部または完全に軽減する（alleviate）、緩和する、軽減する（relieve）、阻害する、発症を遅らせる、重症度を低下させる、及び／または発生率を

50

低下させる任意の療法を施すことを指す。いくつかの実施形態では、そのような処置は、関連する疾患、障害及び／または状態の徴候を示さない対象、及び／または疾患、障害及び／または状態の初期徴候のみを示す対象の処置であってもよい。代替的に、または追加的に、そのような処置は、関連する疾患、障害、及び／または状態の1つ以上の確立された兆候を示す対象のものであってもよい。いくつかの実施形態では、治療は、関連する疾患、障害、及び／または状態に罹患していると診断された対象の治療であってもよい。いくつかの実施形態では、治療は、関連する疾患、障害、及び／または状態の発症のリスクの増加と統計的に相関する1つ以上の感受性因子を有することが知られている対象のものであってもよい。

【0085】

本明細書で使用される場合、「腫瘍関連抗原」という用語は、正常細胞よりも著しく多い量で腫瘍細胞上に存在する抗原を意味する。

【0086】

A. 融合ポリペプチド

多くの実施形態では、本明細書に開示される組成物及び方法と適合性のある融合ポリペプチドは、概して、Fcポリペプチドまたは抗原結合抗体断片のいずれかに連結されたナノケージ単量体またはそのサブユニットを含む。融合ポリペプチド内で、Fcポリペプチドまたは抗原結合抗体断片は、ナノケージ単量体またはそのサブユニットの特定の末端、例えば、N末端またはC末端でナノケージ単量体またはそのサブユニットに連結され得る。いくつかの実施形態では、Fcポリペプチドまたは抗原結合抗体断片は、本明細書に記載されるリンカーなどのアミノ酸リンカーを介して連結される。

【0087】

1. ナノケージ単量体及びそのサブユニット

いくつかの実施形態では、ナノケージ単量体はフェリチン単量体である。

【0088】

「フェリチン単量体」という用語は、他のフェリチン鎖の存在下で、複数のフェリチン鎖、例えば24個以上のフェリチン鎖を含むポリペプチド複合体に自己組織化することができるフェリチンの一本鎖を指すために本明細書で使用する。いくつかの実施形態では、フェリチン単量体はフェリチン軽鎖である。いくつかの実施形態では、フェリチン単量体は、鉄に結合することができるか、またはフェロキシダーゼ活性が可能であるフェリチン重鎖または他のフェリチン成分を含まない。

【0089】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体内の各融合ポリペプチドは、フェリチン軽鎖またはフェリチン軽鎖のサブユニットを含む。これらの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、いずれのフェリチン重鎖またはフェリチン重鎖のサブユニットも含まない。

【0090】

いくつかの実施形態では、フェリチン単量体は、ヒトフェリチン鎖、例えば、ヒトフェリチン軽鎖、例えば、配列番号1の少なくとも残基2～175の配列を有するヒトフェリチン軽鎖である。

【0091】

フェリチン単量体の「サブユニット」は、サブユニットと一緒にフェリチン単量体を形成するように、フェリチン単量体の別の、別個のサブユニットと自発的に会合することができるフェリチン単量体の一部を指し、フェリチン単量体は、次に、他のフェリチン単量体と自己組織化してポリペプチド複合体を形成することができる。

【0092】

いくつかの実施形態では、フェリチン単量体サブユニットは、フェリチン単量体の約半分を含む。本明細書で使用される場合、「N-半フェリチン」という用語は、フェリチン鎖のN末端を含むフェリチン鎖の約半分を指す。本明細書で使用される場合、「C-半フェリチン」という用語は、フェリチン鎖のC末端を含むフェリチン鎖の約半分を指す。フ

10

20

30

40

50

ェリチン鎖が N-半フェリチン及び C-半フェリチンを形成するために分割され得る正確な点は、実施形態に応じて変動し得る。例えば、ヒトフェリチン軽鎖に基づくフェリチン単量体サブユニットの文脈では、半分は、配列番号 1 の約 75 位～約 100 位（またはその実質的な部分）の位置に対応する点で分割され得る。例えば、いくつかの実施形態では、ヒトフェリチン軽鎖に基づく N-半フェリチンは、配列番号 1 の残基 1～95（またはその実質的な部分、例えば、配列番号 1 の残基 2～95）に対応するアミノ酸配列を有し、ヒトフェリチン軽鎖に基づく C-半フェリチンは、配列番号 1 の残基 96～175（またはその実質的な部分）に対応するアミノ酸配列を有する。

【0093】

いくつかの実施形態では、半分は、配列番号 1 の約 85～約 92 位の位置に対応する点で分割される。例えば、いくつかの実施形態では、ヒトフェリチン軽鎖に基づく N-半フェリチンは、配列番号 1 の残基 1～90（またはその実質的な部分、例えば、配列番号 1 の残基 2～90）に対応するアミノ酸配列を有し、ヒトフェリチン軽鎖に基づく C-半フェリチンは、配列番号 1 の残基 91～175（またはその実質的な部分）に対応するアミノ酸配列を有する。

10

【0094】

2. Fc ポリペプチド

ある特定の実施形態では、断片結晶化可能な (Fc) ポリペプチドは、それぞれが、同じ Ig クラスの参照 Fc 鎖に対して 1 つ以上の変異を有する Fc 鎖を含む。以下でさらに説明するように、参照 Fc 鎖は、例えば、IgG1 クラスのものであってもよい。

20

【0095】

特に明記しない限り、本開示を通しての抗体断片、例えば、Fc 鎖内の残基の番号付けは、EU 番号付けに従う。

【0096】

いくつかの実施形態では、Fc ポリペプチドは、1 つ以上のヒト IgG1 Fc 鎖を含み、すなわち、本明細書に記載の変異を除いて、Fc ポリペプチドは、野生型ヒト IgG1 内の Fc 鎖のものと実質的に類似する Fc 鎖を含む。

【0097】

いくつかの実施形態では、Fc ポリペプチドは、1 つ以上の IgG1 Fc 鎖（例えば、ヒト IgG1 Fc 鎖またはヒト Fc 鎖）を含み、すなわち、本明細書に記載のある特定の位置に特定の残基（複数可）（対応する野生型 Fc 鎖内の残基（複数可）とは異なる場合がある）を有することを除いて、Fc ポリペプチドは、野生型 IgG1 Fc 内の鎖のものと実質的に類似するアミノ酸配列を有する Fc 鎖を含む。いくつかの実施形態では、野生型 IgG1 Fc は、ヒト IgG1 Fc であり、各 Fc 鎖は配列番号 4 のアミノ酸配列を有する。

30

例えば、Fc ポリペプチドは、野生型 IgG1 Fc 内の Fc 鎖の配列と少なくとも 85 %、少なくとも 87.5 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を有する Fc 鎖を含み得る。いくつかの実施形態では、Fc ポリペプチドは、その Fc 鎖に対して特異的に記載されるある特定の位置（複数可）に特定の残基（複数可）を含むが、それ以外では、野生型 Fc 鎖、例えば、野生型 IgG1 Fc 鎖内の対応する Fc 鎖と 100 % 同一であるアミノ酸配列を有する Fc 鎖を含む。いくつかの実施形態では、Fc ポリペプチドは、配列番号 4 の配列と少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、少なくとも 3 つ、または少なくとも 4 つのアミノ酸残基が異なるアミノ酸配列を有する Fc 鎖を含む。いくつかの実施形態では、Fc ポリペプチドは、配列番号 4 の配列から 10 以下、9 つ以下、8 つ以下、7 つ以下、6 つ以下、5 つ以下、または 4 つ以下のアミノ酸残基が異なるアミノ酸配列を有する Fc 鎖を含む。

40

【0098】

いくつかの実施形態では、Fc ポリペプチドは、例えばアミノ酸リンカーを介して共有

50

結合リンカーによって一緒に連結された2つのFc鎖を含む一本鎖Fc (scFc) である。

【0099】

ある特定の実施形態では、Fc鎖は、(1) 237位のグリシン以外のアミノ酸残基、及び(2) 329位のプロリン残基を含む。いくつかの実施形態では、Fc鎖は、237位のアラニンを含む。

【0100】

いくつかの実施形態では、Fc鎖は、IgG1 Fc鎖であり、234位、235位、236位、330位、及びこれらの組み合わせから選択される1つ以上の位置に変異または変異のセットをさらに含む。

【0101】

例えば、いくつかの実施形態では、Fc鎖は、234位のアラニン、235位のアラニン、236位のアルギニン、237位のアラニン、329位のプロリン、及び330位のロイシンを含むIgG1 Fc鎖である。

【0102】

いくつかの実施形態では、Fc鎖は、グリコシル化に関連する位置、例えば、297位 (例えば、297位のグルタミンを含むことによって) での変異をさらに含む。

【0103】

いくつかの実施形態では、Fc鎖は、本明細書においてさらに記載されるような改変された特徴に関連する変異または変異のセット (対応する野生型Fc鎖に対して) を含む。

「に関連する」とは、変異または変異のセットが、IgG抗体等の抗体の文脈において、改変された特徴 (例えば、FcRnへの改変された結合、改変されたエフェクター機能等) を付与するものとして以前に特徴付けられていることを意味する。「改変された」とは、特性 (例えば、Fc受容体 (例えば、Fcγ受容体またはFcRn) への結合) が、変異または変異のセットなしで観察されたものとは異なることを意味する。

【0104】

例えば、いくつかの実施形態では、改変された特徴は、Fc受容体への改変された結合を含む。

【0105】

いくつかの実施形態では、改変された特徴は、Fcγ受容体、例えば、ヒトFcγRへの改変された結合を含む。いくつかの実施形態では、FcγRは、hFcγRI、hFcγRIIa、hFcγRIIb、hFcγRIIIa、hFcγRIIIb、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるヒトFcγRである。

【0106】

いくつかの実施形態では、改変された結合は、アッセイ、例えば、インビトロアッセイにおいて、対応する対照 (例えば、対応する野生型鎖と同様の状況下で典型的に観察される結合レベル) と比較して、結合を含まないか、または著しく低減した結合を含む。

【0107】

3. 抗体断片

ある特定の実施形態では、抗体断片は、腫瘍関連抗原または自己免疫障害に関連する抗原に結合することができる。

【0108】

いくつかの実施形態では、抗体断片は、Fabである。いくつかの実施形態では、抗体断片は、一本鎖Fab (scFab) であり、例えば、任意選択でリンカー (例えば、本明細書に開示されるアミノ酸リンカー) によって連結される、Fabの重鎖及び軽鎖の両方を含む融合ポリペプチドが使用される。

