

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-543031

(P2023-543031A)

(43)公表日 令和5年10月12日(2023.10.12)

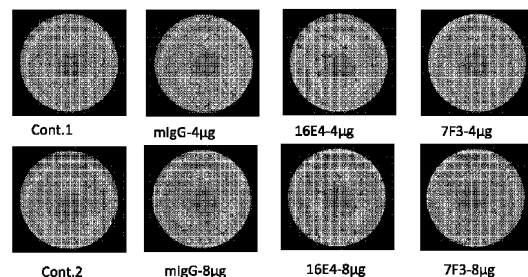
| (51)国際特許分類        |                             | F I     |                                                              | テーマコード (参考) |           |
|-------------------|-----------------------------|---------|--------------------------------------------------------------|-------------|-----------|
| C 1 2 N           | 15/13 (2006.01)             | C 1 2 N | 15/13                                                        |             | 4 B 0 6 4 |
| C 0 7 K           | 16/28 (2006.01)             | C 0 7 K | 16/28                                                        | Z N A       | 4 B 0 6 5 |
| C 0 7 K           | 16/46 (2006.01)             | C 0 7 K | 16/46                                                        |             | 4 C 0 7 6 |
| C 0 7 K           | 19/00 (2006.01)             | C 0 7 K | 19/00                                                        |             | 4 C 0 8 4 |
| C 1 2 N           | 15/62 (2006.01)             | C 1 2 N | 15/62                                                        | Z           | 4 C 0 8 5 |
|                   |                             | 審査請求    | 未請求                                                          | 予備審査請求      | 未請求       |
|                   |                             |         |                                                              | (全207頁)     | 最終頁に続く    |
| (21)出願番号          | 特願2023-519242(P2023-519242) | (71)出願人 | 522469578                                                    |             |           |
| (86)(22)出願日       | 令和3年9月28日(2021.9.28)        |         | ダイナミキュア バイオテクノロジー エルエルシー                                     |             |           |
| (85)翻訳文提出日        | 令和5年5月26日(2023.5.26)        |         | アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 5 1, ウォルサム, ウィンター ストリート 8 3 0, スイート 1 |             |           |
| (86)国際出願番号        | PCT/US2021/052446           | (74)代理人 | 100078282                                                    |             |           |
| (87)国際公開番号        | WO2022/067262               |         | 弁理士 山本 秀策                                                    |             |           |
| (87)国際公開日         | 令和4年3月31日(2022.3.31)        | (74)代理人 | 100113413                                                    |             |           |
| (31)優先権主張番号       | 63/084,474                  |         | 弁理士 森下 夏樹                                                    |             |           |
| (32)優先日           | 令和2年9月28日(2020.9.28)        | (74)代理人 | 100181674                                                    |             |           |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 米国(US)                      |         | 弁理士 飯田 貴敏                                                    |             |           |
| (31)優先権主張番号       | PCT/US2021/035542           | (74)代理人 | 100181641                                                    |             |           |
| (32)優先日           | 令和3年6月2日(2021.6.2)          |         | 弁理士 石川 大輔                                                    |             |           |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 米国(US)                      | (74)代理人 | 230113332                                                    |             |           |
| (31)優先権主張番号       | PCT/US2021/043784           |         |                                                              |             |           |
|                   |                             |         |                                                              | 最終頁に続く      | 最終頁に続く    |

(54)【発明の名称】 抗CD93構築物およびその使用

## (57)【要約】

本出願は、CD93に結合する抗CD93構築物（例えば、抗CD93抗体）、抗CD93のアミノ酸配列をコードする核酸分子、核酸分子を含むベクター、ベクターを含む宿主細胞、抗CD93構築物を調製する方法、抗CD93構築物を含む医薬組成物、および抗CD93構築物または組成物を使用する方法を提供する。CD93（表面抗原分類93）は、ヒトにおいてCD93遺伝子によってコードされるタンパク質である。CD93は、細胞間接着プロセスだけでなく宿主防御においても役割を果たすC型レクチン膜貫通受容体である。

FIG. 15A



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

重鎖可変領域（ $V_H$ ）と軽鎖可変領域（ $V_L$ ）とを含む抗体部分を含む抗CD93構築物であって、該抗体部分は、第二の重鎖可変領域（ $V_{H-2}$ ）と第二の軽鎖可変領域（ $V_{L-2}$ ）とを含む抗体または抗体フラグメントとCD93の結合エпитープについて競合し、

a) 該 $V_{H-2}$ は、配列番号289のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号290のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号291のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該 $V_{L-2}$ は、配列番号292のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号293のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号294のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

10

b) 該 $V_{H-2}$ は、配列番号17のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号18のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号19のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該 $V_{L-2}$ は、配列番号20のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号21のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

c) 該 $V_{H-2}$ は、配列番号33のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号34のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号35のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該 $V_{L-2}$ は、配列番号36のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号37のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号38のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

20

d) 該 $V_{H-2}$ は、配列番号49のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号50のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号51のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該 $V_{L-2}$ は、配列番号52のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号53のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号54のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

e) 該 $V_{H-2}$ は、配列番号65のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号66のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号67のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該 $V_{L-2}$ は、配列番号68のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号69のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号70のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

30

f) 該 $V_{H-2}$ は、配列番号81のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号82のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号83のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該 $V_{L-2}$ は、配列番号84のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号85のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号86のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

g) 該 $V_{H-2}$ は、配列番号97のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号98のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号99のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該 $V_{L-2}$ は、配列番号100のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号101のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号102のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

40

h) 該 $V_{H-2}$ は、配列番号113のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号114のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号115のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該 $V_{L-2}$ は、配列番号116のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号117のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号118のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

i) 該 $V_{H-2}$ は、配列番号129のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号130のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号131のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該 $V_{L-2}$ は、配列番号132のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号133のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号134のア

50

ミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；

j) 該  $V_H-2$  は、配列番号 145 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 146 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 147 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、該  $V_L-2$  は、配列番号 148、配列番号 355、もしくは配列番号 358 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 149 もしくは配列番号 356 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 150、配列番号 357 もしくは配列番号 359 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；

k) 該  $V_H-2$  は、配列番号 161 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 162 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 163 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、該  $V_L-2$  は、配列番号 164 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 165 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 166 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；

l) 該  $V_H-2$  は、配列番号 177 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 178 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 179 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、該  $V_L-2$  は、配列番号 180 もしくは配列番号 353 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 181 もしくは配列番号 354 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 182 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；

m) 該  $V_H-2$  は、配列番号 193 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 194 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 195 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、該  $V_L-2$  は、配列番号 196 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 197 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 198 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；

n) 該  $V_H-2$  は、配列番号 209 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 210 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 211 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、該  $V_L-2$  は、配列番号 212 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 213 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 214 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；

o) 該  $V_H-2$  は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 3 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、該  $V_L-2$  は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 6 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；あるいは

p) 該  $V_H-2$  は、配列番号 17 もしくは配列番号 304 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 18 もしくは配列番号 305 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 19 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、該  $V_L-2$  は、配列番号 20、配列番号 301、配列番号 302、配列番号 303、もしくは配列番号 306 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 21 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 22 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む、抗 CD93 構築物。

#### 【請求項 2】

a) 前記  $V_H$  が、i) 配列番号 289 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、ii) 配列番号 290 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および iii) 配列番号 291 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または該 HC-CDR 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、前記  $V_L$  が、i) 配列番号 292 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、ii) 配列番号 293 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および iii) 配列番号 294 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または該 LC-CDR 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含むか、

b) 前記  $V_H$  が、i) 配列番号 17 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、ii) 配列

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

個、もしくは1個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、前記V<sub>L</sub>が、i) 配列番号116のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号117のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号118のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、または該LC-CDR中に最大5個、4個、3個、2個、もしくは1個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含むか、

i) 前記V<sub>H</sub>が、i) 配列番号129のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号130のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号131のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、または該HC-CDR中に最大5個、4個、3個、2個、もしくは1個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、前記V<sub>L</sub>が、i) 配列番号132のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号133のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号134のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、または該LC-CDR中に最大5個、4個、3個、2個、もしくは1個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含むか、

j) 前記V<sub>H</sub>が、i) 配列番号145のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号146のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号147のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、または該HC-CDR中に最大5個、4個、3個、2個、もしくは1個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、前記V<sub>L</sub>が、i) 配列番号148、配列番号355、もしくは配列番号358のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号149もしくは配列番号356のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号150、配列番号357もしくは配列番号359のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、または該LC-CDR中に最大5個、4個、3個、2個、もしくは1個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含むか、

k) 前記V<sub>H</sub>が、i) 配列番号161のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号162のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号163のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、または該HC-CDR中に最大5個、4個、3個、2個、もしくは1個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、前記V<sub>L</sub>が、i) 配列番号164のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号165のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号166のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、または該LC-CDR中に最大5個、4個、3個、2個、もしくは1個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含むか、

l) 前記V<sub>H</sub>が、i) 配列番号177のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号178のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号179のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、または該HC-CDR中に最大5個、4個、3個、2個、もしくは1個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、前記V<sub>L</sub>が、i) 配列番号180もしくは配列番号353のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号181もしくは配列番号354のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号182のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、または該LC-CDR中に最大5個、4個、3個、2個、もしくは1個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含むか、

m) 前記V<sub>H</sub>が、i) 配列番号193のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号194のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号195のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、または該HC-CDR中に最大5個、4個、3個、2個、もしくは1個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、前記V<sub>L</sub>が、i) 配列番号196のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号197のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号198のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、または該LC-CDR中に最大5個、4個、3個、2個、もしくは1個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含むか、あるいは

n) 前記V<sub>H</sub>が、i) 配列番号209のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号210のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号211のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、または該HC-CDR中に最大5個、4個、3個、2個、もしくは1個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、前記V<sub>L</sub>が、i) 配列番

10

20

30

40

50

号 2 1 2 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 1、i i) 配列番号 2 1 3 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 2、および i i i) 配列番号 2 1 4 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 3、または該 LC-CDR 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含むか、

o) 前記 V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む HC-CDR 1、i i) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む HC-CDR 2、および i i i) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む HC-CDR 3、または該 HC-CDR 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、前記 V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 1、i i) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 2、および i i i) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 3、または該 LC-CDR 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含むか、あるいは

p) 前記 V<sub>H</sub> が、配列番号 1 7 もしくは配列番号 3 0 4 のアミノ酸配列を含む HC-CDR 1、配列番号 1 8 もしくは配列番号 3 0 5 のアミノ酸配列を含む HC-CDR 2、および配列番号 1 9 のアミノ酸配列を含む HC-CDR 3 を含み、前記 V<sub>L</sub> が、配列番号 2 0、配列番号 3 0 1、配列番号 3 0 2、配列番号 3 0 3、もしくは配列番号 3 0 6 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 1、配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 2、および配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 3 を含む、  
請求項 1 に記載の抗 CD 9 3 構築物。

【請求項 3】

前記 V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 2 8 9 のアミノ酸配列を含む HC-CDR 1、i i) 配列番号 2 9 0 のアミノ酸配列を含む HC-CDR 2、および i i i) 配列番号 2 9 1 のアミノ酸配列を含む HC-CDR 3、または該 HC-CDR 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、

前記 V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 2 9 2 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 1、i i) 配列番号 2 9 3 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 2、および i i i) 配列番号 2 9 4 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 3、または該 LC-CDR 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含む、  
請求項 2 に記載の抗 CD 9 3 構築物。

【請求項 4】

前記 V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 1 7 もしくは配列番号 3 0 4 のアミノ酸配列を含む HC-CDR 1、i i) 配列番号 1 8 もしくは配列番号 3 0 5 のアミノ酸配列を含む HC-CDR 2、および i i i) 配列番号 1 9 のアミノ酸配列を含む HC-CDR 3、または該 HC-CDR 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、

前記 V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 2 0、配列番号 3 0 1、配列番号 3 0 2、配列番号 3 0 3、もしくは配列番号 3 0 6 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 1、i i) 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 2、および i i i) 配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 3、または該 LC-CDR 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含む、  
請求項 2 に記載の抗 CD 9 3 構築物。

【請求項 5】

前記 V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む HC-CDR 1、i i) 配列番号 3 4 のアミノ酸配列を含む HC-CDR 2、および i i i) 配列番号 3 5 のアミノ酸配列を含む HC-CDR 3、または該 HC-CDR 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、

前記 V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 3 6 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 1、i i) 配列番号 3 7 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 2、および i i i) 配列番号 3 8 のアミノ酸配列を含む LC-CDR 3、または該 LC-CDR 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含む、