【0109】

ある特定の実施形態では、抗体断片は、重鎖可変領域 (例えば、V_H) を含む。ある特定の実施形態では、抗体断片は、重鎖可変ドメイン (例えば、V_H) 及び軽鎖可変ドメイン (例えば、V_L または V_K) を含む。ある特定の実施形態では、抗体断片は、重鎖可変

10

20

30

40

50

ドメイン（例えば、 V_H ）及び軽鎖可変ドメイン（例えば、 V_L または V_K ）を含む Fab を含む。

【0110】

ある特定の実施形態では、抗体断片は、Fc 領域由来のいずれのドメインも含まず、例えば、いずれの CH2 または CH3 ドメインも含まない。ある特定の実施形態では、抗体断片は、例えば、完全ヒト、ヒト化、またはキメラ抗体を含む、様々な抗体のうちのいずれかの抗体断片、またはそれに由来するものである。抗体断片が得られるか、または由来する抗体は、例えば、IgG1 抗体、IgG2 抗体、IgG4 抗体を含む様々な抗体クラスの中のいずれかであり得る。いくつかの実施形態では、抗体断片は、アゴニスト抗体、例えば、アゴニストヒト化抗体から得られるか、またはそれに由来する。

10

【0111】

抗体断片を有する複数のタイプの融合ポリペプチドが使用される実施形態では、様々なタイプの融合ポリペプチドにおける抗体断片は、異なる抗原に結合することが可能であってもよいか、抗原上の同じエピトープに結合することが可能であってもよいか、抗原上の別個でありかつ重複していないエピトープに結合することが可能であってもよいか、または抗原上の別個であるが重複しているエピトープに結合することが可能であってもよい。

【0112】

4. リンカー

ある特定の実施形態では、リンカーは、融合ポリペプチド内及び／または scFc などの一本鎖分子内で使用される。いくつかの実施形態では、リンカーはアミノ酸リンカーである。例えば、本明細書で使用されるリンカーは、約 1～約 100 アミノ酸残基、例えば、約 1～約 70、約 2～約 70、約 1～約 30、または約 2～約 30 個のアミノ酸残基を含み得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、少なくとも 2、少なくとも 3、少なくとも 4、少なくとも 5、少なくとも 6、少なくとも 7、少なくとも 8、少なくとも 9、または少なくとも 10 個のアミノ酸残基を含む。

20

【0113】

ある特定の実施形態では、リンカーは、リンカー内の少なくとも 1、少なくとも 2、少なくとも 3、少なくとも 4、少なくとも 5、少なくとも 6、少なくとも 7、少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 10、少なくとも 11、少なくとも 12、少なくとも 13、または少なくとも 14 のコピーに存在するグリシンセリン配列、例えば、 $(G_nS)_m$ 配列（例えば、GGGSG、GGGGS（配列番号 18）、または GGGGS（配列番号 19））を含む。

30

【0114】

B. 自己組織化ポリペプチド複合体

ある態様では、本明細書に開示される複数の融合ポリペプチドを含む自己組織化ポリペプチド複合体が提供される。概して、提供される自己組織化ポリペプチド複合体は、(a) 複数の第 1 の融合ポリペプチドであって、各第 1 の融合ポリペプチドが、(1) Fc ポリペプチドであって、(2) ナノケージ単量体またはそのサブユニットに連結された Fc ポリペプチドを含み、Fc ポリペプチドが、同じ Ig クラスの参照 Fc 鎖に対して 1 つ以上の変異を有する Fc 鎖を含む、複数の第 1 の融合ポリペプチドと、(b) 複数の第 2 の融合ポリペプチドであって、各第 2 の融合ポリペプチドが、(1) 抗原結合抗体断片であって、(2) ナノケージ単量体またはそのサブユニットに連結された抗原結合抗体断片を含む、複数の第 2 の融合ポリペプチドと、を含む。

40

【0115】

いくつかの実施形態では、ナノケージ単量体はフェリチン単量体であり、自己組織化ポリペプチド複合体内の各融合ポリペプチドは、フェリチン軽鎖またはフェリチン軽鎖のサブユニットを含む。これらの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、いずれのフェリチン重鎖、フェリチン重鎖のサブユニット、または鉄に結合することができるか、もしくはフェロキシダーゼ活性が可能である他のフェリチン成分も含まない。

【0116】

50

いくつかの実施形態では、ナノケージ単量体またはそのサブユニットは、フェリチン単量体サブユニットであり、(a) 各第1の融合ポリペプチドは、C-半フェリチンであるフェリチン単量体サブユニットを含み、各第2の融合ポリペプチドは、N-半フェリチンであるフェリチン単量体サブユニットを含む、または(b) 各第1の融合ポリペプチドは、N-半フェリチンであるフェリチン単量体サブユニットを含み、各第2の融合ポリペプチドは、C-半フェリチンであるフェリチン単量体サブユニットを含む。

【0117】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、合計で24～48個の融合ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、合計で24個の融合ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、合計で24個を超える融合ポリペプチド、例えば、少なくとも26個、少なくとも28個、少なくとも30個、少なくとも32個の融合ポリペプチド、少なくとも34個の融合ポリペプチド、少なくとも36個の融合ポリペプチド、少なくとも38個の融合ポリペプチド、少なくとも40個の融合ポリペプチド、少なくとも42個の融合ポリペプチド、少なくとも44個の融合ポリペプチド、少なくとも46個の融合ポリペプチド、または少なくとも48個の融合ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、約32個の融合ポリペプチドを含む。

10

【0118】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、または少なくとも8個の第1の融合ポリペプチドを含む。

20

【0119】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、または少なくとも8個の第2の融合ポリペプチドを含む。

【0120】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、または少なくとも16個の第3の融合ポリペプチドをさらに含む。

30

【0121】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体は、他のすべての融合ポリペプチドに対する第1の融合ポリペプチドの約1:1、11:13、3:5、1:2、7:17、1:3、2:7、5:19、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:12、1:24の比を含む。

【0122】

薬物動態学的特徴

ある特定の実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体を必要とする対象に投与されたとき、提供される自己組織化ポリペプチド複合体は、参照IgG分子（例えば、自己組織化ポリペプチド複合体内の第1の融合ポリペプチドのFcポリペプチド内のFc鎖のクラスにマッチするIgG分子）のものと同様な1つ以上の薬物動態学的特徴を有する。いくつかの実施形態では、本明細書で論じられる薬物動態学的特徴（例えば、半減期、AUC、及び／またはC_{max}）の範囲は、自己組織化ポリペプチド複合体がヒト対象に投与されたときに得られる。いくつかの実施形態では、本明細書で論じられる薬物動態学的特徴の範囲は、自己組織化ポリペプチド複合体が全身経路、例えば、静脈内または皮下投与を介して投与されたときに得られる。

40

【0123】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される自己組織化ポリペプチド複合体は、参照IgG分子と同様の半減期を有する。参照IgG分子は、例えば、自己組織化ポリペ

50

チド複合体内の第2及び／または第3の融合ポリペプチド内の抗原結合抗体断片が由来する抗体であってもよい。例えば、第2及び／または第3の融合ポリペプチド内の抗原結合断片が「抗体A」由来の可変領域を含む場合、いくつかの実施形態では、参照IgG分子は、「抗体A」であってもよい。

【0124】

いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体を必要とする対象に投与した後に、自己組織化ポリペプチド複合体は、約3～35日、約3～約28日、約3～約21日、約3～約14日、約3～約10日、約3～約7日、約3～約5日、約5～約35日、約5～約28日、約5～約21日、約5～約14日、約5～約10日、約5～約7日、約7～約35日、約7～約28日、約7～約21日、約7～約14日、約7～約10日、約10～約35日、約10～約28日、約10～約21日、約10～約14日、約14～約35日、約14～約28日、約14～約21日、約21日～約35日、または約21～約28日の半減期を有する。いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体を必要とする対象に投与した後に、自己組織化ポリペプチド複合体は、少なくとも3日、少なくとも5日、少なくとも7日、少なくとも10日、少なくとも14日、少なくとも21日、または少なくとも28日の半減期を有する。いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体を必要とする対象に投与した後、自己組織化ポリペプチド複合体は、少なくとも3日後、少なくとも5日後、少なくとも7日後、少なくとも10日後、少なくとも14日後、少なくとも21日後、または少なくとも28日後に血清中で検出可能である。

【0125】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される自己組織化ポリペプチド複合体は、参照IgG分子、例えば、自己組織化ポリペプチド複合体に含まれるFab断片が由来する抗体のものと同様のバイオアベイラビリティを有する。例えば、いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体を必要とする対象に投与した後、自己組織化ポリペプチド複合体は、約10～約8000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約7000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約6000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約5000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約4000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約3000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約2500日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約1000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約1500日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約1000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約750日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約500日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約400日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約300日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約200日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約100日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約50日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10～約25日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約8000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約7000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約6000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約5000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約4000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約3000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約2500日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約1000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約1500日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約1000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約750日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約500日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約400日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約300日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約200日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約100日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25～約50日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50～約8000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50～約7000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50～約6000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50～約5000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50～約4000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50～約3000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50～約2500日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50～約2000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50～約1500日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50～約1000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50～約750日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50～約500日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50～約400日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50～約300日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50～約200日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50～約100日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約100～約8000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約100～約7000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約100～約6000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約100～約5000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約100～約4000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約100～約3000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約100～約2500日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約100～約1000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約100～約1500日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約100～約1000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約100～約750日・

50

Lの曲線下面積（AUC）を有する。いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体を必要とする対象に投与した後、自己組織化ポリペプチド複合体は、少なくとも10日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも25日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも50日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも100日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも200日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも300日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも400日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも500日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも750日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも1000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも1500日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも2000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも2500日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも3000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも4000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも5000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも6000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも7000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、または少なくとも8000日・ $\mu\text{g}/\text{mL}$ のAUCを有する。

10

【0126】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される自己組織化ポリペプチド複合体は、参照IgG分子のものと同様のバイオアベイラビリティを有する。例えば、いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体を必要とする対象に投与した後に、自己組織化ポリペプチド複合体は、約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約750mg/mL、約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約750mg/mL、約50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約750mg/mL、約75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約750mg/mL、約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約750mg/mL、約250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約750mg/mL、約500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約750mg/mL、約750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約750mg/mL、約1mg/mL～約750mg/mL、約10mg/mL～約750mg/mL、約25mg/mL～約750mg/mL、約50mg/mL～約750mg/mL、約75mg/mL～約750mg/mL、約100mg/mL～約750mg/mL、約250mg/mL～約750mg/mL、約500mg/mL～約750mg/mL、約750mg/mL～約750mg/mL、約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約500mg/mL、約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約500mg/mL、約50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約500mg/mL、約75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約500mg/mL、約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約500mg/mL、約250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約500mg/mL、約500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約500mg/mL、約750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約500mg/mL、約1mg/mL～約500mg/mL、約10mg/mL～約500mg/mL、約25mg/mL～約500mg/mL、約50mg/mL～約500mg/mL、約75mg/mL～約500mg/mL、約100mg/mL～約500mg/mL、約250mg/mL～約500mg/mL、約500mg/mL～約500mg/mL、約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約250mg/mL、約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約250mg/mL、約50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約250mg/mL、約75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約250mg/mL、約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約250mg/mL、約250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約250mg/mL、約500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約250mg/mL、約750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約250mg/mL、約1mg/mL～約250mg/mL、約10mg/mL～約250mg/mL、約25mg/mL～約250mg/mL、約50mg/mL～約250mg/mL、約75mg/mL～約250mg/mL、約100mg/mL～約250mg/mL、約250mg/mL～約250mg/mL、約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約100mg/mL、約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約100mg/mL、約50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約100mg/mL、約75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約100mg/mL、約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約100mg/mL、約250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約100mg/mL、約500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約100mg/mL、約750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約100mg/mL、約1mg/mL～約100mg/mL、約10mg/mL～約100mg/mL、約25mg/mL～約100mg/mL、約50mg/mL～約100mg/mL、約75mg/mL～約100mg/mL、約100mg/mL～約100mg/mL、約250mg/mL～約100mg/mL、約500mg/mL～約100mg/mL、約750mg/mL～約100mg/mL、約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約75mg/mL、約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約75mg/mL、約50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約75mg/mL、約75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約75mg/mL、約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約75mg/mL、約250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約75mg/mL、約500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約75mg/mL、約750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約75mg/mL、約1mg/mL～約75mg/mL、約10mg/mL～約75mg/mL、約25mg/mL～約75mg/mL、約50mg/mL～約75mg/mL、約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約50mg/mL、約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約50mg/mL、約50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約50mg/mL、約75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約50mg/mL、約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約50mg/mL

20

30

40

50

、約250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約50 mg/mL 、約500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約50 mg/mL 、約750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約50 mg/mL 、約1 mg/mL ～約50 mg/mL 、約10 mg/mL ～約50 mg/mL 、約25 mg/mL ～約50 mg/mL 、約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約25 mg/mL 、約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約25 mg/mL 、約50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約25 mg/mL 、約75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約25 mg/mL 、約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約25 mg/mL 、約250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約25 mg/mL 、約500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約25 mg/mL 、約750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約25 mg/mL 、約1 mg/mL ～約25 mg/mL 、約10 mg/mL ～約25 mg/mL 、約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約10 mg/mL 、約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約10 mg/mL 、約50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約10 mg/mL 、約75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約10 mg/mL 、約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約10 mg/mL 、約250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約10 mg/mL 、約500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約10 mg/mL 、約750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約10 mg/mL 、約1 mg/mL ～約10 mg/mL 、約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約1 mg/mL 、約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約1 mg/mL 、約50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約1 mg/mL 、約75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約1 mg/mL 、約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約1 mg/mL 、約250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約1 mg/mL 、約500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約1 mg/mL 、約750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約1 mg/mL 、約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、または約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の最大濃度 (C_{max}) を有する。いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体を必要とする対象に投与した後に、自己組織化ポリペプチド複合体は、少なくとも10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、少なくとも1 mg/mL 、少なくとも10 mg/mL 、少なくとも25 mg/mL 、少なくとも50 mg/mL 、少なくとも75 mg/mL 、少なくとも100 mg/mL 、少なくとも250 mg/mL 、少なくとも500 mg/mL 、または少なくとも750 mg/mL の最大濃度 (C_{max}) を有する。

10

20

30

40

50

【0127】

効果

いくつかの実施形態では、対象への本明細書に開示される自己組織化ポリペプチド複合体の投与は、対象における臨床転帰または測定基準の改善をもたらす。例えば、腫瘍を有する対象において、自己組織化ポリペプチド複合体の投与は、腫瘍の阻害または進行の遅延、例えば、腫瘍の退縮を引き起こし得る。いくつかの実施形態では、自己組織化ポリペプチド複合体の投与は、腫瘍の完全な退縮をもたらす。

【0128】

C. 治療方法

ある態様では、一般に、本開示の自己組織化ポリペプチド複合体を含む組成物を対象に投与するステップを含む、疾患または状態（例えば、感染症、がん、または自己免疫疾患）の治療、緩和、または予防に有用であり得る方法が提供される。

【0129】

いくつかの実施形態では、対象は哺乳動物、例えばヒトである。

【0130】

対象に投与するための組成物は、一般に、本明細書に開示される自己組織化ポリペプチド複合体を含む。いくつかの実施形態では、そのような組成物は、薬学的に許容される賦形剤をさらに含む。

【0131】

組成物は、全身経路（例えば、経口、吸入、鼻腔内、静脈内、腹腔内、皮下、または筋肉内投与）を含む、様々な投与経路のいずれかの投与のために製剤化され得る。

【0132】

いくつかの実施形態では、投与ステップは、対象における1つ以上の臨床転帰または測定基準の改善をもたらす。

【0133】

いくつかの実施形態では、投与ステップは、腫瘍の進行の遅延または阻害、例えば、腫瘍の退縮をもたらす。いくつかの実施形態では、投与ステップは、腫瘍の完全な退縮をもたらす。

【実施例】

【0134】

実施例1．代表的なDR5標的化Multabodyの構築及び発現

この実施例は、(1) ヒトフェリチン軽鎖またはそのサブユニットと、(2) 本明細書に記載の(Gly_n-Ser)_mアミノ酸リンカーなどのリンカーを介して融合された一本鎖Fab(scFab)または一本鎖Fc-二量体(scFc)とを含む融合タンパク質の組み合わせを含むDR5標的化Multabody(MB)の生成を説明する。

【0135】

遺伝子コード融合タンパク質、(1) hFTL(aDR5-hFTL、配列番号9)のN末端に融合した抗DR5抗体(この場合、コナツムマブ)のscFab、(2) N-半フェリチンのN末端に融合した抗DR5抗体(aDR5-N-hFTL、配列番号11)のscFab、及び(3) C-半フェリチンのN末端に融合したscFc(以下にさらに記載される様々なscFc-C-hFTL構築物)を調製し、2:1:1のモル比で混合し、DR5標的化MBの産生及び形成のためにExp iCHO-S細胞に一過性トランスフェクションした。図1Bを参照されたい。

【0136】

scFc-フェリチン融合タンパク質は、野生型(WT)または操作されたIgG1Fc鎖を含んでいた。操作されたIgG1Fc鎖は、以下の表1に示されるように、L234A、L235A、G236R、G237A、P329G、及びA330L変異の様々な組み合わせを含んでいた。表1の番号付けは、EU番号付けスキームに従う。

【0137】

表1．scFc-C-hFTL構築物のMultabody及び対応する配列番号で使用するIgG1Fc鎖内のある特定の位置の残基

操作されたFc鎖のセットに対応する行では、残基は、野生型残基とは異なる位置でのみ示される。

10

20

30

40

50

【表 1】

アミノ酸 位置→	2 3 4	2 3 5	2 3 6	2 3 7	3 2 9	3 3 0	対応する s c F c - C__h F T L 構築物の配列番号
WT (野生 型)	L	L	G	G	P	A	配列番号 1 3
L A L A	A	A					配列番号 1 4
L A L A P	A	A			G		配列番号 1 5
L L R A L	A	A	R	A		L	配列番号 1 6
L L G R A L	A	A	R	A	G	L	配列番号 1 7

10

【0138】

実施例 2. バイオレイヤー干渉法によって決定される M u l t a b o d y の標的結合組換えヒト D R 5 (h D R 5)、カニクイザル D R 5 (c D R 5)、マウス D R 5 (m D R 5)、及びラット D R 5 (r D R 5) への実施例 1 に記載されるように生成された例示的な M B の結合動態及び親和性を、O c t e t R E D 9 6 機器を使用して、バイオレイヤー干渉法 (B L I) によって決定した。(1) D R 5 に結合する完全ヒトモノクローナル I g G 1 抗体であるコナツムマブ、及び(2) 表 1 に記載の「L L R A L」変異を有する s c F c を含む融合ポリペプチドを含み、コナツムマブに由来する s c F a b を含む融合ポリペプチドも含む M u l t a b o d y である C o n a M B I g G 1 L L R A L について、結合特性を決定した。

20

【0139】

簡潔には、N i - N T A バイオセンサを h D R 5 - H i s、c D R 5 - H i s、m D R 5 - H i s、または r D R 5 - H i s (C 末端ポリヒスチジンタグを有する h D R 5、c D R 5、m D R 5、または r D R 5 の細胞外ドメイン) でコーティングして、0.8 nm のシグナル応答に達した。コーティングしたバイオセンサを、P B S - 0.02% T - 0.01% B S A (0.02% (v/v) T w e e n (登録商標) 20 及び 0.01% (w/v) B S A を補充した P B S) 中の試験 M B (20-10-5-2.5-1.25-0.63 nM) の連続希釈物を含むウェルに、180 秒間 (会合段階) 浸し、次いで、P B S - 0.02% T - 0.01% B S A に 180 秒間 (解離段階) 浸した。すべての測定は、振盪速度 1000 r p m で、P B S - 0.02% T - 0.01% B S A、p H 7.4 中で、30℃で行い、リアルタイムで監視された。実験の間に、10 mM の p H 1.7 のグリシンを 5 秒間 4 回適用し、続いて、10 mM の N i S O 4 を 1 分間再充填することによって、バイオセンサを再生成した。

30

40

【0140】

会合段階の終了時の最大会合結合応答、解離速度 (k o f f)、及び/または 1:1 の適合モデルを使用して計算された平衡解離定数 (K D) に基づいて、標的結合を評価した。試験 M B が 20 nM のときの 0.1 nm 未満の最大会合結合応答は、「非結合」として分類した。

【0141】

k o n、k o f f、及び得られた試験分子の K D について決定した値を表 2 に要約する。およそのピコモル以下の親和性でヒト及びカニクイザル D R 5 に結合した C o n a M B I g G 1 L L R A L は、マウスまたはラット D R 5 への結合を示さなかった。(装