請求項 2 に記載の抗 C D 9 3 構築物。

【請求項 6】

前記 V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 49 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、i i) 配列番号 50 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i) 配列番号 51 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または該 H C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、

前記 V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 52 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、i i) 配列番号 53 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および i i i) 配列番号 54 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または該 L C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含む、

10

請求項 2 に記載の抗 C D 9 3 構築物。

【請求項 7】

前記 V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 65 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、i i) 配列番号 66 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i) 配列番号 67 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または該 H C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、

前記 V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 68 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、i i) 配列番号 69 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および i i i) 配列番号 70 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または該 L C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含む、

20

請求項 2 に記載の抗 C D 9 3 構築物。

【請求項 8】

前記 V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 81 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、i i) 配列番号 82 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i) 配列番号 83 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または該 H C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、

前記 V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 84 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、i i) 配列番号 85 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および i i i) 配列番号 86 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または該 L C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含む、

30

請求項 2 に記載の抗 C D 9 3 構築物。

【請求項 9】

前記 V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 97 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、i i) 配列番号 98 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i) 配列番号 99 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または該 H C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、

前記 V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 100 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、i i) 配列番号 101 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および i i i) 配列番号 102 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または該 L C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含む、

40

請求項 2 に記載の抗 C D 9 3 構築物。

【請求項 10】

前記 V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 113 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、i i) 配列番号 114 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i) 配列番号 115 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または該 H C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、

前記 V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 116 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、i i) 配列番号 117 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および i i i) 配列番号 118 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または該 L C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含む、

50

請求項 2 に記載の抗 C D 9 3 構築物。

【請求項 1 1】

前記 V<sub>H</sub> が、 i ) 配列番号 1 2 9 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、 i i ) 配列番号 1 3 0 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i ) 配列番号 1 3 1 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または該 H C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、

前記 V<sub>L</sub> が、 i ) 配列番号 1 3 2 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、 i i ) 配列番号 1 3 3 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および i i i ) 配列番号 1 3 4 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または該 L C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含む、

請求項 2 に記載の抗 C D 9 3 構築物。

10

【請求項 1 2】

前記 V<sub>H</sub> が、 i ) 配列番号 1 4 5 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、 i i ) 配列番号 1 4 6 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i ) 配列番号 1 4 7 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または該 H C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、

前記 V<sub>L</sub> が、 i ) 配列番号 1 4 8、配列番号 3 5 5、もしくは配列番号 3 5 8 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、 i i ) 配列番号 1 4 9 もしくは配列番号 3 5 6 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および i i i ) 配列番号 1 5 0、配列番号 3 5 7 もしくは配列番号 3 5 9 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または該 L C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含む、

請求項 2 に記載の抗 C D 9 3 構築物。

20

【請求項 1 3】

前記 V<sub>H</sub> が、 i ) 配列番号 1 6 1 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、 i i ) 配列番号 1 6 2 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i ) 配列番号 1 6 3 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または該 H C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、

前記 V<sub>L</sub> が、 i ) 配列番号 1 6 4 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、 i i ) 配列番号 1 6 5 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および i i i ) 配列番号 1 6 6 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または該 L C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含む、

請求項 2 に記載の抗 C D 9 3 構築物。

30

【請求項 1 4】

前記 V<sub>H</sub> が、 i ) 配列番号 1 7 7 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、 i i ) 配列番号 1 7 8 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i ) 配列番号 1 7 9 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または該 H C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、

前記 V<sub>L</sub> が、 i ) 配列番号 1 8 0 もしくは配列番号 3 5 3 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、 i i ) 配列番号 1 8 1 もしくは配列番号 3 5 4 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および i i i ) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または該 L C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含む、

請求項 2 に記載の抗 C D 9 3 構築物。

40

【請求項 1 5】

前記 V<sub>H</sub> が、 i ) 配列番号 1 9 3 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、 i i ) 配列番号 1 9 4 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i ) 配列番号 1 9 5 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または該 H C - C D R 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、

前記 V<sub>L</sub> が、 i ) 配列番号 1 9 6 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、 i i ) 配列番号 1 9 7 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および i i i ) 配列番号 1 9 8 のアミノ

50

酸配列を含む LC-CDR3、または該 LC-CDR 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含む、  
請求項 2 に記載の抗 CD93 構築物。

【請求項 16】

前記 V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 209 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、ii) 配列番号 210 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および iii) 配列番号 211 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または該 HC-CDR 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、

前記 V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 212 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、ii) 配列番号 213 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および iii) 配列番号 214 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または該 LC-CDR 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含む、

請求項 2 に記載の抗 CD93 構築物。

10

【請求項 17】

前記 V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、ii) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および iii) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または該 HC-CDR 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含み、

前記 V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、ii) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および iii) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または該 LC-CDR 中に最大 5 個、4 個、3 個、2 個、もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むそれらの改変体を含む、

請求項 2 に記載の抗 CD93 構築物。

20

【請求項 18】

CD93 に特異的に結合する抗体部分を含む抗 CD93 構築物であって、

a) 配列番号 287 および配列番号 319～配列番号 321 のいずれかに示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2、および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2、および HC-CDR3、ならびに配列番号 288 および配列番号 322～配列番号 324 のいずれかに示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2、および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2、および LC-CDR3；

b) 配列番号 29 および配列番号 307～配列番号 312 のいずれかに示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2、および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2、および HC-CDR3、ならびに配列番号 30 および配列番号 313～配列番号 318 のいずれかに示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2、および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2、および LC-CDR3；

c) 配列番号 45 に示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2、および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2、および HC-CDR3、ならびに配列番号 46 に示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2、および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2、および LC-CDR3；

d) 配列番号 61 に示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2、および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2、および HC-CDR3、ならびに配列番号 62 に示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2、および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2、および LC-CDR3；

e) 配列番号 77 に示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2、および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2、および HC-CDR3、ならびに配列番号 78 に示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CD

30

40

50

o) 配列番号 13 に示される配列を有する V<sub>H</sub>鎖領域内に CDR1、CDR2、および

50

C D R 3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む H C - C D R 1、H C - C D R 2、および H C - C D R 3、ならびに配列番号 1 4 に示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に C D R 1、C D R 2、および C D R 3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む L C - C D R 1、L C - C D R 2、および L C - C D R 3；

p) 配列番号 3 0 7 ~ 配列番号 3 1 2 のいずれか 1 つに示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に C D R 1、C D R 2、および C D R 3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む H C - C D R 1、H C - C D R 2、および H C - C D R 3、ならびに配列番号 3 1 3 ~ 配列番号 3 1 8 のいずれか 1 つに示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に C D R 1、C D R 2、および C D R 3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む L C - C D R 1、L C - C D R 2、および C - C D R 3；あるいは

q) 配列番号 3 1 9 ~ 配列番号 3 2 1 のいずれか 1 つに示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に C D R 1、C D R 2、および C D R 3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む H C - C D R 1、H C - C D R 2、および H C - C D R 3、ならびに配列番号 3 2 2 ~ 3 2 4 のいずれか 1 つに示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に C D R 1、C D R 2、および C D R 3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む L C - C D R 1、L C - C D R 2、および L C - C D R 3；を含む、抗 C D 9 3 構築物。

#### 【請求項 1 9】

前記 V<sub>H</sub> が、配列番号 1 3、配列番号 2 9、配列番号 4 5、配列番号 6 1、配列番号 7 7、配列番号 9 3、配列番号 1 0 9、配列番号 1 2 5、配列番号 1 4 1、配列番号 1 5 7、配列番号 1 7 3、配列番号 1 8 9、配列番号 2 0 5、配列番号 2 2 1、配列番号 2 8 7、配列番号 3 0 7 ~ 配列番号 3 1 2 および配列番号 3 1 9 ~ 配列番号 3 2 1 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；かつ／または、

前記 V<sub>L</sub> が、配列番号 1 4、配列番号 3 0、配列番号 4 6、配列番号 6 2、配列番号 7 8、配列番号 9 4、配列番号 1 1 0、配列番号 1 2 6、配列番号 1 4 2、配列番号 1 5 8、配列番号 1 7 4、配列番号 1 9 0、配列番号 2 0 6、配列番号 2 2 2、配列番号 2 8 8、配列番号 3 1 3 ~ 配列番号 3 1 8 および配列番号 3 2 2 ~ 配列番号 3 2 4 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む、

請求項 1 ~ 請求項 1 8 のいずれか一項に記載の抗 C D 9 3 構築物。

#### 【請求項 2 0】

a) 前記 V<sub>H</sub> が、配列番号 2 8 7 および配列番号 3 1 9 ~ 配列番号 3 2 1 のいずれかのアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み、前記 V<sub>L</sub> が、配列番号 2 8 8 および配列番号 3 2 2 ~ 配列番号 3 2 4 のいずれかのアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む；

b) 前記 V<sub>H</sub> が、配列番号 2 9 および配列番号 3 0 7 ~ 配列番号 3 1 2 のいずれかのアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み、前記 V<sub>L</sub> が、配列番号 3 0 および配列番号 3 1 3 ~ 配列番号 3 1 8 のいずれかのアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む；

c) 前記 V<sub>H</sub> が、配列番号 4 5 のアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み、前記 V<sub>L</sub> が、配列番号 4 6 のアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む；

d) 前記 V<sub>H</sub> が、配列番号 6 1 のアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み、前記 V<sub>L</sub> が、配列番号 6 2 のアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む；

e) 前記 V<sub>H</sub> が、配列番号 7 7 のアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約 8 0 % の

10

20

30

40

50

q) 前記 V<sub>H</sub> が、配列番号 319 ~ 配列番号 321 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む

50

むか、または少なくとも約 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み、前記 V<sub>L</sub> が、配列番号 322 ～ 配列番号 324 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む；請求項 19 に記載の抗 CD93 構築物。

【請求項 21】

前記抗体部分が、全長抗体、二重特異性抗体、一本鎖 Fv (s c Fv) フラグメント、F a b フラグメント、F a b ' フラグメント、F (a b ' )<sub>2</sub>、F v フラグメント、ジスルフィド安定化 Fv フラグメント (d s Fv)、(d s Fv)<sub>2</sub>、Fv-Fc 融合物、s c Fv-Fc 融合物、s c Fv-Fv 融合物、ダイアボディ、トリボディ、およびテトラボディからなる群より選択される抗体またはその抗原結合フラグメントである、請求項 1 ～ 10

【請求項 22】

前記抗体部分が全長抗体である、請求項 21 に記載の抗 CD93 構築物。

【請求項 23】

前記抗体部分が、IgG 由来の Fc フラグメント、IgA 由来の Fc フラグメント、IgD 由来の Fc フラグメント、IgE 由来の Fc フラグメント、IgM 由来の Fc フラグメント、ならびにそれらの組み合わせおよびハイブリッドからなる群より選択される Fc フラグメントを有する、請求項 1 ～ 請求項 22 のいずれか一項に記載の抗 CD93 構築物。

【請求項 24】

前記 Fc フラグメントが、IgG1 由来の Fc フラグメント、IgG2 由来の Fc フラグメント、IgG3 由来の Fc フラグメント、IgG4 由来の Fc フラグメント、ならびにそれらの組み合わせおよびハイブリッドからなる群より選択される、請求項 23 に記載の抗 CD93 構築物。

【請求項 25】

前記 Fc フラグメントが、対応する野生型 Fc フラグメントと比較して低下したエフェクター機能を有する、請求項 23 または請求項 24 に記載の抗 CD93 構築物。

【請求項 26】

前記 Fc フラグメントが、対応する野生型 Fc フラグメントと比較して増強されたエフェクター機能を有する、請求項 23 または請求項 24 に記載の抗 CD93 構築物。

【請求項 27】

前記抗体部分が IGFBP7 への CD93 の結合を遮断する、請求項 1 ～ 請求項 26 のいずれか一項に記載の抗 CD93 構築物。

【請求項 28】

前記抗体部分が MMRN2 への CD93 の結合を遮断する、請求項 1 ～ 請求項 27 のいずれか一項に記載の抗 CD93 構築物。

【請求項 29】

前記 CD93 がヒト CD93 である、請求項 1 ～ 請求項 22 のいずれか一項に記載の抗 CD93 構築物。

【請求項 30】

CD93 に結合する第一の部分と、VEGF に結合する第二の部分とを含む、抗 CD93 構築物であって、該第一の部分は、重鎖可変領域 (V<sub>H</sub>) と軽鎖可変領域 (V<sub>L</sub>) とを含む抗 93 抗体部分を含み、