50

置は1ピコモルの検出限界を有する。)これらの観察は、コナツムマブ(「Cona」)の結合プロフィールと一致している。

【表2】

表2. BLIによって決定されるMultabodyの標的結合に対する速度定数及び親和性

試験物品	hDR5			cDR5			mDR5	rDR5
	k_{on} [M ⁻¹ × s ⁻¹]	k_{off} [s ⁻¹]	K_D [M]	k_{on} [M ⁻¹ × s ⁻¹]	k_{off} [s ⁻¹]	K_D [M]		
Cona MB IgG1 LLRAL	1.4×10^6	$< 1.0 \times 10^{-7}$	$< 1.0 \times 10^{-12}$	1.5×10^6	$< 1.0 \times 10^{-7}$	$< 1.0 \times 10^{-12}$	非結合	非結合
Cona	2.4×10^5	2.2×10^{-5}	8.9×10^{-11}	ND	ND	ND		

10

【0142】

実施例3. バイオレイヤー干渉法によって決定されるMultabodyの結合特異性
BLIを用いて、例示的なDR標的化MBの関連する腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリー(TNFRSF)メンバーへの非特異的結合を評価した。

20

【0143】

実験は、ヒトDR4、ヒトオステオプロテゲリン(OPG)、ヒトデコイ受容体1(DcR1)、またはヒトDcR2-hDR4-His、hOPG-His、hDcR1-His、もしくはhDcR2-HisのHisタグ付き細胞外ドメインをNi-NTAバイオセンサ上にコーティングし、様々な濃度での試験MBで滴定したことを除いて、実施例2に記載されるように同様に行った。

【0144】

図2A、2B、2C、2D、及び2Eは、得られたセンサグラムに関連するセグメントの代表的な例を示す。Cona MB IgG1 LLRALは高い特異性でDR5と結合し、他の試験したTNFRSFメンバーへの結合を示さなかった。

30

【0145】

実施例4. バイオレイヤー干渉法によって決定されるFc受容体に対するMultabodyの結合

様々なDR5標的化MB(各々が異なるFc変異のセットを含み、実施例1に記載されるように生成される)の様々なFc受容体への結合動態及び親和性をBLIによって決定した。

【0146】

この実施例で試験したすべてのMBは、DR5に結合するコナツムマブに由来するscFabを含むポリペプチドを含んでいた。これらのDR5標的化MB(「Cona MB」)はまた、野生型Fc鎖(IgG1 wt)またはある特定の変異の組み合わせを有するFc鎖(IgG1 LLRAL)のいずれかを有するscFcを有するポリペプチドを含む。(表1を参照されたい)

40

【0147】

以下のヒト、カニクイザル、及びマウスFc受容体への結合を決定した: ヒトFcガンマ受容体I型(hFcγRI)、hFcγRIIa、hFcγRIIb、hFcγRIIIa、hFcγRIIIb、ヒト新生児Fc受容体(hFcRn)、カニクイザルFcγRI(cFcγRI)、cFcγRIIa、cFcγRIIb、cFcγRIII、cFcRn、マウスFcγRI(mFcγRI)、mFcγRIIb、mFcγRIII、m

50

F c γ R I V、及び m F c R n。

【 0 1 4 8 】

実験は、H i s タグ付き F c 受容体を N i - N T A バイオセンサ上にコーティングし、様々な濃度での滴定したことを除いて、実施例 2 に記載されるように同様に行った。M B がエンドソームリサイクルを受ける可能性を評価するために、会合については p H 6 . 0 及び解離については p H 7 . 4 で F c R n への結合を測定した。

【 0 1 4 9 】

表 3 は、様々な F c γ R に結合する M B について決定された k o n、k o f f、及び K D 値を要約する。野生型 I g G 1 F c (I g G 1 W T) を有する C o n a M B は、ヒト、カニクイザル、及びマウス F c γ R に結合した。I g G 1 L L R A L を有する C o n a M B は、ヒト、カニクイザル、及びマウス F c γ R への減少した結合を示した。

【 0 1 5 0 】

図 3 は、F c R n 結合研究から得られたセンサグラムの関連するセグメントの代表的な例を示す。すべての試験した M B は、p H 6 . 0 でヒト、カニクイザル、及びマウス F c R n に結合し、p H 7 . 4 で受容体から解離した。C o n a M B I g G 1 L L R A L は、p H 7 . 4 でヒトまたはカニクイザル F c R n から C o n a M B I g G 1 W T と同等の速度で解離した。

10

20

30

40

50

【表 3 - 1】

表3. B L Iによって決定されるM u l t a b o d yのF c γ Rに対する速度定数及び親和性

		C o n a MB I g G 1 W T	C o n a MB I g G 1 L L R A L
h F c γ R I	k o n [M ⁻¹ × s ⁻¹]	5. 6 7 × 1 0 ⁵	非結合
	k o f f [s ⁻¹]	< 1. 0 × 1 0 ⁻⁷	
	K _D [M]	< 1. 0 × 1 0 ⁻¹²	
h F c γ R I I a	k o n [M ⁻¹ × s ⁻¹]	1. 3 4 × 1 0 ⁶	非結合
	k o f f [s ⁻¹]	< 1. 0 × 1 0 ⁻⁷	
	K _D [M]	< 1. 0 × 1 0 ⁻¹²	
h F c γ R I I b	k o n [M ⁻¹ × s ⁻¹]	1. 4 7 × 1 0 ⁶	非結合
	k o f f [s ⁻¹]	< 1. 0 × 1 0 ⁻⁷	
	K _D [M]	4. 8 1 × 1 0 ⁻¹²	
h F c γ R I I I a	k o n [M ⁻¹ × s ⁻¹]	1. 3 2 × 1 0 ⁶	非結合
	k o f f [s ⁻¹]	< 1. 0 × 1 0 ⁻⁷	
	K _D [M]	< 1. 0 × 1 0 ⁻¹²	
h F c γ R I I I b	k o n [M ⁻¹ × s ⁻¹]	1. 5 7 × 1 0 ⁶	非結合
	k o f f [s ⁻¹]	8. 4 4 × 1 0 ⁻⁵	
	K _D [M]	5. 3 7 × 1 0 ⁻¹¹	
c F c γ R I	k o n [M ⁻¹ × s ⁻¹]	4. 7 2 × 1 0 ⁵	非結合
	k o f f [s ⁻¹]	< 1. 0 × 1 0 ⁻⁷	
	K _D [M]	< 1. 0 × 1 0 ⁻¹²	

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

c F c γ R I I a	k _{on} [M ⁻¹ × s ⁻¹]	1. 0 1×1 0 ⁶	非結合
	k _{off} [s ⁻¹]	2. 0 1×1 0 ⁻⁴	
	K _D [M]	1. 9 9×1 0 ⁻¹⁰	
c F c γ R I I b	k _{on} [M ⁻¹ × s ⁻¹]	1. 0 7×1 0 ⁶	非結合
	k _{off} [s ⁻¹]	1. 7 9×1 0 ⁻⁴	
	K _D [M]	1. 6 7×1 0 ⁻¹⁰	
c F c γ R I I I	k _{on} [M ⁻¹ × s ⁻¹]	3. 2 2×1 0 ⁵	非結合
	k _{off} [s ⁻¹]	< 1. 0×1 0 ⁻⁷	
	K _D [M]	< 1. 0×1 0 ⁻¹²	
m F c γ R I	k _{on} [M ⁻¹ × s ⁻¹]	7. 4 6×1 0 ⁵	非結合
	k _{off} [s ⁻¹]	< 1. 0×1 0 ⁻⁷	
	K _D [M]	< 1. 0×1 0 ⁻¹²	
m F c γ R I I b	k _{on} [M ⁻¹ × s ⁻¹]	8. 8 9×1 0 ⁵	非結合
	k _{off} [s ⁻¹]	2. 9 8×1 0 ⁻⁴	
	K _D [M]	3. 3 5×1 0 ⁻¹⁰	
m F c γ R I I I	k _{on} [M ⁻¹ × s ⁻¹]	7. 0 4×1 0 ⁵	非結合
	k _{off} [s ⁻¹]	4. 9 0×1 0 ⁻⁴	
	K _D [M]	6. 9 6×1 0 ⁻¹⁰	

【表 3 - 3】

m F c γ R I V	k _{on} [M ⁻¹ × s ⁻¹]	3. 5 6×1 0 ⁵	非結合
	k _{off} [s ⁻¹]	< 1. 0×1 0 ⁻⁷	
	K _D [M]	< 1. 0×1 0 ⁻¹²	

【0151】

実施例5．インビトロ腫瘍細胞傷害性の評価

例示的なDR5標的化MB（実施例1に記載されるように生成される）の細胞傷害性を、異なる腫瘍細胞株を使用して評価した。Cona MB IgG1 wt及びCona MB IgG1 LLRALを、COLO205（ヒト結腸癌）、HCT-15（ヒト結腸癌）、NCI-H2122（ヒト肺癌）、SNU-5（ヒト胃癌）、Capan-1（ヒト膵臓癌）、MDA-MB-231（浸潤性導管癌）、BxPC-3（ヒト膵臓癌）、及びNCI-H2228（ヒト肺癌）細胞株に対して試験した。

【0152】

腫瘍細胞株を、96ウェルプレート中にウェル当たり5000個の細胞で播種し、一晚インキュベートして、結合を容易にした。翌日、細胞をDR5標的化MBまたは抗DR5（コナツムマブ）の連続希釈で処理し、37℃で24時間インキュベートした。細胞生存率を、製造業者の指示に従って、CellTiter-Glo Luminescence Cell Viability Assay（Promega）を使用して測定した。簡潔には、アッセイ試薬（100μL）を室温で100μLの細胞に添加し、プレートシェーカーを使用して500rpmで2分間混合し、室温で10分間インキュベートした。発光シグナルは、Synergy Neo2 Multi-Mode Assay Microplate Reader（BioTek Instruments）を使用して読み取った。

【0153】

図4は、これらの実験からの結果を示す。図4において、（ビヒクル処置された腫瘍細胞と比較した）生存細胞のパーセンテージを、x軸上の試験分子濃度に対してy軸上にプロットした。データを、非線形回帰（対数阻害剤対応答、可変スロープ、4つのパラメータ）を用いてPrism9.1.2ソフトウェア（GraphPad）を使用して適合させた。表4は、得られたIC50値を提供する。試験したDR5標的化MB（Cona MB IgG1 wt及びCona MB IgG1 LLRAL）の両方は、ヒトがん細胞株の細胞傷害性を誘導することができた。一方、IgG1抗体であるコナツムマブは、腫瘍細胞傷害性を誘導しなかったか、または非常に乏しい誘導であった。