該 V<sub>H</sub> は、i) 配列番号 289 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、ii) 配列番号 290 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および iii) 配列番号 291 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、

該 V<sub>L</sub> は、i) 配列番号 292 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、ii) 配列番号 293 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および iii) 配列番号 294 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む、

抗 CD93 構築物。

10

20

30

40

50

## 【請求項 3 1】

前記 V<sub>H</sub> が、配列番号 2 8 7 および配列番号 3 1 9 ~ 配列番号 3 2 1 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み、

前記 V<sub>L</sub> が、配列番号 2 8 8 および配列番号 3 2 2 ~ 配列番号 3 2 4 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む、

請求項 3 0 に記載の抗 C D 9 3 構築物。

## 【請求項 3 2】

前記抗 C D 9 3 抗体部分が、2 つの重鎖と 2 つの軽鎖とを含む抗 C D 9 3 全長抗体であり、前記第二の部分が、該抗 C D 9 3 全長抗体の両方の重鎖の C 末端に融合されている、請求項 3 0 または請求項 3 1 に記載の抗 C D 9 3 構築物。

## 【請求項 3 3】

前記第二の部分に融合された前記 2 つの重鎖がそれぞれ、配列番号 3 4 2 もしくは配列番号 3 6 6 に示されるアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み、前記 2 つの軽鎖がそれぞれ、配列番号 3 4 3 もしくは配列番号 3 6 7 に示されるアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む、請求項 3 2 に記載の抗 C D 9 3 構築物。

## 【請求項 3 4】

請求項 1 ~ 請求項 3 3 のいずれか一項に記載の抗 C D 9 3 構築物と、薬学的に許容され得る担体とを含む、医薬組成物。

## 【請求項 3 5】

請求項 1 ~ 請求項 3 3 のいずれか一項に記載の抗 C D 9 3 構築物またはその一部をコードする、単離された核酸。

## 【請求項 3 6】

請求項 3 5 に記載の単離された核酸を含む、ベクター。

## 【請求項 3 7】

請求項 3 5 に記載の単離された核酸または請求項 3 6 に記載のベクターを含む、単離された宿主細胞。

## 【請求項 3 8】

治療剤または標識に連結された、請求項 1 ~ 請求項 3 3 のいずれか一項に記載の抗 C D 9 3 構築物を含む、免疫コンジュゲート。

## 【請求項 3 9】

抗 C D 9 3 構築物を産生する方法であって、

a) 請求項 3 7 に記載の単離された宿主細胞を、該抗 C D 9 3 構築物を発現するのに有効な条件下で培養すること、および

b) 発現された抗 C D 9 3 構築物を該宿主細胞から得ることを含む、方法。

## 【請求項 4 0】

個体における疾患または状態を処置する方法であって、

該個体に、有効量の請求項 1 ~ 請求項 3 3 のいずれか一項に記載の抗 C D 9 3 構築物、または請求項 3 4 に記載の医薬組成物を投与することを含む、方法。

## 【請求項 4 1】

前記疾患または状態が異常な血管構造に関連する、請求項 4 0 に記載の方法。

## 【請求項 4 2】

前記疾患または状態ががんである、請求項 4 0 または請求項 4 1 に記載の方法。

## 【請求項 4 3】

前記がんが固形腫瘍である、請求項 4 2 に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 4 4】

前記がんが C D 9 3 + 内皮細胞を含む、請求項 4 2 または請求項 4 3 に記載の方法。

## 【請求項 4 5】

前記がんが I G F B P 7 + 血管を含む、請求項 4 2 ~ 請求項 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 4 6】

前記がんが M M R N 2 + 血管を含む、請求項 4 2 ~ 請求項 4 5 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 4 7】

前記がんが腫瘍低酸素を特徴とする、請求項 4 2 ~ 請求項 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 4 8】

前記がんが局所進行がんまたは転移がんである、請求項 4 2 ~ 請求項 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 4 9】

前記がんが、リンパ腫、結腸がん、脳がん、乳がん、卵巣がん、子宮内膜がん、食道がん、前立腺がん、子宮頸がん、腎がん、膀胱がん、胃がん、非小細胞肺癌、黒色腫、および脾臓がんからなる群より選択される、請求項 4 2 ~ 請求項 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 5 0】

前記抗 C D 9 3 構築物を前記個体に非経口投与する、請求項 4 0 ~ 請求項 4 9 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 5 1】

第二の治療を投与することをさらに含む、請求項 4 0 ~ 請求項 5 0 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 5 2】

前記第二の治療が、手術、放射線、遺伝子治療、免疫療法、骨髄移植、幹細胞移植、ホルモン治療、標的化治療、寒冷療法、超音波治療、光ダイナミック療法、および化学療法からなる群より選択される、請求項 5 1 に記載の方法。

## 【請求項 5 3】

前記第二の治療が免疫療法である、請求項 5 2 に記載の方法。

## 【請求項 5 4】

前記免疫療法が免疫調節剤を投与することを含む、請求項 5 3 に記載の方法。

## 【請求項 5 5】

前記免疫調節剤が免疫チェックポイント阻害剤である、請求項 5 4 に記載の方法。

## 【請求項 5 6】

前記免疫チェックポイント阻害剤が抗 P D - L 1 抗体または抗 P D - 1 抗体を含む、請求項 5 5 に記載の方法。

## 【請求項 5 7】

前記個体がヒトである、請求項 4 0 ~ 請求項 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

## 【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、2020年9月28日に提出された米国仮出願第63/084,474号、2021年6月2日に提出された国際出願番号PCT/US2021/035542および2021年7月29日に提出された国際出願番号PCT/US2021/043784の優先権を主張し、これらの内容はすべての目的のためにその全体が参照により組み込まれる。

## 【0002】

## 技術分野

本開示は、抗CD93構築物（抗CD93抗体など）およびその使用に関する。

### 【0003】

ASCIIテキストファイルでの配列表の提出

ASCIIテキストファイルでの以下の提出の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる：配列表のコンピュータ可読形式（CRF）（ファイル名：193852000246SEQLIST.TXT、記録日：2021年9月28日、サイズ：196,372バイト）。

### 【背景技術】

#### 【0004】

本出願の背景

CD93（表面抗原分類93）は、ヒトにおいてCD93遺伝子によってコードされるタンパク質である。CD93は、細胞間接着プロセスだけでなく宿主防御においても役割を果たすC型レクチン膜貫通受容体である。CD93は、最初はC1qの受容体であると考えられていたが、現在は代わりに細胞間接着およびアポトーシス細胞のクリアランスに関与すると考えられている。このタンパク質の細胞内細胞質尾部は、CD93機能に関与し得る2つの高度に保存されたドメインを含む。実際、高度に荷電した膜近傍ドメインは、膜貫通タンパク質を細胞骨格に連結することおよび細胞骨格の再構築において役割を果たすことが知られているタンパク質であるモエシンと相互作用することが見出されている。このプロセスは、接着、遊走および食作用にとって極めて重要であると思われる。

#### 【0005】

本明細書で言及されるすべての刊行物、特許、特許出願および公開特許出願の開示は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

### 【発明の概要】

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0006】

本出願の簡潔な概要

以下の概要は例示にすぎず、決して限定することを意図するものではない。すなわち、以下の概要は、新規分子およびその使用のハイライト、利点および長所を紹介するために提供される。したがって、以下の概要は、特許請求される主題の本質的な特徴を特定することを意図しておらず、特許請求される主題の範囲を決定する際に使用することも意図していない。

#### 【0007】

一態様では、本出願は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗体部分を含む抗CD93構築物を提供し、該抗体部分は、第二の重鎖可変領域（V<sub>H-2</sub>）および第二の軽鎖可変領域（V<sub>L-2</sub>）を含む抗体または抗体フラグメントとCD93の結合エピトープについて競合し、

a) V<sub>H-2</sub>は、配列番号1のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号2のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号3のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、V<sub>L-2</sub>は、配列番号4のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号5のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号6のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

b) V<sub>H-2</sub>は、配列番号17のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号18のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号19のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、V<sub>L-2</sub>は、配列番号20のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号21のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

c) V<sub>H-2</sub>は、配列番号33のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号34のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号35のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、V<sub>L-2</sub>は、配列番号36のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番

号 37 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 38 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；

d)  $V_H-2$  は、配列番号 49 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 50 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 51 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、 $V_L-2$  は、配列番号 52 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 53 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 54 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；

e)  $V_H-2$  は、配列番号 65 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 66 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 67 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、 $V_L-2$  は、配列番号 68 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 69 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 70 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；

f)  $V_H-2$  は、配列番号 81 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 82 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 83 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、 $V_L-2$  は、配列番号 84 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 85 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 86 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；

g)  $V_H-2$  は、配列番号 97 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 98 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 99 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、 $V_L-2$  は、配列番号 100 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 101 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 102 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；

h)  $V_H-2$  は、配列番号 113 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 114 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 115 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、 $V_L-2$  は、配列番号 116 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 117 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 118 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；

i)  $V_H-2$  は、配列番号 129 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 130 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 131 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、 $V_L-2$  は、配列番号 132 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 133 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 134 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；

j)  $V_H-2$  は、配列番号 145 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 146 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 147 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、 $V_L-2$  は、配列番号 148、355、または 358 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 149 または 356 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 150、357 または 359 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；

k)  $V_H-2$  は、配列番号 161 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 162 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 163 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、 $V_L-2$  は、配列番号 164 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 165 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 166 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；

l)  $V_H-2$  は、配列番号 177 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 178 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 179 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、 $V_L-2$  は、配列番号 180 または 353 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 181 または 354 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 182 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む；

m)  $V_H-2$  は、配列番号 193 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 194 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 195 のアミノ酸配列を含む H

10

20

30

40

50

C-C D R 3を含み、V<sub>L</sub>-2は、配列番号196のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、配列番号197のアミノ酸配列を含むL C-C D R 2、および配列番号198のアミノ酸配列を含むL C-C D R 3を含む；

n) V<sub>H</sub>-2は、配列番号209のアミノ酸配列を含むH C-C D R 1、配列番号210のアミノ酸配列を含むH C-C D R 2、および配列番号211のアミノ酸配列を含むH C-C D R 3を含み、V<sub>L</sub>-2は、配列番号212のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、配列番号213のアミノ酸配列を含むL C-C D R 2、および配列番号214のアミノ酸配列を含むL C-C D R 3を含む；または

o) V<sub>H</sub>-2は、配列番号289のアミノ酸配列を含むH C-C D R 1、配列番号290のアミノ酸配列を含むH C-C D R 2、および配列番号291のアミノ酸配列を含むH C-C D R 3を含み、V<sub>L</sub>-2は、配列番号292のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、配列番号293のアミノ酸配列を含むL C-C D R 2、および配列番号294のアミノ酸配列を含むL C-C D R 3を含む；

p) V<sub>H</sub>-2は、配列番号17または304のアミノ酸配列を含むH C-C D R 1、配列番号18または305のアミノ酸配列を含むH C-C D R 2、および配列番号19のアミノ酸配列を含むH C-C D R 3を含み、V<sub>L</sub>-2は、配列番号20、301、302、303、または306のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、配列番号21のアミノ酸配列を含むL C-C D R 2、および配列番号22のアミノ酸配列を含むL C-C D R 3を含む。

【0008】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号1のアミノ酸配列を含むH C-C D R 1、i i) 配列番号2のアミノ酸配列を含むH C-C D R 2、およびi i i) 配列番号3のアミノ酸配列を含むH C-C D R 3、またはH C-C D R中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；V<sub>L</sub>は、i) 配列番号4のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、i i) 配列番号5のアミノ酸配列を含むL C-C D R 2、およびi i i) 配列番号6のアミノ酸配列を含むL C-C D R 3、またはL C-C D R中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

【0009】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号17または304のアミノ酸配列を含むH C-C D R 1、i i) 配列番号18または305のアミノ酸配列を含むH C-C D R 2、およびi i i) 配列番号19のアミノ酸配列を含むH C-C D R 3、またはH C-C D R中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；V<sub>L</sub>は、i) 配列番号20、301、302、303、または306のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、i i) 配列番号21のアミノ酸配列を含むL C-C D R 2、およびi i i) 配列番号22のアミノ酸配列を含むL C-C D R 3、またはL C-C D R中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

【0010】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号33のアミノ酸配列を含むH C-C D R 1、i i) 配列番号34のアミノ酸配列を含むH C-C D R 2、およびi i i) 配列番号35のアミノ酸配列を含むH C-C D R 3、またはH C-C D R中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；V<sub>L</sub>は、i) 配列番号36のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、i i) 配列番号37のアミノ酸配列を含むL C-C D R 2、およびi i i) 配列番号38のアミノ酸配列を含むL C-C D R 3、またはL C-C D R中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