【表4】

表4．腫瘍細胞傷害性の評価

		Cona	Cona MB IgG1 wt	Cona MB IgG1 LL RAL
IC ₅₀ [pM]	COLO205	>33000	4.06	2.38
	HCT-15	>33000	13.58	9.53
	NCI-2122	>33000	4.99	5.86
	SNU-5	>33000	11.14	9.51
	Capan-1	>33000	13.73	15.7
	MDA-MB-2 31	>33000	34.17	23.96
	BxPC-3	>33000	54.64	50.2
	NCI-H222 8	>33000	79.67	77.15

【0154】

実施例6．マウスにおけるMultabodyの薬物動態

実施例1に記載されるように生成された例示的なDR5標的化MB (Cona MB IgG1 LLRAL及びコナツムマブ)の薬物動態(PK)を、8週齢の雌BALB/c SCIDマウス(Jackson Labs)において分析した。

【0155】

単回用量PK研究について、マウスは、5mg/kgで、200μLの試験分子の単回ボラス注射を腹腔内(i.p.)または静脈内(i.v.)で受けた(1群当たりN=8匹のマウス、1時点当たりN=4匹のマウス)。50~100μLの血液試料を、3時間、24時間、48時間、72時間、5日、7日、15日、及び21日の時点で収集した。

10

【0156】

複数回用量PK研究について、マウスに、9日目に、5mg/kgで200μLの試験分子を注射し、続いて、96時間後に5mg/kgで200μLの試験分子の第2の注射を行った。50~100μLの血液試料を、第1の用量の3時間後、24時間後、48時間後、72時間後、及び96時間後、ならびに第2の用量の3時間後、24時間後、48時間後、72時間後、5日後、7日後、及び14日後に収集した。

【0157】

血液試料を伏在静脈からヘパリンでコーティングしたチューブに収集し、指でボルテックスして混合を確実にした。その後、試料を、4℃で、1500×gで15分間遠心分離し、血漿試料を収集し、ELISAアッセイで使用するまで直ちに-80℃で保存した。

20

【0158】

ELISAで血漿薬物レベルを測定するために、PBS中2μg/mLの組換えDR5を4℃で一晩、Maxisorpプレート(Fisher Scientific)にコーティングした。PBS-0.05%T(0.05%(v/v)Tween(登録商標)-20を補充したPBS)で2回洗浄した後、プレートをPBS中3%(w/v)BSAで、室温で1時間ブロックし、その後、PBS-0.05%Tで2回洗浄した。血漿試料を、PBS-0.05%T-0.5%BSA(0.05%(v/v)Tween(登録商標)-20及び0.5%(w/v)BSAを補充したPBS)中に希釈し、ウェルに添加し、室温及び500rpmの振動数で1時間インキュベートし、続いて、PBS-0.05%Tで別の洗浄ステップを行った。1:10000で希釈したヤギポリクローナル抗ヒトFc-HRP二次抗体(Jackson ImmunoResearch)でインキュベーションすることによって、結合分子を検出した。PBS-0.05%Tでのさらなる洗浄ステップの後、OptEIA(商標)TMB基質試薬セット(BD Biosciences)を製造業者の指示に従って検出に使用し、Synergy Neo2 Multi-Mode Assay Microplate Reader(BioTek Instruments)を使用して450nmでの吸光度を読み取った。PBS-0.05%T-0.5%BSA中の試験分子の希釈を使用して、校正曲線を準備した。

30

【0159】

図5Aは、これらの薬物動態研究の設計を示す概略図である。

40

【0160】

図5Bは、Cona MB IgG1 wt、Cona MB IgG1 LLRAL、及びコナツムマブ(「Cona」)の単回用量PK研究における経時的な血漿濃度のプロットを示す。表5は、計算された半減期の要約を表す。Cona MB IgG1 LLRALは、Cona MB IgG1 wtと比較して著しく増強されたPK特性を示した。最初の7日間、Cona MB IgG1 LLRALの血漿濃度は、コナツムマブの血漿濃度と同等のままであった。15日目のCona MB IgG1 LLRAL血漿濃度は、インビトロ細胞傷害性アッセイ(実施例5を参照されたい)で決定したIC50値(約0.04μg/mL)の125倍、及び21日目でIC50値の40倍であった。

50

【0161】

図5Cは、Cona MB IgG1 LLRAL及びコナツムマブについての複数回用量PK研究における経時的な血漿濃度のプロットを示す。

【表5】

表5. 単回用量後のマウスにおける半減期

半減期 [日]	Cona i. v.	Cona MB I gG1 LLRAL i. v.	Cona MB I gG1 wt i. v.
3時間～24時間	3. 5	1. 0	0. 9
24時間～5日	5. 7	5. 2	1. 5
5日～15日	14. 8	3. 1	2. 2

10

【0162】

実施例7. 異種移植マウスモデルにおけるDR5標的化Multabodyの治療効果
例示的なMultabodyの治療効果を、結腸癌異種移植モデルにおいて評価した。

図6Aは、インビボ有効性研究の試験設計を示す概略図を示す。

【0163】

5×10^6 個のCOLO205細胞を、BALB/c SCIDマウス（群当たり $n = 12$ ）の脇腹に皮下注射した。腫瘍を 200 mm^3 の平均サイズまで成長させた。平均腫瘍体積が群間で等しくなるように、マウスを処置群または対照群に分類した（図6B）。マウスは、2週間にわたって週1回または2回、腹腔内（i. p.）注射を介して処置（用量当たり 5 mg/kg ）または対照を受けた（図6A）。腫瘍体積を、キャリパーを使用して週2回測定した。血液試料を、初回用量の24時間後、7日後、14日後、及び21日後に収集し、血漿中の薬物レベルを実施例6に記載されるように測定した。

20

【0164】

図6B～6Gは、様々な群におけるマウスの腫瘍体積を示すプロットである。図6B及び図6D～6Gのプロットは、経時的な腫瘍体積を示し、図6Cのプロットは、処置開始後88日目の腫瘍体積を示す。Cona MB IgG1 LLRALによる処置は、週1回または2回、大きな確立された腫瘍の成長を著しく阻害し、Cona MB IgG1 LLRALが大きなサイズであっても腫瘍を浸潤することができたことを示唆している。Cona MB IgG1 LLRALは、コナツムマブよりも腫瘍成長をより強く阻害し、それぞれ、週1回処置群及び週2回処置群において9/12及び11/12の完全な退縮がもたらされた。これは、コナツムマブ処置群でわずか1/12の完全な寛解と比較している。

30

【0165】

図6Hは、第1の用量後の時間（x軸）の関数としての血漿中の試験分子の濃度（y軸）を示すプロットである。COLO205結腸癌マウスモデルで観察されたCona MB IgG1 LLRALの薬物動態プロファイルは、実施例6に記載の複数回用量PK研究で観察されたものと同様であった。（図5Bを参照されたい）。これらの結果は、腫瘍の存在が、Multabodyのクリアランスに影響を与えないことを示唆している。

40

【0166】

これらの実験を、ビヒクル、コナツムマブ、またはCona MB IgG1 LLRALを2週間にわたって1週間に1回、用量当たり 5 mg/kg でを使用して、同じ研究設計を有する第2の研究で繰り返した。この第2の研究の結果は、第1の研究の結果と同様であり、ビヒクル群で腫瘍退縮は観察されず、コナツムマブ群の10匹のマウスのいずれも完全な腫瘍退縮を示さず、Cona MB IgG1 LLRAL群の10匹すべてのマウスは完全な腫瘍退縮を示した（データには示さず）。この第2の研究の結果は、Cona MB IgG1 LLRALの治療効果が週1回の投与で非常に再現性があること

50

を示す。

【0167】

実施例8．異種移植マウスモデルにおけるDR5標的化Multabodyの用量範囲有効性

Cona IgG1 MB LLRALの用量範囲有効性も、実施例6で使用した同じ結腸癌異種移植モデルで調査した。

【0168】

5×10⁶個のCOLO205細胞を、Balb/c SCIDマウスの脇腹に皮下注射した。腫瘍を200mm³の平均サイズまで成長させた。平均腫瘍体積が各群にわたって等しくなるように、マウスを5つのグループ（ビヒクルまたは用量当たり0.1mg/kg、0.25mg/kg、1mg/kg、もしくは5mg/kgのCona MB IgG1 LLRAL）のうちの1つに分類した。マウスは、3週間にわたって週1回腹腔内（i.p.）注射を介して処置またはビヒクルを受けた。腫瘍体積を、キャリパーを使用して週2回測定した。実験全体を通して血液試料を採取した。

【0169】

図7Aは、第1の用量後の経時的な様々な群におけるマウスの腫瘍体積を示すプロットである。「MB」は、Cona MB IgG1 LLRAL群を示す。図7B～7Fは、ビヒクル（図7B）ならびに5mg/kg、1mg/kg、0.25mg/kg、及び0.1mg/kgのCona MB IgG1 LLRAL処置（それぞれ、図7C、図7D、図7E、及び図7F）群内の個々のマウスの腫瘍体積を示す。図7Aに示されるように、0.25mg/kg、1mg/kg、及び5mg/kgの用量で、Cona MB IgG1 LLRALで処置したマウスは、ビヒクル群よりも著しい改善を示した。Cona MB IgG1 LLRALは、最初は1mg/kg及び5mg/kgの用量で同様の有効性を有するよう思われた。しかしながら、1mg/kgは、12匹のマウスのうち12匹で完全な退縮が見られた5mg/kgの処置群よりも、より少ない完全奏効及びさらなる再成長を示した。

【0170】

図7Gは、第1の用量が投与された後の様々な時点で収集された血液試料中で検出可能なCona MB IgG1 LLRALの量を示すプロットである。Cona MB IgG1 LLRALは、0.1mg/kg、0.25mg/kg、1mg/kg、及び5mg/kgのCona MB IgG1 LLRAL処置群で試験されたすべての時点で血漿中で検出可能であり、薬物動態はすべての用量群で直線的に現れた。

【0171】

これらの結果は、Cona MB IgG1 LLRALが、実施例6で試験されたものよりも5倍低い用量レベルでの同等の有効性を含む、試験された複数回用量で治療有効性を示したことを実証する。しかしながら、5mg/kgの用量レベルで完全な腫瘍の退縮が観察されたが、用量レベルを1mg/kgに低下させたときにいくつかの腫瘍の再成長が観察された。

【0172】

実施例9．DR5標的化Multabodyによる大腫瘍の浸潤及びアポトーシスの誘導
実施例1に記載されるように生成された例示的なMultabodyを、結腸異種移植モデルにおいて、大腫瘍を浸潤し、アポトーシスを誘導する能力について評価した。

【0173】

5×10⁶個のCOLO205細胞を、Balb/c SCIDマウスの脇腹に皮下注射した。腫瘍を500mm³の平均サイズにした。腫瘍体積を、キャリパーを使用して週2回測定した。マウスを、平均腫瘍サイズが2つの群にわたって同一であり、各群において約500mm³であるように、ビヒクルまたは処置群に無作為に割り当てた。次いで、マウスに、1回の用量のビヒクルまたは5mg/kgのCona MB IgG1 LLRALを、腹腔内（i.p.）注射によって投与した。血液試料は、ビヒクルまたはCona MB IgG1 LLRALの注射の24時間後に収集し、その後の組織学的分析

のために腫瘍を採取した。図 8 は、これらの実験の概略図及びタイムラインを示す。

【0174】

腫瘍をホルマリン固定し、パラフィン中に埋め込み、切片化した。腫瘍切片を、アポトーシスのマーカーである切断カスパーゼ-3 について免疫組織化学的に染色した。染色された組織切片の代表的な画像を、図 9 A 及び 9 C (ビヒクル処置マウス) ならびに図 9 B 及び 9 D (Cona MB IgG1 LLRAL 処置マウス) に示す。これらの図に示されるように、ビヒクル処置マウス由来の腫瘍切片において、ほとんどのアポトーシス細胞が検出されなかった。対照的に、Cona MB IgG1 LLRAL 処置マウスからの組織切片は、腫瘍マージンから離れた腫瘍のコア内の深部を含む腫瘍全体にわたってアポトーシス細胞の大部分を含んでいた(図 9 B 及び 9 D の染色細胞を参照されたい)。

10

【0175】

これらの結果は、Cona MB IgG1 LLRAL が腫瘍全体の腫瘍細胞のアポトーシスを誘導したことを確認する。さらに、これらの結果は、Multabody が大規模な確立された腫瘍のコアに浸透することができることを確認する。

配列表

融合配列内の下線は、リンカー配列を示す。

融合配列内の太字は、フェリチンまたはフェリチンサブユニット配列を示す。

可変領域の配列内では、下線及び太字が一緒になって、相補的決定領域の配列を示す。

ボックスを付した残基及び太字の残基は、参照分子に対して、例えば、IgG1 Fc に対して変異した残基を示す。

20

配列番号 1 hFTL

MSSQIRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASytyLSLGfyFDR
DDVALEGVSHFFRELAEKREGYERLLKMQNQRRGGRALFQ
DIKKPAEDEWgkTPDAMKAAMALEKKLNQALLDLHALGSA
RTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEA
GLGEYLFERLTLRHD

配列番号 2 N_hFTL

MSSQIRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASytyLSLGfyFDR
DDVALEGVSHFFRELAEKREGYERLLKMQNQRRGGRALFQ
DIKKPAEDEW

30

配列番号 3 C_hFTL

GKTPDAMKAAMALEKKLNQALLDLHALGSArtDPHLCDFL
ETHFLDEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERL
TLRHD

配列番号 4 IgG1 Fc

DKTHTCPCPCAPELLGGPSVFLFPKPKD TLMISRTPEVT
CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

40

配列番号 5 IgG1 scFc

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

E I V L T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C R A S Q G I S R S Y L A W Y Q Q K
P G Q A P S L L I Y G A S S R A T G I P D R F S G S G S G T D F T L T I S R L E
P E D F A V Y Y C Q Q F G S S P W T F G Q G T K V E I K R T V A A P S V F I F P
P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S
Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q
G L S S P V T K S F N R G E C

20

QVQLQESGPGGLVKPSQTLSSLTCTVSGGSISSGDYFWSWIR
QLPGKGLEWIGHIHNSGTTYYNPSSLKSRVTISVDTSKKQF
SLRLSSSVTAADTAVYYCARDRGGDY YYGMDVWGQGTTVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSSVVTVPPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
PVLDS DGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNH
YTOKSLSLSLSPGK

30

配列番号 8 C o n a s c F a b

40

【化 2】

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQGISRSLAWYQQKPG
QAPSLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF
AVYYCQQFGSSPWTFGQGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL
KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGECGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLQESGP
GLVKPSQTLSSLTCTVSGGSISSGDYFWSWIRQLPGKGLEWIG
HIHNSGTTYYNPSLKSRTISVDTSKKQFSLRLSSVTAADTA
VYYCARDRGGDYGGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK
VEPKSCD

10

配列番号 9 aDR5-hFTL

【化 3】

LEEIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQGISRSLAWYQQK
PGQAPSLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE
DFAVYYCQQFGSSPWTFGQGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK
SFNRGECGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLQES
GPGLVKPSQTLSSLTCTVSGGSISSGDYFWSWIRQLPGKGLEW
IGHIHNSGTTYYNPSLKSRTISVDTSKKQFSLRLSSVTAAD
TAVYYCARDRGGDYGGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPL
APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD
KKVEPKSCDGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGMSSQIR
QNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYYTSLGLFYFDRDDVALEGV
SHFFRELAEEKREGYERLLKMQNQRRGGRALFQDIKKPAEDEW
GKTPDAMKAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLET
HFLDEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLRH
D

20

30

40

配列番号 10 aDR5-hFTL、代替配列

50

【化 4】

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQGISRSLAWYQQKPG
QAPSLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF
AVYYCQQFGSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL
KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGECGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGQVQLQESGP
GLVKPSQTLSTLTCTVSGGSISSGDYFWSWIRQLPGKGLEWIG
HIHNSGTTYYNPSLKSRTISVDTSKKQFSLRLSSVTAADTA
VYYCARDRGGDYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK
VEPKSCDGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSSQIRQNY
STDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHF
FRELAEEKREGYERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKT
PDAMKAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFL
DEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLRHD

10

20

配列番号 11 aDR5-N_hFTL

【化 5】

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQGISRSLAWYQQKPG
QAPSLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF
AVYYCQQFGSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL
KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGECGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGQVQLQESGP
GLVKPSQTLSTLTCTVSGGSISSGDYFWSWIRQLPGKGLEWIG
HIHNSGTTYYNPSLKSRTISVDTSKKQFSLRLSSVTAADTA
VYYCARDRGGDYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK
VEPKSCDGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGMSSQIRQN
YSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSH
FRELAEEKREGYERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEW

30

40

配列番号 12 aDR5-N_hFTL、代替配列

【化6】

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQGISRSLAWYQQKPG
QAPSLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF
AVYYCQQFGSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL
KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGECGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLQESGP
GLVKPSQTLSTLTCTVSGGSISSGDYFWSWIRQLPGKGLEWIG
HIHNSGTTYYNPSLKSRVTISVDTSKKQFSLRLSSVTAADTA
VYYCARDRGGDYGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK
VEPKSCDGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSSQIRQNY
STDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHF
FRELAEEKREGYERLLKMQNQRRGGRALFQDIKKPAEDEW

10

配列番号 13 scFc-C_hFTL IgG1 WT

20

【化7】

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSGGGGKTPDAMKAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLC
DFLETHFLDEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEAGLG EYLFER
LTLRHD

30

40

配列番号 14 scFc-C_hFTL IgG1 LALA

50

【化8】

DKTHTCPCPCAPE[AA]GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSDKTHTCPCPCAPE[AA]GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSGGGGKTPDAMKAAMALEKKLNQALLDHALGSARTDPHLC
DFLETHFLDEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFER
LTLRHD

10

20

配列番号 15 scFc-C_hFTL IgG1 LALAP

【化9】

DKTHTCPCPCAPE[AA]GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL[G]APIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSDKTHTCPCPCAPE[AA]GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL[G]APIEKTISKAKGQ
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSGGGGKTPDAMKAAMALEKKLNQALLDHALGSARTDPHLC
DFLETHFLDEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFER
LTLRHD

30

40

配列番号 16 scFc-C_hFTL IgG1 LLRAL

50

【化 1 0】

DKTHTCPPCPAPE[AARA]PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP[L]PIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSDKTHTCPPCPAPE[AARA]PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP[L]PIEKTISKAKGQ
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSGGGKTPDAMKAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLC
DFLETHFLDEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFER
LTLRHD

10

20

配列番号 17 s c F c - C _ h F T L I g G 1 L L G R A L

【化 1 1】

DKTHTCPPCPAPE[AARA]PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL[GL]PIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSDKTHTCPPCPAPE[AARA]PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL[GL]PIEKTISKAKGQ
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSGGGKTPDAMKAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLC
DFLETHFLDEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFER
LTLRHD

30

40

配列番号 18 G S リンカー 配列

G G G S

配列番号 19 G S リンカー 配列

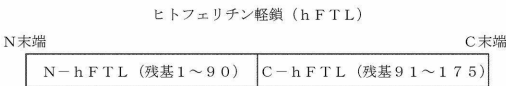
50

G G G G S
等価物／他の実施形態
【 0 1 7 6 】

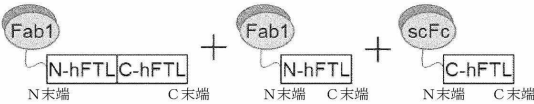
本発明は、その特定の実施形態に関連して説明されているが、さらなる修正が可能であり、本出願は、一般的に、本発明の原理に従う本発明の任意の変形、使用、または適応をカバーすることを意図しており、本発明が属する技術分野内の既知のまたは慣習的な実践の範囲内にある本開示からのそのような逸脱を含み、本明細書で先に記載される本発明の本質的な特徴に適用され得ることを理解されたい。