【0011】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号49のアミノ酸配列を含むH C-C D R 1、i i) 配列番号50のアミノ酸配列を含むH C-C D R 2、およびi i i) 配列番号51のアミノ酸配列を含むH C-C D R 3、またはH C-C D R中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号52のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、i i) 配列番号53のアミノ酸配列を含むL C-C D

10

20

30

40

50

R 2、および i i i) 配列番号 5 4 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または L C - C D R 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

【0012】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号 6 5 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、i i) 配列番号 6 6 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i) 配列番号 6 7 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または H C - C D R 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号 6 8 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、i i) 配列番号 6 9 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および i i i) 配列番号 7 0 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または L C - C D R 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

10

【0013】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号 8 1 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、i i) 配列番号 8 2 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i) 配列番号 8 3 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または H C - C D R 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号 8 4 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、i i) 配列番号 8 5 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および i i i) 配列番号 8 6 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または L C - C D R 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

【0014】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号 9 7 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、i i) 配列番号 9 8 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i) 配列番号 9 9 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または H C - C D R 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号 1 0 0 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、i i) 配列番号 1 0 1 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および i i i) 配列番号 1 0 2 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または L C - C D R 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

20

【0015】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号 1 1 3 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、i i) 配列番号 1 1 4 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i) 配列番号 1 1 5 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または H C - C D R 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号 1 1 6 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、i i) 配列番号 1 1 7 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および i i i) 配列番号 1 1 8 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または L C - C D R 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

30

【0016】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号 1 2 9 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、i i) 配列番号 1 3 0 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i) 配列番号 1 3 1 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または H C - C D R 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号 1 3 2 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、i i) 配列番号 1 3 3 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および i i i) 配列番号 1 3 4 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または L C - C D R 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

40

【0017】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号 1 4 5 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、i i) 配列番号 1 4 6 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i) 配列番号 1 4 7 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または H C - C D R 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号 1

50

48、355、または358のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号149または356のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号150、357または359のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

【0018】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i)配列番号161のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号162のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号163のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i)配列番号164のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号165のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号166のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

10

【0019】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i)配列番号177のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号178のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号179のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i)配列番号180または353のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号181または354のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号182のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

20

【0020】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i)配列番号193のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号194のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号195のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i)配列番号196のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号197のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号198のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

30

【0021】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i)配列番号209のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号210のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号211のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i)配列番号212のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号213のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号214のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

40

【0022】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i)配列番号289のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号290のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号291のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i)配列番号292のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号293のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号294のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

【0023】

50

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号17または304のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号18または305のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号19のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み； $V_L$ は、配列番号20、301、302、303、または306のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号21のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

#### 【0024】

別の態様における本出願は、CD93に特異的に結合する抗体部分を含む抗CD93構築物であって、

a) 配列番号13に示される配列を有する $V_H$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号14に示される配列を有する $V_L$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

b) 配列番号29および307～312のいずれかに示される配列を有する $V_H$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号30、および313～318のいずれかに示される配列を有する $V_L$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

c) 配列番号45に示される配列を有する $V_H$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号46に示される配列を有する $V_L$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

d) 配列番号61に示される配列を有する $V_H$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号62に示される配列を有する $V_L$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

e) 配列番号77に示される配列を有する $V_H$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号78に示される配列を有する $V_L$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

f) 配列番号93に示される配列を有する $V_H$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号94に示される配列を有する $V_L$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

g) 配列番号109に示される配列を有する $V_H$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号110に示される配列を有する $V_L$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

h) 配列番号125に示される配列を有する $V_H$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号126に示される配列を有する $V_L$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2および

10

20

30

40

50

び LC-CDR3；

i) 配列番号141に示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号142に示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

j) 配列番号157および360～362のいずれかに示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号158、および363～365のいずれかに示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3

10

のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

k) 配列番号173に示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号174に示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

l) 配列番号189および347～349のいずれかに示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号190、および350～352のいずれかに示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3

20

のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

m) 配列番号205に示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号206に示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

n) 配列番号221に示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号222に示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

30

o) 配列番号287および319～321のいずれかに示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号288、および322～324のいずれかに示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3

のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

p) 配列番号307～312のいずれか1つに示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号313～318のいずれか1つに示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；または

40

q) 配列番号319～321のいずれか1つに示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号322～324のいずれか1つに示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

【0025】

上記の抗CD93構築物のいずれかによるいくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号13、29、45、61、77、93、109、125、141、157、173、18

50

9、205、221、287、307～312および319-321のいずれか1つのアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；および／または、V<sub>L</sub>は、配列番号14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、288、313～318および322～324のいずれか1つのアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号13のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号14のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号29および307～312のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号30および313～318のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号45のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号46のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号61のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号62のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号77のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号78のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号93のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号94のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号109のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号110のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

10

20

30

40

50

40

50

上記の抗CD93構築物のいずれかによるいくつかの実施形態では、抗体部分は、全長

抗体、二重特異性抗体、一本鎖 Fv (scFv) フラグメント、Fab フラグメント、Fab' フラグメント、F(ab')<sub>2</sub>、Fv フラグメント、ジスルフィド安定化 Fv フラグメント (dsFv)、(dsFv)<sub>2</sub>、Fv-Fc 融合物、scFv-Fc 融合物、scFv-Fv 融合物、ダイアボディ(diabody)、トリボディ(tribody)、およびテトラボディ(tetrabody)からなる群より選択される抗体またはその抗原結合フラグメントである。いくつかの実施形態では、抗体部分は全長抗体である。

【0027】

上記の抗CD93構築物のいずれかによるいくつかの実施形態では、抗体部分は、IgG、IgA、IgD、IgE、IgM由来のFcフラグメント、ならびにそれらの組み合わせおよびハイブリッドからなる群より選択されるFcフラグメントを有する。いくつかの実施形態では、Fcフラグメントは、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4由来のFcフラグメントおよびそれらの組み合わせおよびハイブリッドからなる群より選択される。いくつかの実施形態では、Fcフラグメントは、対応する野生型Fcフラグメントと比較して低下したエフェクター機能を有する。いくつかの実施形態では、Fcフラグメントは、対応する野生型Fcフラグメントと比較して増強されたエフェクター機能を有する。いくつかの実施形態では、Fcフラグメントは、血清半減期が延長している。いくつかの実施形態では、Fcフラグメントは、血清半減期が減少している。

【0028】

上記の抗CD93構築物のいずれかによるいくつかの実施形態では、抗体部分は、IGFBP7 (ヒトIGFBP7など) へのCD93の結合を遮断する。

【0029】

上記の抗CD93構築物のいずれかによるいくつかの実施形態では、抗体部分は、MMRN2 (ヒトMMRN2など) へのCD93の結合を遮断する。

【0030】

上記の抗CD93構築物のいずれかによるいくつかの実施形態では、抗体部分は、a) IGFBP7へのCD93の結合および／またはb) MMRN2へのCD93の結合を遮断する。

【0031】

上記の抗CD93構築物のいずれかによるいくつかの実施形態では、CD93はヒトCD93である。

【0032】

いくつかの実施形態では、上記の抗CD93構築物のいずれかを含む融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、1またはそれを超える(one or more)細胞シグナル伝達ペプチドまたは細胞シグナル伝達タンパク質に融合されている。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、1またはそれを超えるVEGF結合部分に融合されている。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、1またはそれを超えるVEGF-A結合部分に融合されている。いくつかの実施形態では、VEGF-A結合部分はアフリベルセプトである。一実施形態では、融合タンパク質は、配列番号366に示されるアミノ酸配列を含む重鎖融合ポリペプチド、または少なくとも約80% (例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体と、配列番号367に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖ポリペプチド、または少なくとも約80% (例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは約99%のいずれか1つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体とを含む。

【0033】

別の態様における本出願は、上記の抗CD93構築物のいずれかと、薬学的に許容され得る担体とを含む医薬組成物を提供する。

## 【0034】

別の態様における本出願は、上記の抗CD93構築物のいずれかをコードする単離された核酸を提供する。

## 【0035】

別の態様における本出願は、上記の単離された核酸のいずれかを含むベクターを提供する。

## 【0036】

別の態様における本出願は、上記の単離された核酸またはベクターのいずれかを含む単離された宿主細胞を提供する。

## 【0037】

別の態様における本出願は、治療剤または標識に連結された、上記の抗CD93構築物のいずれかを含む免疫コンジュゲートを提供する。

## 【0038】

別の態様における本出願は、抗CD93構築物を産生する方法であって、a)請求項25に記載の単離された宿主細胞を、抗CD93構築物を発現するのに有効な条件下で培養することと、b)発現された抗CD93構築物を宿主細胞から得ることとを含む方法を提供する。

## 【0039】

別の態様における本出願は、個体における疾患または状態を処置する方法であって、有効量の上記の抗CD93構築物または医薬組成物のいずれかを個体に投与することを含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、疾患または状態は、異常な血管構造に関連する。いくつかの実施形態では、疾患または状態はがんである。いくつかの実施形態では、がんは固形腫瘍である。いくつかの実施形態では、がんはCD93+内皮細胞を含む。いくつかの実施形態では、がんはIGFBP7+血管を含む。いくつかの実施形態では、がんは腫瘍低酸素を特徴とする。いくつかの実施形態では、がんは局所進行がんまたは転移がんである。いくつかの実施形態では、がんは、リンパ腫、結腸がん、脳がん、乳がん、卵巣がん、子宮内膜がん、食道がん、前立腺がん、子宮頸がん、腎がん、膀胱がん、胃がん、非小細胞肺癌、黒色腫、および膵臓がんからなる群より選択される。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物を個体に非経口投与する。いくつかの実施形態では、本方法は、第二の治療を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、第二の治療は、手術、放射線、遺伝子治療、免疫療法、骨髄移植、幹細胞移植、ホルモン治療、標的化治療、寒冷療法、超音波治療、光ダイナミック療法、および化学療法からなる群より選択される。いくつかの実施形態では、第二の治療は免疫療法である。いくつかの実施形態では、免疫療法は免疫調節剤を投与することを含む。いくつかの実施形態では、免疫調節剤は、免疫チェックポイント阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は抗PD-L1抗体または抗PD-1抗体を含む。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0040】

【図1】図1は、ヒトまたはカニクイザルCD93に対する16E4およびMM01の結合親和性を示す。

## 【0041】

【図2】図2は、CD93発現CHO細胞に対する様々な抗CD93抗体の結合を示す。

## 【0042】

【図3-1】図3A~図3Dは、様々な濃度のmIgGアイソタイプと比較した、16E4およびMM01によるCD93とIGFBP7との間の相互作用の阻害を示す。

【図3-2】図3A~図3Dは、様々な濃度のmIgGアイソタイプと比較した、16E4およびMM01によるCD93とIGFBP7との間の相互作用の阻害を示す。

## 【0043】

【図4-1】図4A~図4Fは、対照と比較した、様々な抗CD93抗体によるHUV E

10

20

30

40

50

Cチューブ形成の阻害を示す。

【図4-2】図4A～図4Fは、対照と比較した、様々な抗CD93抗体によるHUVECチューブ形成の阻害を示す。

【図4-3】図4A～図4Fは、対照と比較した、様々な抗CD93抗体によるHUVECチューブ形成の阻害を示す。

【図4-4】図4A～図4Fは、対照と比較した、様々な抗CD93抗体によるHUVECチューブ形成の阻害を示す。

【0044】

【図5】図5A～図5Bは、Octet競合による様々な抗CD93抗体のエピトープビニングの結果を示す。

【0045】

【図6A】図6A～図6Bは、バイオレイヤー干渉法（BLI）アッセイによって測定されたヒトおよびカニクイザルCD93に対する様々な抗CD93抗体の交差結合活性を示す。

【図6B】図6A～図6Bは、バイオレイヤー干渉法（BLI）アッセイによって測定されたヒトおよびカニクイザルCD93に対する様々な抗CD93抗体の交差結合活性を示す。

【0046】

【図7】図7A～図7Bは、KabataナンバリングによるV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub> CDRのアラインメントを示す。上から順に、図7Aの配列は配列番号393～406であり、図7Bの配列は配列番号407～420である。

【0047】

【図8】図8A～図8Bは、VBASE2ツールによって決定されたV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub> CDRのアラインメントを示す。上から順に、図8Aの配列は配列番号393～406であり、図8Bの配列は配列番号407～420である。