【図面】

【図 1 A】

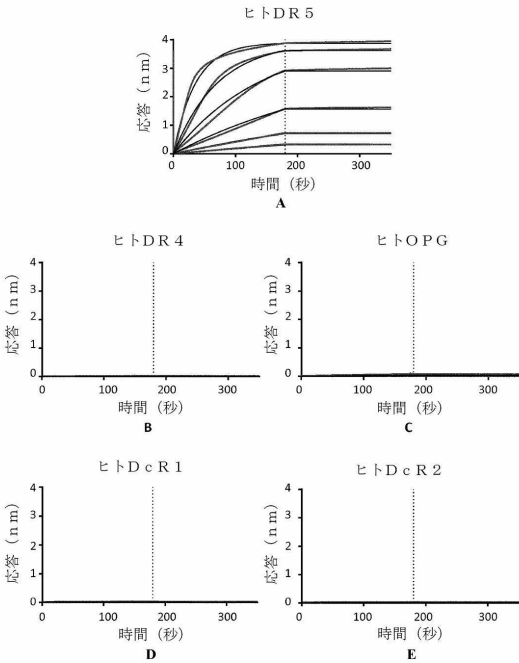


【図 1 B】

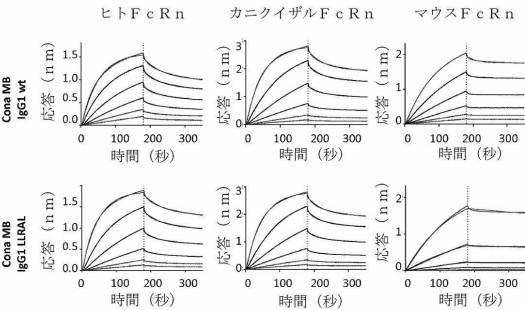


10

【図 2】



【図 3】



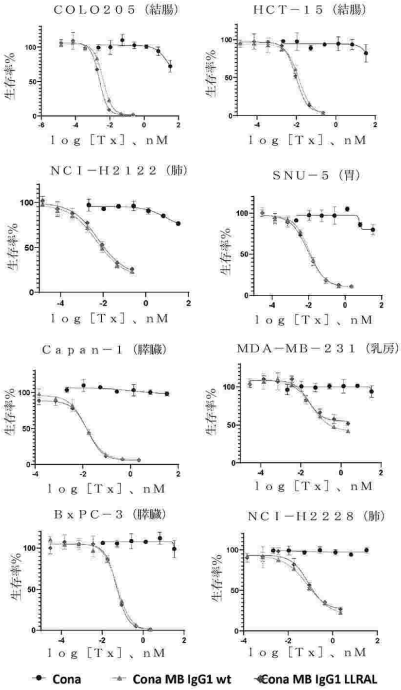
20

30

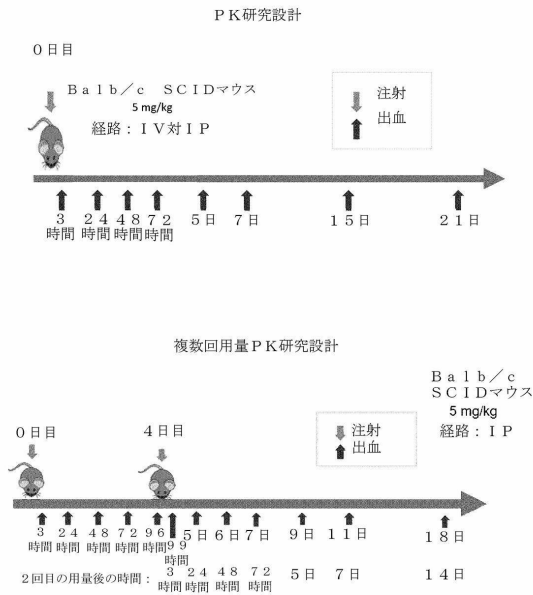
40

50

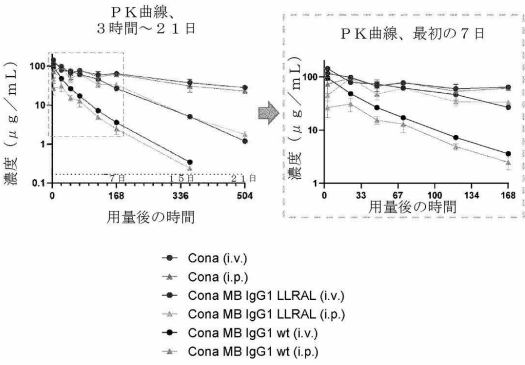
【図 4】



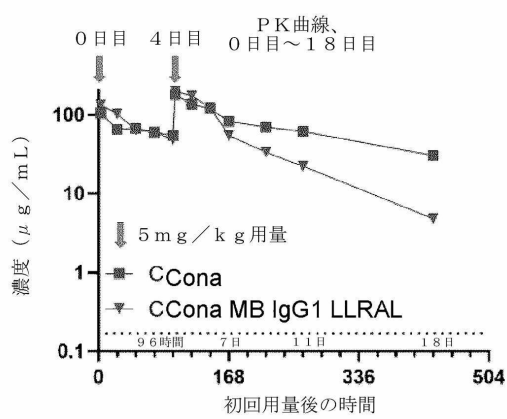
【図 5 A】



【図 5 B】



【図 5 C】



10

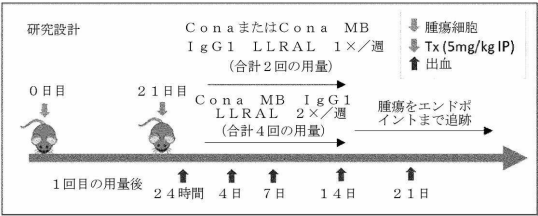
20

30

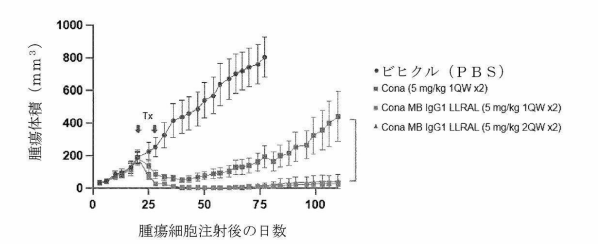
40

50

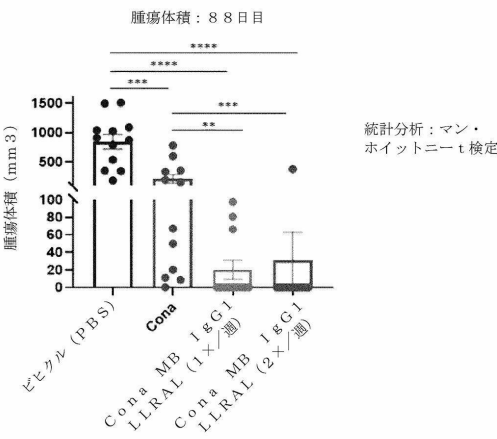
【図 6 A】



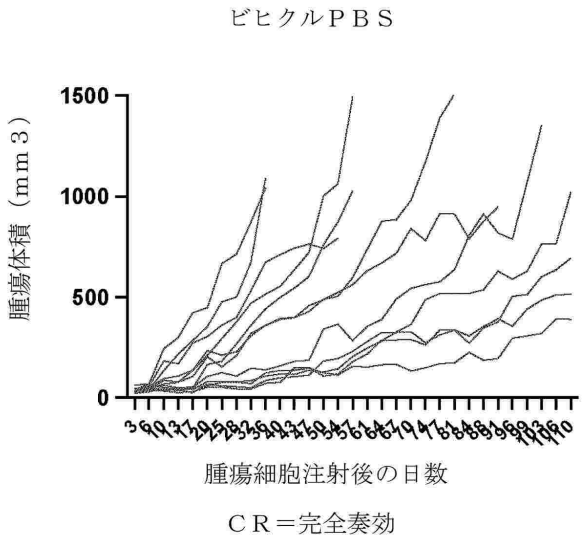
【図 6 B】



【図 6 C】



【図 6 D】



10

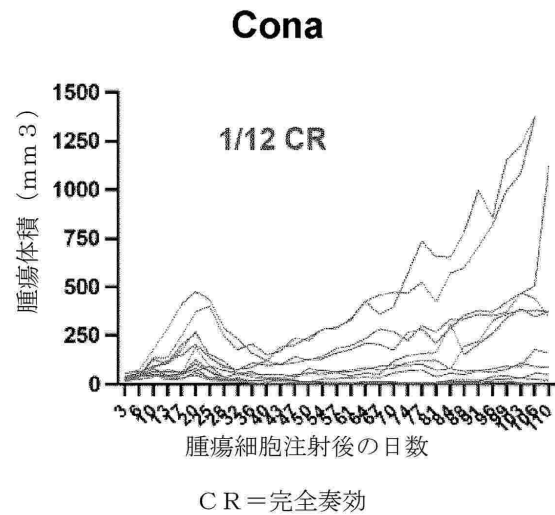
20

30

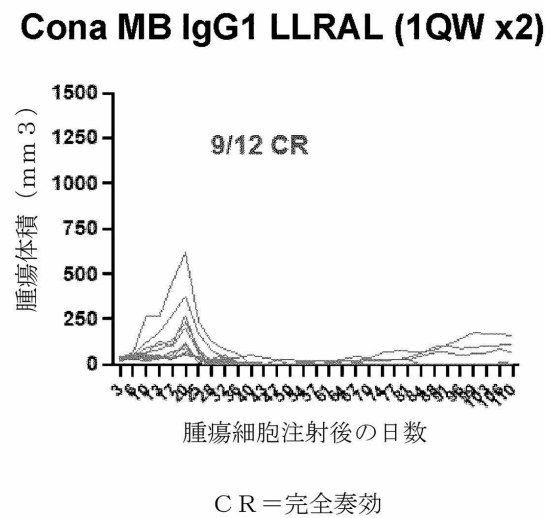
40

50

【図 6 E】

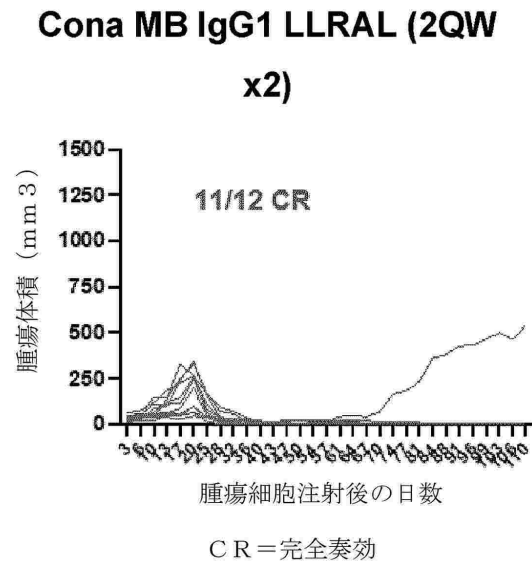


【図 6 F】

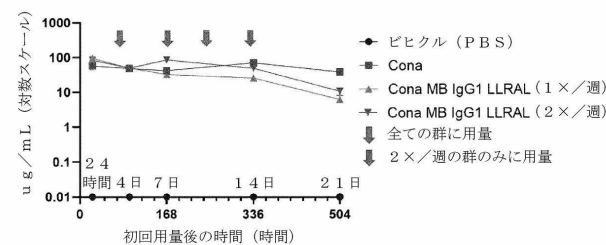


10

【図 6 G】



【図 6 H】



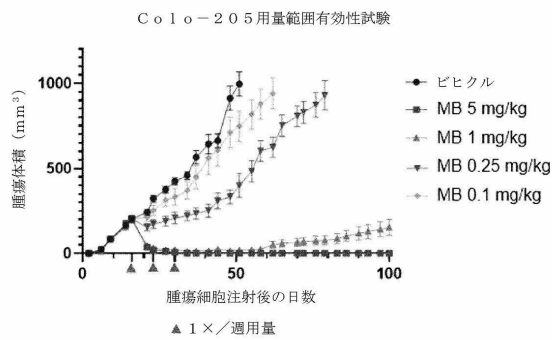
20

30

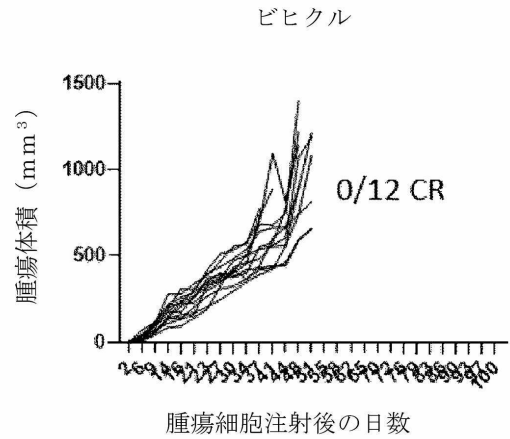
40

50

【図 7 A】

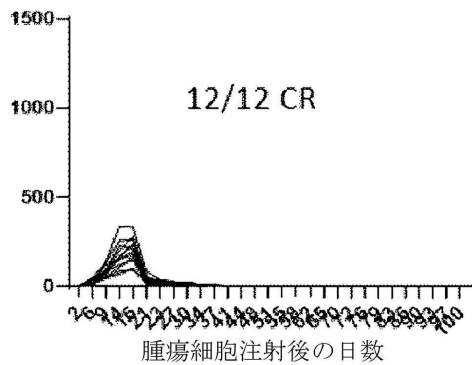


【図 7 B】



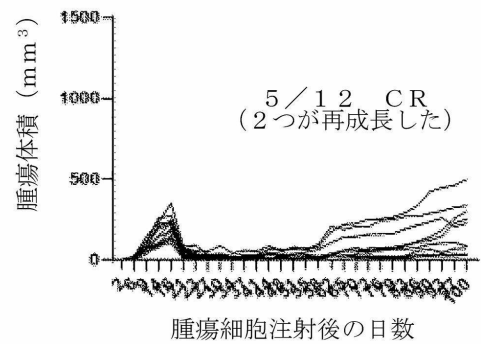
【図 7 C】

MB 5 mg/kg



【図 7 D】

MB 1 mg/kg



10

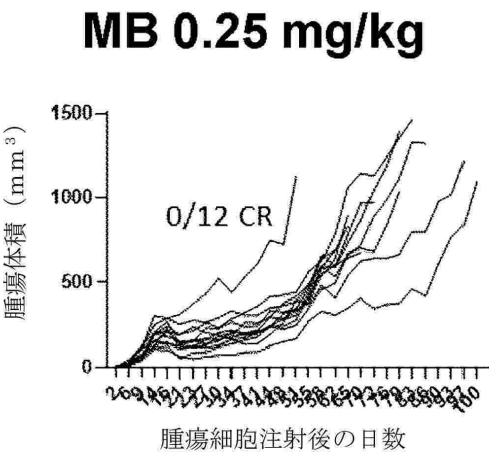
20

30

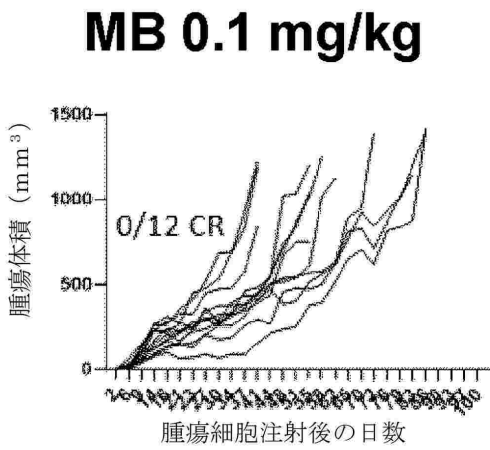
40

50

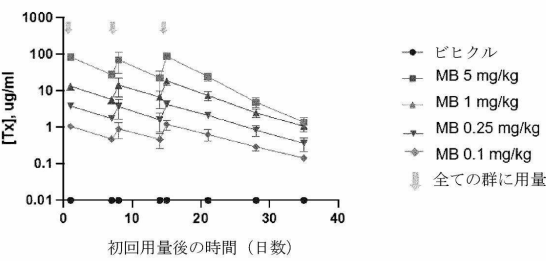
【図 7 E】



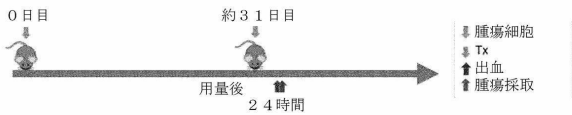
【図 7 F】



【図 7 G】



【図 8】



10

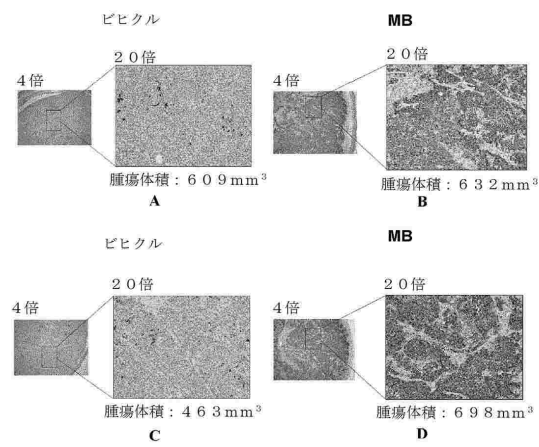
20

30

40

50

【図 9】



10

【配列表】

2024533487000001.xml

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CA2022/051360
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: C07K 19/00 (2006.01), A61K 47/64 (2017.01), A61P 35/00 (2006.01), A61P 37/06 (2006.01), C07K 14/47 (2006.01), C07K 16/00 (2006.01) CPC: C07K 16/00 (2020.01), A61K 47/64 (2020.01), A61P 35/00 (2020.01), A61P 37/06 (2020.01), C07K 14/47 (2020.01), C07K 2319/30 (2020.01) 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)		
IPC: C07K 19/00 (2006.01), A61K 47/64 (2017.01), A61P 35/00 (2006.01), A61P 37/06 (2006.01), C07K 14/47 (2006.01), C07K 16/00 (2006.01) Keywords searched across the whole IPC and CPC		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic database(s) consulted during the international search (name of database(s) and, where practicable, search terms used)		
Databases: Questel Orbit, SCOPUS, Google Scholar Keywords: nanocage, ferritin, Fc, self-assembly, G237		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2021/016724 A1 (JULIEN <i>et al.</i>) 04 February 2021 (04-02-2021) *see whole document	1-72
Y	RUJAS <i>et al.</i> Multivalency transforms SARS-CoV-2 antibodies into ultrapotent neutralizers. Nature Communications. 16 June 2021 (16-06-2021), Vol. 12, No. 3661, pp. 1-12 *see whole document, particularly Figure 3	1-27, 31-48, 50-53, 55, 56, 59-62, 65-68, 71 and 72
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* "A" "D" "E" "L" "O" "P"	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 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 1 November 2022 (01-11-2022)		Date of mailing of the international search report 14 November 2022 (14-11-2022)