【0048】

【図9】図9は、ヒトCD93に対する10B1および7F3の結合親和性を示す。

【0049】

【図10】図10は、ヒトCD93発現CHO細胞への16E4、10B1および7F3の結合、ならびにCHO-K1細胞への結合の欠如を示す。

【0050】

【図11】図11A～図11Bは、50 μg/mLのmIgGアイソタイプと比較した、16E4、10B1および7F3によるCD93とMMRN2との間の相互作用の阻害を示す。

【0051】

【図12】図12は、対照（IgG2a）と比較した、異なるMMRN2濃度での7F3によるCD93とMMRN2との間の相互作用の阻害を示す。

【0052】

【図13】図13は、対照（IgG1）と比較した、7F3によるCD93とMMRN2との間の相互作用の阻害を示す。

【0053】

【図14】図14は、様々な濃度のmIgG1アイソタイプと比較した、7F3によるCD93とIGFBP7との間の相互作用の阻害を示す。

【0054】

【図15A】図15A～図15Bは、対照と比較した、2つの濃度での16E4および7F3によるHUVECチューブ形成の阻害を示す。

【図15B】図15A～図15Bは、対照と比較した、2つの濃度での16E4および7F3によるHUVECチューブ形成の阻害を示す。

【0055】

【図16】図16は、VEGFも認識する例示的な多重特異性抗CD93構築物を示す。

10

20

30

40

50

【0056】

【図17】図17は、例示的な抗CD93構築物で処置したマウスにおける腫瘍体積を示す。

【0057】

【図18】図18は、ヒト化17B10抗CD93抗体で処置したマウスにおける腫瘍体積を示す。

【0058】

【図19】図19は、フローサイトメトリーによって決定されたヒト血清の存在下での初代HUVEC細胞への抗CD93抗体の結合を示す。

【0059】

【図20】図20は、フローサイトメトリーによって決定されたヒト血清の非存在下での初代HUVEC細胞への抗CD93抗体の結合を示す。

【0060】

【図21】図21は、フローサイトメトリーアッセイによって決定されたヒト血清の存在下でのhCD93 CHO細胞への抗CD93抗体の結合を示す。

【0061】

【図22】図22は、フローサイトメトリーアッセイによって決定されたU937細胞への抗CD93抗体の結合を示す。

【0062】

【図23】図23は、HUVECチューブ形成における例示的なヒト化17B10抗体の阻害効果を示す。

【図24】図24は、HUVECチューブ形成における例示的なヒト化17B10抗体の阻害効果を示す。

【0063】

【図25A】図25A～図25Bは、ヒトCD93を過剰発現するCHO細胞に対する例示的なヒト化17B10抗体の結合を示す。

【図25B】図25A～図25Bは、ヒトCD93を過剰発現するCHO細胞に対する例示的なヒト化17B10抗体の結合を示す。

【0064】

【図26】図26A～図26Bは、KG1aおよびU937細胞に対する例示的なヒト化17B10抗体の結合を示す。

【0065】

【図27】図27は、蛍光活性化細胞選別（FACS）アッセイによって決定されたマウスCD93細胞表面発現CHO細胞へのヒト化抗CD93抗体17B10の結合を示す。

【0066】

【図28】図28は、蛍光活性化細胞選別（FACS）アッセイによって決定されたマウスCD93細胞表面発現HEK細胞への例示的なヒト化17B10抗体の結合を示す。

【0067】

【図29】図29は、例示的なヒト化16E4抗体およびヒト化7F3抗体のSDS-PAGE分析を示す。

【0068】

【図30】図30は、ヒトCD93（hCD93）に対する例示的なヒト化16E4および7F3抗体の結合のELISA分析を示す。

【0069】

【図31】図31は、ヒトCD93（hCD93）に対する例示的なh7F3（ヒト化7F3）抗体の結合のELISA分析を示す。

【0070】

【図32】図32は、hCD93に対する例示的なハイブリドーマまたはヒト化16E4抗体の結合のELISA分析を示す。

【0071】

10

20

30

40

50

【図 3 3】図 3 3 は、h C D 9 3 に対する例示的なハイブリドーマまたはヒト化 1 7 B 1 0 抗体の結合の E L I S A 分析を示す。

【 0 0 7 2 】

【図 3 4】図 3 4 は、h C D 9 3 に対する例示的なヒト化 1 7 B 1 0 の結合の E L I S A 分析を示す。

【 0 0 7 3 】

【図 3 5】図 3 5 は、C H O - h C D 9 3 細胞に対する 1 6 E 4 - h I g G 1 および 7 F 3 - h I g G 1 抗体の結合の F A C S 分析を示す。

【 0 0 7 4 】

【図 3 6】図 3 6 は、C H O - h C D 9 3 細胞へのヒト化 7 F 3 の結合の F A C S 分析を示す。

10

【 0 0 7 5 】

【図 3 7】図 3 7 は、C H O - h C D 9 3 細胞への h 1 6 E 4 (ヒト化 1 6 E 4) の結合の F A C S 分析を示す。

【 0 0 7 6 】

【図 3 8】図 3 8 は、H U V E C 細胞へのヒト化 7 F 3 の結合の F A C S 分析を示す。

【 0 0 7 7 】

【図 3 9】図 3 9 は、K G 1 a 細胞へのヒト化 7 F 3 の結合の F A C S 分析を示す。

【 0 0 7 8 】

【図 4 0】図 4 0 は、K G 1 a 細胞へのヒト化 1 6 E 4 の結合の F A C S 分析を示す。

20

【 0 0 7 9 】

【図 4 1】図 4 1 は、h C D 9 3 に対する例示的な 1 6 E 4 抗体および 7 F 3 抗体の結合の動態の特徴づけを示す。

【 0 0 8 0 】

【図 4 2】図 4 2 は、h C D 9 3 に対する例示的なヒト化 1 6 E 4 抗体の結合の動態の特徴づけを示す。

【 0 0 8 1 】

【図 4 3】図 4 3 は、o c t e t によるヒト C D 9 3 ならびにフローサイトメトリーによって測定されたヒト C D 9 3 発現 C H O 細胞、H U V E C 細胞または K G 1 a 細胞に対する例示的な 1 6 E 4 および 7 F 3 抗体の結合親和性の要約を示す。

30

【 0 0 8 2 】

【図 4 4】図 4 4 は、C H O - h C D 9 3 細胞へのヒト M M R N 2 の結合に対するヒト化 7 F 3 の遮断効果の F A C S 分析を示す。

【 0 0 8 3 】

【図 4 5】図 4 5 は、C H O - h C D 9 3 細胞への M M R N 2 の結合に対するヒト化 1 6 E 4 および 7 F 3 抗体の遮断効果の F A C S 分析を示す。

【 0 0 8 4 】

【図 4 6】図 4 6 は、H U V E C 細胞へのヒト I G F B P 7 の結合に対する例示的なヒト化 7 F 3 抗体の遮断効果の F A C S 分析を示す。

【 0 0 8 5 】

【図 4 7】図 4 7 は、ヒト C D 9 3 へのヒト I G F B P 7 の結合に対する例示的な 7 F 3 抗体または 1 6 E 4 抗体の遮断効果の O c t e t 分析を示す。

40

【 0 0 8 6 】

【図 4 8】図 4 8 は、ヒト C D 9 3 へのヒト I G F B P 7 の結合に対する例示的な 1 6 E 4 抗体の遮断効果の O c t e t 分析を示す。

【 0 0 8 7 】

【図 4 9】図 4 9 は、H U V E C チューブ形成に対する例示的なヒト化 7 F 3 および 1 6 E 4 抗体の効果を示す。

【図 5 0】図 5 0 は、H U V E C チューブ形成に対する例示的なヒト化 7 F 3 および 1 6 E 4 抗体の効果を示す。

50

【0088】

【図51】図51は、例示的な抗CD93抗体の特性の概要を示す。

【0089】

【図52A】図52Aは、B16F10マウスモデルにおける7F3、16E4、および17B10キメラのインビボ抗腫瘍有効性の結果ならびにそれらの処置マウスの体重変化を示す。図52Cは、B16F10マウスモデルにおける7F3、16E4、17B10および7F3／VEGFRFcのインビボ抗腫瘍有効性の結果ならびにそれらの処置マウスの体重変化を示す。

【図52B】図52Aは、B16F10マウスモデルにおける7F3、16E4、および17B10キメラのインビボ抗腫瘍有効性の結果ならびにそれらの処置マウスの体重変化を示す。図52Cは、B16F10マウスモデルにおける7F3、16E4、17B10および7F3／VEGFRFcのインビボ抗腫瘍有効性の結果ならびにそれらの処置マウスの体重変化を示す。

【図52C】図52Aは、B16F10マウスモデルにおける7F3、16E4、および17B10キメラのインビボ抗腫瘍有効性の結果ならびにそれらの処置マウスの体重変化を示す。図52Cは、B16F10マウスモデルにおける7F3、16E4、17B10および7F3／VEGFRFcのインビボ抗腫瘍有効性の結果ならびにそれらの処置マウスの体重変化を示す。

【0090】

【図53A】図53Aは、h7F3／VEGFR構築物の概略設計を示す。

【0091】

【図53B】図53Bは、CD93と、キメラ7F3－hIgG1との間または例示的キメラ7F3／VEGFR構築物（すなわち、7F3－アフリベルセプト）との間のFACS結合アッセイの結果を示す。

【0092】

【図53C】図53C～図53Dは、FACS遮断アッセイの結果を示す。図53Cは、元の7F3－mIgG1、ヒト化7F3－hIgG1および例示的7F3／VEGFR構築物であるヒト化7F3－アフリベルセプトがすべて、CD93とIGFBP7との間の相互作用を遮断することを示す。図53Dは、元の7F3－mIgG1、ヒト化7F3－hIgG1および例示的7F3／VEGFR構築物であるヒト化7F3－アフリベルセプトがすべて、CD93とMMRN2との間の相互作用を遮断することを示す。

【図53D】図53C～図53Dは、FACS遮断アッセイの結果を示す。図53Cは、元の7F3－mIgG1、ヒト化7F3－hIgG1および例示的7F3／VEGFR構築物であるヒト化7F3－アフリベルセプトがすべて、CD93とIGFBP7との間の相互作用を遮断することを示す。図53Dは、元の7F3－mIgG1、ヒト化7F3－hIgG1および例示的7F3／VEGFR構築物であるヒト化7F3－アフリベルセプトがすべて、CD93とMMRN2との間の相互作用を遮断することを示す。

【0093】

【図53E】図53E～図53Fは、ELISA結合アッセイの結果を示す。図53Eは、キメラ7F3－hIgG1およびヒト化7F3－アフリベルセプトが両方ともヒトCD93に結合し、一方、ヒト化7F3－アフリベルセプトおよびアバスチンが両方ともVEGFAに結合することを示す。図53Fは、キメラ7F3－hIgG1、キメラ7F3－アフリベルセプト、およびヒト化7F3－アフリベルセプトがヒトCD93およびカニクイザル（cyno）CD93の両方に結合することを示す。アバスチン、キメラ7F3－アフリベルセプトおよびヒト化7F3－アフリベルセプトはすべてヒトVEGFAに結合し、一方、キメラ7F3－アフリベルセプトおよびヒト化7F3－アフリベルセプトのみがマウスVEGFAに結合する。

【図53F】図53E～図53Fは、ELISA結合アッセイの結果を示す。図53Eは、キメラ7F3－hIgG1およびヒト化7F3－アフリベルセプトが両方ともヒトCD93に結合し、一方、ヒト化7F3－アフリベルセプトおよびアバスチンが両方ともVE

G F Aに結合することを示す。図53Fは、キメラ7F3-hIgG1、キメラ7F3-アフリベルセプト、およびヒト化7F3-アフリベルセプトがヒトCD93およびカニクイザル(cyno)CD93の両方に結合することを示す。アバスチン、キメラ7F3-アフリベルセプトおよびヒト化7F3-アフリベルセプトはすべてヒトVEGFAに結合し、一方、キメラ7F3-アフリベルセプトおよびヒト化7F3-アフリベルセプトのみがマウスVEGFAに結合する。

【0094】

【図53G】図53Gは、VEGFAと、hFc-VEGFトラップ、h7F3-VEGFトラップまたはアバスチンとの間の結合を試験したOctet結合アッセイの結果を示す。

10

【発明を実施するための形態】

【0095】

本出願の詳細な説明

本出願は、CD93に特異的に結合する新規な抗CD93構築物（例えば、抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体）、抗CD93構築物を調製する方法、構築物を使用する方法（例えば、疾患または状態を処置する方法）を提供する。

【0096】

抗CD93抗体（例えば、CD93とIGFBP7との間の相互作用を遮断する抗CD93抗体）は、腫瘍またはがんを効果的に処置し、異常な腫瘍血管新生を遮断し、未熟かつ漏出性の腫瘍血管を正常化し、腫瘍における機能的血管網を促進し、血管成熟を促進し、好ましい腫瘍微小環境を促進し、腫瘍における免疫細胞浸潤を増加させ、腫瘍灌流を増加させ、腫瘍における過形成を減少させ、腫瘍を第二の治療に感作させ、および／または第二の薬剤の送達を促進し得る。例えば、WO2021062128A1を参照されたい。その開示は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、本明細書中に記載される抗CD93構築物は、腫瘍のサイズを縮小させる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD93構築物は、腫瘍における免疫細胞浸潤を促進する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD93構築物は、腫瘍における血管成熟を促進する。いくつかの実施形態では、本明細書中に記載される抗CD93構築物は、腫瘍を第二の治療に対して感作させるか、または第二の薬剤の送達を容易にする。

20

【0097】

30

I. 定義

「抗体」という用語は、その最も広い意味で使用され、所望の抗原結合活性を示す限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、全長抗体およびその抗原結合フラグメントを含むがこれらに限定されない様々な抗体構造を包含する。「抗体部分」という用語は、全長抗体またはその抗原結合フラグメントを指す。

【0098】

全長抗体は、2つの重鎖および2つの軽鎖を含む。軽鎖および重鎖の可変領域は、抗原結合を担う。重鎖および軽鎖の可変ドメインは、それぞれ「V<sub>H</sub>」および「V<sub>L</sub>」と呼ばれることがある。両方の鎖の可変領域は、一般に、相補性決定領域(CDR)と呼ばれる3つの高度に可変なループを含む(LC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む軽鎖(LC)CDR、およびHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3を含む重鎖(HC)CDR)。本明細書に開示される抗体および抗原結合フラグメントのCDR境界は、Kabata、Chothia、またはAl-Lazikani(Al-Lazikani 1997; Chothia 1985; Chothia 1987; Chothia 1989; Kabata 1987; Kabata 1991)の慣例によって定義または同定され得る。重鎖または軽鎖の3つのCDRは、CDRよりも高度に保存されており、超可変ループを支持するための足場を形成するフレームワーク領域(FR)として公知の隣接するストレッチの間に介在する。重鎖および軽鎖の定常領域は抗原結合に関与しないが、様々なエフェクター機能を示す。抗体は、その重鎖の定常領域のア

40

50

ミノ酸配列に基づいてクラスに割り当てられる。抗体の5つの主要なクラスまたはアイソタイプは、Ig A、Ig D、Ig E、Ig GおよびIg Mであり、それぞれ $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ および $\mu$ 重鎖の存在を特徴とする。主要な抗体クラスのいくつかは、Ig G 1 ( $\gamma$  1 重鎖)、Ig G 2 ( $\gamma$  2 重鎖)、Ig G 3 ( $\gamma$  3 重鎖)、Ig G 4 ( $\gamma$  4 重鎖)、Ig A 1 ( $\alpha$  1 重鎖)、またはIg A 2 ( $\alpha$  2 重鎖)などのサブクラスに分けられる。

【0099】

本明細書で使用される「抗原結合フラグメント」という用語は、例えば、ダイアボディ、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fvフラグメント、ジスルフィド安定化Fvフラグメント(dsFv)、(dsFv)<sub>2</sub>、二重特異性dsFv(dsFv-dsFv')、ジスルフィド安定化ダイアボディ(dsダイアボディ)、一本鎖Fv(scFv)、scFv二量体(二価ダイアボディ)、1またはそれを超えるCDRを含む抗体の一部から形成された多重特異性抗体、ラクダ状単ドメイン抗体、ナノボディ、ドメイン抗体、二価ドメイン抗体、または抗原に結合するが完全な抗体構造を含まない任意の他の抗体フラグメントを含む抗体フラグメントを指す。抗原結合フラグメントは、親抗体または親抗体フラグメント(例えば、親scFv)が結合する同じ抗原に結合することができる。いくつかの実施形態では、抗原結合フラグメントは、フラグメント異なるヒト抗体由来のフレームワーク領域にグラフトされた特定のヒト抗体由来の1またはそれを超えるCDRを含み得る。

【0100】

「Fv」は、完全な抗原認識および結合部位を含む最小の抗体フラグメントである。このフラグメントは、1つの重鎖可変領域ドメインと1つの軽鎖可変領域ドメインとが密接に非共有結合した二量体からなる。これらの2つのドメインのフォールディングから、抗原結合のためのアミノ酸残基に寄与し、抗体に対する抗原結合特異性を付与する6つの超可変ループ(それぞれ重鎖および軽鎖からの3つのループ)が生じる。しかしながら、単一の可変ドメイン(または抗原に特異的な3つのCDRのみを含むFvの半分)でさえ、抗原を認識して結合する能力を有するが、結合部位全体よりも低い親和性であることが多い。

【0101】

「単鎖Fv」(「sFv」または「scFv」とも略される)は、単一のポリペプチド鎖に連結されたV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>抗体ドメインを含む抗体フラグメントである。いくつかの実施形態では、scFvポリペプチドは、scFvが抗原結合のための所望の構造を形成することを可能にする、V<sub>H</sub>ドメインとV<sub>L</sub>ドメインとの間のポリペプチドリンカーをさらに含む。scFvの総説については、Plueckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)を参照されたい。

【0102】

本明細書で使用される場合、「CDR」または「相補性決定領域」という用語は、重鎖ポリペプチドおよび軽鎖ポリペプチドの両方の可変領域内に見られる不連続な抗原結合部位を意味することを意図している。これらの特定の領域は、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977); Kabat et al., U. S. Dept. of Health and Human Services, 「Sequences of proteins of immunological interest」(1991); Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); Al-Lazikani B. et al., J. Mol. Biol., 273:927-948 (1997); MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996); Abhinandan and Martin, Mol. Immunol., 45:3832-3839 (2008); Lefranc M. P. et al., Dev. Comp. Immunol., 27:55-77 (2003); および Honegger and

Pluckthun, J. Mol. Biol., 309:657-670 (2001)に記載されており、ここで、定義は、互いに比較した場合のアミノ酸残基の重複またはサブセットを含む。それにもかかわらず、抗体またはグラフト抗体またはその改変体のCDRを指すためのいずれかの定義の適用は、本明細書で定義および使用される用語の範囲内であることが意図される。上記で引用した参考文献のそれぞれによって定義されるCDRを包含するアミノ酸残基を、比較として以下の表1に示す。CDR予測アルゴリズムおよびインターフェースは当技術分野で公知であり、例えば、Abhinandan and Martin, Mol. Immunol., 45:3832-3839 (2008); Ehrenmann F. et al., Nucleic Acids Res., 38:D301-D307 (2010); および Adolf-Bryfogle J. et al., Nucleic Acids Res., 43:D432-D438 (2015)。この段落で引用された参考文献の内容は、本出願で使用するため、および本明細書の1またはそれを超える請求項中の包含の可能性のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供されるCDR配列は、IMGT定義に基づく。例えば、CDR配列は、VBASE2ツール (<http://www.vbase2.org/vbase2.php>、組込みV遺伝子データベースであるRetter I, Althaus HH, Munch R, Muller W: VBASE2も参照されたい。Nucleic Acids Res. 2005 Jan 1; 33 (データベース発行): D671-4、その全体が参照により本明細書に組み込まれる)によって決定され得る。

10

20

30

40

50

# 【表1】

表1: CDR定義

|                     | Kabat <sup>1</sup> | Chothia <sup>2</sup> | MacCallum <sup>3</sup> | IMGT <sup>4</sup> | AHo <sup>5</sup> |
|---------------------|--------------------|----------------------|------------------------|-------------------|------------------|
| V <sub>H</sub> CDR1 | 31-35              | 26-32                | 30-35                  | 27-38             | 25-40            |
| V <sub>H</sub> CDR2 | 50-65              | 53-55                | 47-58                  | 56-65             | 58-77            |
| V <sub>H</sub> CDR3 | 95-102             | 96-101               | 93-101                 | 105-117           | 109-137          |
| V <sub>L</sub> CDR1 | 24-34              | 26-32                | 30-36                  | 27-38             | 25-40            |
| V <sub>L</sub> CDR2 | 50-56              | 50-52                | 46-55                  | 56-65             | 58-77            |
| V <sub>L</sub> CDR3 | 89-97              | 91-96                | 89-96                  | 105-117           | 109-137          |

<sup>1</sup>残基ナンバリングは、上記のKabatらの命名法に従う。

<sup>2</sup>残基ナンバリングは、上記のChothiaらの命名法に従う。

<sup>3</sup>残基ナンバリングは、上記のMacCallumらの命名法に従う。

<sup>4</sup>残基ナンバリングは、上記のMacCallumらの命名法に従う。

<sup>5</sup>残基ナンバリングは、上記のHoneggerおよびPluckthunの命名法に従う。

# 【0103】

「Kabatにおける可変ドメイン残基ナンバリング」または「Kabatにおけるアミノ酸位置ナンバリング」という表現およびその変形は、上記のKabatらの抗体の編集の重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインに使用されるナンバリングシステムを指す。このナンバリングシステムを使用して、実際の線状アミノ酸配列は、可変ドメインのFRまたは超可変領域(HVR)の短縮または挿入に対応するより少ないまたは追加のアミノ酸を含み得る。例えば、重鎖可変ドメインは、H2の残基52の後の単一のアミノ酸挿入(Kabatによる残基52a)および重鎖FR残基82の後の挿入残基(例えば、Kabatによる残基82a、82bおよび82cなど)を含み得る。残基のKabatナンバリングは、抗体の配列と「標準的な」Kabatナンバリング配列との相同性領域でのアラインメントによって、所与の抗体について決定され得る。

## 【0104】

本明細書中で他に示されない限り、免疫グロブリン重鎖における残基のナンバリングは、上記のK a b a tらにおけるE Uインデックスのナンバリングである。「K a b a tにおけるE Uインデックス」は、ヒトI g G 1 E U抗体の残基ナンバリングを指す。

## 【0105】

「フレームワーク」または「F R」残基は、本明細書で定義されるC D R残基以外の可変ドメイン残基である。

## 【0106】

非ヒト（例えば、げっ歯類）抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト抗体に由来する最小配列を含有するキメラ抗体である。ほとんどの場合、ヒト化抗体は、レシピエントの超可変領域（H V R）由来の残基が、所望の抗体特異性、親和性および能力を有するマウス、ラット、ウサギまたは非ヒト霊長類などの非ヒト種（ドナー抗体）の超可変領域由来の残基で置き換えられたヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。いくつかの例において、ヒト免疫グロブリンのフレームワーク領域（F R）残基は、対応する非ヒト残基によって置き換えられる。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体またはドナー抗体には見られない残基を含むことができる。これらの改変は、抗体の性能をさらに改良するために行われる。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つの、典型的には2つの可変ドメインの実質的にすべてを含み、超可変ループのすべてまたは実質的にすべてが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、F Rのすべてまたは実質的にすべてがヒト免疫グロブリン配列のものである。ヒト化抗体はまた、必要に応じて、免疫グロブリン定常領域（F c）（典型的にはヒト免疫グロブリンのもの）の少なくとも一部を含む。さらなる詳細については、J o n e s e t a l . , N a t u r e 3 2 1 : 5 2 2 - 5 2 5 ( 1 9 8 6 ) ; R i e c h m a n n e t a l . , N a t u r e 3 3 2 : 3 2 3 - 3 2 9 ( 1 9 8 8 ) ; および P r e s t a , C u r r . O p . S t r u c t . B i o l . 2 : 5 9 3 - 5 9 6 ( 1 9 9 2 ) を参照のこと。