Name and mailing address of the ISA/CA Canadian Intellectual Property Office Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT 50 Victoria Street Gatineau, Quebec K1A 0C9 Facsimile No.: 819-953-2476		Authorized officer Ryan Killoran (819) 360-4142

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CA2022/051360

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	LIU <i>et al.</i> Fc-Engineering for Modulated Effector Functions – Improving Antibodies for Cancer Treatment. Antibodies. 17 November 2020 (17-11-2020), Vol. 9, No. 64, pp. 1-34 *see whole document	1-72
P,X	WO 2022/160057 A1 (JULIEN <i>et al.</i>) 04 August 2022 (04-08-2022) *see whole document	1-72

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CA2022/051360
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. b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)), ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed. 2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing. 3. Additional comments:		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members			International application No. PCT/CA2022/051360
Patent Document Cited in Search Report	Publication Date	Patent Family Member(s)	Publication Date
WO2021016724A1	04 February 2021 (04-02-2021)	WO2021016724A1 AU2020320459A1 BR112022001800A2 CA3149320A1 CN114867754A EP4007779A1 JP2022543070A KR20220107151A	04 February 2021 (04-02-2021) 03 March 2022 (03-03-2022) 12 April 2022 (12-04-2022) 04 February 2021 (04-02-2021) 05 August 2022 (05-08-2022) 08 June 2022 (08-06-2022) 07 October 2022 (07-10-2022) 02 August 2022 (02-08-2022)
WO2022160057A1	04 August 2022 (04-08-2022)	None	

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 1 2 N	15/62	(2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z
C 1 2 N	15/13	(2006.01)	C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/12	(2006.01)	C 1 2 N	15/12	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	37/08	(2006.01)	A 6 1 P	37/08	
A 6 1 K	47/68	(2017.01)	A 6 1 K	47/68	
A 6 1 K	47/64	(2017.01)	A 6 1 K	47/64	
A 6 1 K	9/72	(2006.01)	A 6 1 K	9/72	
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N

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,
CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,J
M,JO,JP,KE,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,NG,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,T
H,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁理士 山本 秀策

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(74)代理人 100181674

弁理士 飯田 貴敏

(74)代理人 100181641

弁理士 石川 大輔

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ジュリアン, ジャンーフィリップ

カナダ国 オンタリオ, トロント, ベイ ストリート 6 8 6, 3 アールディー フロア

(72)発明者 ルハス ディエス, エドゥルネ

カナダ国 オンタリオ, トロント, ベイ ストリート 6 8 6, 3 アールディー フロア

(72)発明者 ヒューム, ジョアン

カナダ国 ケベック, モントリオール, プラス ヴィルーマリ, 3, スイート 1 2 3 5 0

(72)発明者 ベイリス, ピーター エドワード

カナダ国 ケベック, モントリオール, プラス ヴィルーマリ, 3, スイート 1 2 3 5 0

(72)発明者 へ, シンウェン

カナダ国 ケベック, モントリオール, プラス ヴィルーマリ, 3, スイート 1 2 3 5 0

(72)発明者 バイルシュミット, メリッサ

カナダ国 ケベック, モントリオール, プラス ヴィルーマリ, 3, スイート 1 2 3 5 0

F ターム (参考) 4C076 AA93 AA95 BB11 BB13 BB15 BB16 BB25 BB36 CC03 CC27

CC41 EE41 EE59 FF34 FF68

4C085 AA14 BB11 DD62 EE01 GG01 GG02 GG03 GG04 GG10

4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA76 EA20 EA28

FA74