## 【0107】

「ヒト抗体」は、ヒトによって産生される抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を有する抗体であり、および／または本明細書に開示されるヒト抗体を作製するための技術のいずれかを使用して作製されている。ヒト抗体のこの定義は、具体的には、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を除外する。ヒト抗体は、ファージディスプレイライブラリーを含む当技術分野で公知の様々な技術を使用して産生することができる。H o o g e n b o o m a n d W i n t e r , J . M o l . B i o l . , 2 2 7 : 3 8 1 ( 1 9 9 1 ) ; M a r k s e t a l . , J . M o l . B i o l . , 2 2 2 : 5 8 1 ( 1 9 9 1 ) 。また、ヒトモノクローナル抗体の調製に利用可能なのは、C o l e e t a l . , M o n o c l o n a l A n t i b o d i e s a n d C a n c e r T h e r a p y , A l a n R . L i s s , p . 7 7 ( 1 9 8 5 ) ; B o e r n e r e t a l . , J . I m m u n o l . , 1 4 7 ( 1 ) : 8 6 - 9 5 ( 1 9 9 1 ) に記載される方法である。v a n D i j k a n d v a n d e W i n k e l , C u r r . O p i n . P h a r m a c o l . , 5 : 3 6 8 - 7 4 ( 2 0 0 1 ) も参照のこと。ヒト抗体は、抗原チャレンジに応答してそのような抗体を産生するように改変されているが、その内因性遺伝子座が無効化されているトランスジェニック動物、例えば免疫化異種に抗原を投与することによって調製することができる（例えば、X E N O M O U S E（商標）に関する米国特許第6, 0 7 5, 1 8 1号および第6, 1 5 0, 5 8 4号を参照のこと）。ヒトB細胞ハイブリドーマ技術を介して生成されたヒト抗体に関するL i e t a l . , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A , 1 0 3 : 3 5 5 7 - 3 5 6 2 ( 2 0 0 6 ) も参照のこと。

## 【0108】

本明細書で同定されるポリペプチドおよび抗体配列に関する「パーセント（%）アミノ酸配列同一性」または「相同性」は、任意の保存的置換を配列同一性の一部として考慮して配列を整列させた後の、比較されるポリペプチド中のアミノ酸残基と同一である候補配

10

20

30

40

50

列中のアミノ酸残基のパーセンテージとして定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決定するためのアラインメントは、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、Megalign (DNASTAR)、またはMUSCLEソフトウェアなどの公的に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用して、当技術分野の技術の範囲内である様々な方法で達成することができる。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大アラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメータを決定することができる。しかしながら、本明細書の目的のために、%アミノ酸配列同一性の値は、配列比較コンピュータプログラムMUSCLE (Edgar, R. C., Nucleic Acids Research 32 (5): 1792-1797, 2004; Edgar, R. C., BMC Bioinformatics 5 (1): 113, 2004)を使用して生成される。

10

#### 【0109】

「相同」とは、2つのポリペプチド間または2つの核酸分子間の、配列類似性または配列同一性を指す。2つの比較された配列の両方におけるある位置が同じ塩基または同じアミノ酸モノマーサブユニットによって占められている場合、例えば、2つのタンパク質分子のそれぞれにおけるある位置がリジンによって占められている場合、または2つのDNA分子のそれぞれにおけるある位置がアデニンによって占められている場合、それらの分子はその位置で相同である。2つの配列間の相同性のパーセントは、その2つの配列が共有する一致位置または相同位置の数を比較した位置の数で割って100倍した関数である。例えば、2つの配列中の10個の位置のうち6個が一致するかまたは相同である場合、その2つの配列は60%相同である。例として、タンパク質配列SGTSTD (配列番号421)とTGTSDA (配列番号422)とは、50%の相同性を共有する。一般に、2つの配列が最大の相同性を得るように並べられた場合に、比較が行われる。

20

#### 【0110】

「定常ドメイン」という用語は、抗原結合部位を含む免疫グロブリンの他の部分、可変ドメインと比較してより保存されたアミノ酸配列を有する免疫グロブリン分子の部分の部分を指す。定常ドメインは、重鎖のCH1、CH2およびCH3ドメイン (集合的にCH) ならびに軽鎖のCHL (またはCL) ドメインを含む。

#### 【0111】

任意の哺乳動物種由来の抗体 (免疫グロブリン) の「軽鎖」は、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ (「κ」) およびラムダ (「λ」) と呼ばれる2つの明確に異なるタイプのうちの1つに割り当てることができる。

30

#### 【0112】

「CH1ドメイン」 (「H1」ドメインの「C1」とも呼ばれる) は、通常、約アミノ酸118から約アミノ酸215に及ぶ (EUナンバリングシステム)。

#### 【0113】

「ヒンジ領域」は、一般に、ヒトIgG1のGlu216~Pro230に対応するIgG中の領域として定義される (Burton, Molec. Immunol. 22: 161-206 (1985))。他のIgGアイソタイプのヒンジ領域は、重鎖間S-S結合を形成する最初および最後のシステイン残基を同じ位置に配置することによってIgG1配列と整列させることができる。

40

#### 【0114】

ヒトIgG Fc領域の「CH2ドメイン」 (「C2」ドメインとも呼ばれる) は、通常、約アミノ酸231から約アミノ酸340に及ぶ。CH2ドメインは、別のドメインと密接に対になっていないという点で独特である。むしろ、2つのN結合分枝炭水化物鎖が、インタクトな天然IgG分子の2つのCH2ドメインの間に挟まれている。炭水化物は、ドメイン-ドメイン対合の代替物を提供し、CH2ドメインの安定化を助け得ると推測されている。Burton, Molec. Immunol. 22: 161-206 (1985)。

#### 【0115】

50

「CH3ドメイン」（「C2」ドメインとも呼ばれる）は、Fc領域中のCH2ドメインに対してC末端側の残基のストレッチ（すなわち、約アミノ酸残基341から抗体配列のC末端、典型的にはIgGのアミノ酸残基446または447まで）を含む。

【0116】

本明細書における「Fc領域」または「フラグメント結晶化可能領域」という用語は、天然配列Fc領域および改変体Fc領域を含む免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために使用される。免疫グロブリン重鎖のFc領域の境界は変化し得るが、ヒトIgG重鎖Fc領域は、通常、位置Cys226のアミノ酸残基またはPro230のアミノ酸残基からそのカルボキシル末端まで伸びるように定義される。Fc領域のC末端リジン（EUNANバリングシステムによる残基447）は、例えば、抗体の産生もしくは精製中に、または抗体の重鎖をコードする核酸を組換え操作することによって除去され得る。したがって、インタクトな抗体の組成物は、すべてのK447残基が除去された抗体集団、K447残基が除去されていない抗体集団、およびK447残基を有するおよび有しない抗体の混合物を有する抗体集団を含み得る。本明細書中に記載される抗体において使用するための好適な天然配列Fc領域としては、ヒトIgG1、IgG2（IgG2A、IgG2B）、IgG3およびIgG4が挙げられる。

【0117】

「Fc受容体」または「FcR」は、抗体のFc領域に結合する受容体を記載する。好ましいFcRは、天然配列のヒトFcRである。さらに、好ましいFcRは、IgG抗体（ガンマ受容体）に結合し、FcγRI、FcγRII、FcRN、およびFcγRII Iサブクラスの受容体を含むものであり、これらの受容体の対立遺伝子改変体および選択的にスプライシングされた形態を含み、FcγRII受容体は、FcγRIIA（「活性化受容体」）およびFcγRIIB（「阻害性受容体」）を含み、これらは主にその細胞質ドメインが異なる類似のアミノ酸配列を有する。活性化受容体FcγRIIAは、その細胞質ドメインに免疫受容体チロシン活性化モチーフ（ITAM）を含む。阻害受容体FcγRIIBは、その細胞質ドメインに免疫受容体チロシン阻害性モチーフ（ITIM）を含有する。（M. Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15: 203-234 (1997)を参照のこと。FcRNは、抗体の血清半減期の増加を可能にする血液への抗体の再利用にとって重要である。FcRは、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-92 (1991); Capelle et al., Immunomethods 4: 25-34 (1994); および de Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126: 330-41 (1995)で概説されている。将来同定されるものを含む他のFcRは、本明細書において「FcR」という用語に包含される。

【0118】

本明細書で使用される「エピトープ」という用語は、抗体または抗体部分が結合する抗原上の原子またはアミノ酸の特定の群を指す。2つの抗体または抗体部分は、抗原に対する競合的結合を示す場合、抗原内の同じエピトープに結合し得る。

【0119】

本明細書で使用される場合、第一の抗体またはそのフラグメントは、第一の抗体またはそのフラグメントが等モル濃度の第一の抗体またはそのフラグメントの存在下で第二の抗体またはそのフラグメントの標的抗原結合を少なくとも約50%（例えば、少なくとも約55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%のいずれか1つ）阻害する場合、標的抗原への結合について第二の抗体またはそのフラグメントと「競合」し、またはその逆も同様である。交差競合に基づく抗体の「ビニング」のための高スループットプロセスは、PCT公開番号WO 03/48731に記載されている。

【0120】

本明細書で使用される場合、「特異的に結合する」、「特異的に認識する」および「に特異的である」という用語は、生物学的分子を含む不均一な分子集団の存在下で標的の存

10

20

30

40

50

在を決定する、標的と抗体または抗体部分との間の結合などの測定可能かつ再現可能な相互作用を指す。例えば、標的（エピトープであり得る）を特異的に認識する抗体または抗体部分は、他の標的への結合よりも高い親和性、アビディティで、より容易に、および／またはより長い持続時間でこの標的に結合する抗体または抗体部分である。いくつかの実施形態では、無関係な標的に対する抗体の結合の程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ（RIA）によって測定して、標的に対する抗体の結合の約10%未満である。いくつかの実施形態では、標的に特異的に結合する抗体は、 $\leq 10^{-5}$  M、 $\leq 10^{-6}$  M、 $\leq 10^{-7}$  M、 $\leq 10^{-8}$  M、 $\leq 10^{-9}$  M、 $\leq 10^{-10}$  M、 $\leq 10^{-11}$  M、または $\leq 10^{-12}$  Mの解離定数（ $K_D$ ）を有する。いくつかの実施形態では、抗体は、異なる種由来のタンパク質の間で保存されているタンパク質上のエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、特異的結合は、排他的結合を含み得るが、それを必要としない。抗体または抗原結合ドメインの結合特異性は、当技術分野で公知の方法によって実験的に決定することができる。そのような方法は、ウエスタンブロット、ELISA、BLI、RIA、ECL、IRMA、EIA、BIACORE（商標）試験およびペプチドスキャンを含むが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

#### 【0121】

本明細書で使用される場合、分子A（例えば、本明細書中に記載されるような抗CD93構築物）は、分子B（例えば、CD93）と分子C（例えば、IGFBP7またはMMRN2）の結合を「遮断する」ことは、直接遮断と間接遮断の両方を指す。例えば、IGFBP7またはMMRN2の結合に関与するCD93上の結合部位の少なくとも一部を占めることによってCD93およびIGFBP7またはMMRN2の結合を直接遮断する代わりに、本明細書に記載の抗CD93構築物は、CD93およびIGFBP7/MMRN2が結合できないようにCD93の構造を変化させることによってCD93およびIGFBP7またはMMRN2の結合を遮断し得る。

#### 【0122】

「単離された」または「精製された」抗体（または構築物）は、その産生環境の構成要素（例えば、天然または組換え）から同定、分離および／または回収されたものである。好ましくは、単離されたポリペプチドは、その産生環境からの他のすべての構成要素と会合していない。

#### 【0123】

本明細書に記載の構築物、抗体、またはその抗原結合フラグメントをコードする「単離された」核酸分子は、それが産生された環境においてそれが通常会合している少なくとも1つの汚染核酸分子から同定および分離される核酸分子である。好ましくは、単離された核酸は、産生環境に関連するすべての構成要素と会合していない。本明細書中に記載されるポリペプチドおよび抗体をコードする単離された核酸分子は、それが自然界で見出される形態または状況以外の形態である。したがって、単離された核酸分子は、細胞内に天然に存在する本明細書に記載のポリペプチドおよび抗体をコードする核酸とは区別される。単離された核酸は、その核酸分子を通常含む細胞に含まれる核酸分子を含むが、その核酸分子は染色体外に、またはその天然の染色体位置とは異なる染色体位置に存在する。

#### 【0124】

「制御配列」という用語は、特定の宿主生物における作動可能に連結されたコード配列の発現に必要なDNA配列を指す。原核生物に適した制御配列には、例えば、プロモーター、必要に応じてオペレーター配列、およびリボソーム結合部位が含まれる。真核細胞は、プロモーター、ポリアデニル化シグナルおよびエンハンサーを利用することが公知である。

#### 【0125】

核酸は、別の核酸配列と機能的関係に置かれた場合に「作動可能に連結される」。例えば、プレ配列または分泌リーダーのためのDNAは、ポリペプチドの分泌に関与するプレタンパク質として発現される場合、ポリペプチドのためのDNAに作動可能に連結されており；プロモーターまたはエンハンサーは、配列の転写に影響を及ぼす場合、コード配列

に作動可能に連結されており；またはリボソーム結合部位は、翻訳を促進するように配置されている場合、コード配列に作動可能に連結されている。一般に、「作動可能に連結されている」とは、連結されているDNA配列が連続していることを意味し、分泌リーダーの場合、連続しており、リーディングフレーム内にあることを意味する。しかしながら、エンハンサーは連続している必要はない。連結は、好都合な制限部位でのライゲーションによって達成される。そのような部位が存在しない場合、合成オリゴヌクレオチドアダプターまたはリンカーが従来の慣例に従って使用される。

【0126】

本明細書で使用される「ベクター」という用語は、それが連結されている別の核酸を増殖させることができる核酸分子を指す。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクター、ならびにそれが導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターを含む。特定のベクターは、それらが作動可能に連結されている核酸の発現を指示することができる。そのようなベクターは、本明細書では「発現ベクター」と呼ばれる。

【0127】

本明細書で使用される「トランスフェクトされた」または「形質転換された」または「形質導入された」という用語は、外因性核酸が宿主細胞に移入または導入されるプロセスを指す。「トランスフェクトされた」または「形質転換された」または「形質導入された」細胞は、外因性核酸でトランスフェクト、形質転換または形質導入された細胞である。細胞は、初代対象細胞およびその子孫を含む。

【0128】

「宿主細胞」、「宿主細胞株」および「宿主細胞培養物」という用語は互換的に使用され、外因性核酸が導入された細胞を指し、そのような細胞の子孫を含む。宿主細胞には、「形質転換体」および「形質転換細胞」が含まれ、これらには、初代形質転換細胞および継代数を問わずそれに由来する子孫が含まれる。子孫は、親細胞と核酸含有量が完全に同一でなくてもよく、変異を含有してもよい。最初に形質転換された細胞においてスクリーニングまたは選択されたものと同じ機能または生物学的活性を有する変異体子孫が本明細書に含まれる。

【0129】

「免疫コンジュゲート」という用語は、本明細書に記載の抗体部分などの抗体に対する治療剤または検出可能な標識の共有結合への言及を含む。連結は、リンカー（ペプチドリナーなど）を介して直接的または間接的であり得る。

【0130】

本明細書で使用される場合、「処置（treatment）」または「処置する（treating）」は、臨床結果を含む有益なまたは所望の結果を得るためのアプローチである。本出願の目的のために、有益なまたは所望の臨床結果には、それだけに限らないが、以下のうちの1つまたは複数が含まれる：疾患に起因する1またはそれを超える症状の緩和、疾患の程度の縮小、疾患の安定化（例えば、疾患の悪化の予防または遅延）、疾患の拡大（例えば、転移）の予防または遅延、疾患の再発の予防または遅延、疾患の進行の遅延または減速、疾患状態の改善、疾患の寛解（部分的または全体）の提供、疾患を処置するに必要な1またはそれを超える他の医薬の用量の低下、疾患の進行の遅延、生活の質の向上もしくは改善、体重増の増加、および／または生存期間の延長。がん（例えば、腫瘍体積など）の病理学的結果の減少も「処置」に包含される。本出願の方法は、処置のこれらの態様のいずれか1またはそれを超える態様を企図する。

【0131】

がんの文脈において、「処置する」という用語は、がん細胞の増殖を阻害すること、がん細胞の複製を阻害すること、全体的な腫瘍負荷を軽減すること、および疾患に関連する1またはそれを超える症状を改善することのいずれかまたはすべてを含む。

【0132】

「阻害」または「阻害する」という用語は、任意の表現型特性の減少もしくは停止、またはその特性の発生率、程度もしくは可能性の減少もしくは停止を指す。「低減する」ま

10

20

30

40

50

たは「阻害する」ことは、基準と比較して活性、機能、および／または量を減少、低減または停止することである。特定の実施形態では、「低減する」または「阻害する」とは、20%またはそれを超える全体的な減少を引き起こす能力を意味する。別の実施形態では、「低減する」または「阻害する」とは、50%またはそれを超える全体的な減少を引き起こす能力を意味する。さらに別の実施形態では、「低減する」または「阻害する」とは、75%、85%、90%、95%、またはそれを超える全体的な減少を引き起こす能力を意味する。

【0133】

本明細書で使用される「基準」は、比較目的で使用される任意の試料、標準、またはレベルを指す。基準は、健康および／または非疾患の試料から得ることができる。いくつかの例では、基準は、未処理試料から得ることができる。いくつかの例では、基準は、個体の非疾患または非処置の試料から得られる。いくつかの例では、基準は、個体または患者ではない1またはそれを超える健康な個体から得られる。

10

【0134】

本明細書で使用される場合、「疾患の発症を遅延させる」とは、疾患（がんなど）の発症を延期、妨害、緩徐、阻止、安定化、抑制および／または延期することを意味する。この遅延は、処置される疾患および／または個体の病歴に応じて、様々な時間長であり得る。当業者に明らかなように、十分なまたは有意な遅延は、事実上、個体が疾患を発症しないという点で予防を包含し得る。例えば、転移の発生などの後期がんが遅延され得る。

【0135】

本明細書で使用される「予防する」は、疾患の素因を有し得るが、疾患とまだ診断されていない個体における疾患の発生または再発に関して予防を提供することを含む。

20

【0136】

本明細書で使用される場合、機能または活性を「抑制する」ことは、関心のある条件またはパラメータを除いて他の点では同じ条件と比較した場合、または別の条件と比較した場合に、機能または活性を減少させることである。例えば、腫瘍成長を抑制する抗体は、抗体の非存在下での腫瘍の成長速度と比較して、腫瘍の成長速度を低減させる。

【0137】

「対象」、「個体」、および「患者」という用語は、ヒト、ウシ、ウマ、ネコ、イヌ、げっ歯類、または霊長類を含むがこれらに限定されない哺乳動物を指すために本明細書では互換的に使用される。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。

30

【0138】

薬剤の「有効量」は、所望の治療的または予防的結果を達成するために、必要な投与量および期間で有効な量を指す。具体的な用量は、選択される特定の薬剤、従うべき投薬レジメン、他の化合物と組み合わせて投与されるかどうか、投与のタイミング、画像化される組織、およびそれが担持される物理的送達系のうちの1つまたは複数に応じて変化し得る。

【0139】

本出願の物質／分子、アゴニストまたはアンタゴニストの「治療有効量」は、個体の疾患状態、年齢、性別および体重、ならびに物質／分子、アゴニストまたはアンタゴニストが個体において所望の応答を誘発する能力などの因子に従って変化し得る。治療有効量はまた、物質／分子、アゴニストまたはアンタゴニストの任意の毒性または有害効果よりも治療上有益な効果が上回る量である。治療有効量は、1またはそれを超える投与で送達され得る。

40

【0140】

「予防有効量」は、所望の予防結果を達成するために、必要な投与量および期間で有効な量を指す。必ずしもそうとは限らないが、典型的に予防用量は疾患の前または疾患の初期段階で対象に使用されるので、予防有効量は治療有効量よりも少ない。

【0141】

「医薬製剤」および「医薬組成物」という用語は、有効成分（複数可）の生物学的活性

50

が有効であることを可能にするような形態であり、製剤が投与される個体に対して許容できないほど毒性である追加の構成要素を含まない調製物を指す。そのような製剤は無菌であり得る。

【0142】

「薬学的に許容され得る担体」は、個体への投与のための「医薬組成物」と一緒に含む治療剤と共に使用するための、当技術分野で慣用的な非毒性の固体、半固体または液体の充填剤、希釈剤、カプセル化材料、製剤補助剤または担体を指す。薬学的に許容され得る担体は、使用される投与量および濃度でレシピエントに非毒性であり、製剤の他の成分と適合性である。薬学的に許容され得る担体は、使用される製剤に適している。

【0143】

「無菌」製剤は、無菌であるか、または生きている微生物およびその胞子を本質的に含まない。

【0144】

1またはそれを超えるさらなる治療剤と「組み合わせて」投与することは、任意の順序での同時（同時発生の）および連続または逐次投与を含む。

【0145】

「同時発生的に（concurrently）」という用語は、本明細書では、投与の少なくとも一部が時間的に重複するか、または1つの治療剤の投与が他の治療剤の投与と比較して短期間内に入る2またはそれを超える治療剤の投与を指すために使用される。例えば、2またはそれを超える治療剤は、約60分以下、例えば約30、15、10、5、または1分のいずれか以下の時間間隔で投与される。

【0146】

「逐次」という用語は、本明細書では、1またはそれを超える他の薬剤の投与を中止した後に1またはそれを超える薬剤の投与が連続する2またはそれを超える治療剤の投与を指すために使用される。例えば、2またはそれを超える治療剤の投与は、約15分を超える、例えば約20、30、40、50もしくは60分、1日、2日、3日、1週間、2週間もしくは1ヶ月のいずれかまたはそれを超える時間間隔で投与される。

【0147】

本明細書で使用される場合、「と組み合わせて」とは、別の処置モダリティに加えて1つの処置モダリティを投与することを指す。したがって、「と組み合わせて」は、個体への他の処置モダリティの投与前、投与中または投与後の1つの処置モダリティの投与を指す。

【0148】

「添付文書」という用語は、治療用製品の市販パッケージに通例含まれる説明書であって、そのような治療用製品の使用に関する適応症、用法、用量、投与、併用療法、禁忌および／または警告に関する情報を含む説明書を指すために使用される。

【0149】

「製造品」は、少なくとも1つの試薬、例えば疾患または障害（例えば、がん）を処置するための医薬品、または本明細書に記載のバイオマーカーを特異的に検出するためのプローブを含む任意の製造品（例えば、パッケージまたは容器）またはキットである。特定の実施形態では、製造品またはキットは、本明細書に記載の方法を実施するためのユニットとして促進、配布、または販売される。

【0150】

本明細書に記載される本出願の実施形態は、「からなる（consisting）」および／または「から本質的になる（consisting essentially of）」ことを含むことが理解される。

【0151】

本明細書における値またはパラメータの「約」への言及は、その値またはパラメータ自体を対象とする変動を含む（および説明する）。例えば、「約X」という記載は、「X」という記載を含む。

10

20

30

40

50

## 【0152】

本明細書で使用される場合、値またはパラメータ「ではないもの」への言及は、一般に、値またはパラメータ「以外」を意味し、説明する。例えば、本方法がタイプXのがんを処置するために使用されないとは、本方法がタイプX以外のがんを処置するために使用されることを意味する。

## 【0153】

ここでいう「約X～Y」は、「約X～約Y」と同義である。

## 【0154】

本明細書および添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「a」、「or」、および「the」は、文脈が明らかにそうでないことを指示しない限り、複数の指示対象を含む。

10

## 【0155】

## II. 抗CD93構築物

本出願は、本明細書に記載のCD93に特異的に結合する抗CD93抗体部分を含む抗CD93構築物を提供する。

## 【0156】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域（V<sub>H</sub>-2）および第二の軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>-2）を含む抗体または抗体断片と競合し、該V<sub>H</sub>-2は、配列番号1のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号2のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号3のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該V<sub>L</sub>-2は、配列番号4のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号5のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号6のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

20

## 【0157】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号1のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号2のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号3のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号4のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号5のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号6のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号7のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号8のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号9のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号10のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号11のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号12のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

30

40

## 【0158】

いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗CD93抗体に由来するヒト化抗体であり、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号1のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号2のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号3のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号4のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号5のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号6のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

50

## 【0159】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号13に示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号14に示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

## 【0160】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号13のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号14のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

10

## 【0161】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域（V<sub>H</sub>-2）および第二の軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>-2）を含む抗体または抗体断片と競合し、該V<sub>H</sub>-2は、配列番号17のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号18のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号19のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該V<sub>L</sub>-2は、配列番号20のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号21のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

20

## 【0162】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号17のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号18のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号19のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号20のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号21のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号22のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号23のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号24のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号25のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号26のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号27のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号28のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

30

40

## 【0163】

いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗CD93抗体に由来するヒト化抗体であり、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号17のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号18のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号19のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号20のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号21のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号22のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

## 【0164】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号29および307～312のいずれか

50

に示される配列を有する $V_H$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号30、および313～318のいずれかに示される配列を有する $V_L$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

【0165】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号29および307～312のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号30および313～318のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0166】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、重鎖可変領域（ $V_H$ ）および軽鎖可変領域（ $V_L$ ）を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域（ $V_{H-2}$ ）および第二の軽鎖可変領域（ $V_{L-2}$ ）を含む抗体または抗体断片と競合し、該 $V_{H-2}$ は、配列番号33のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号34のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号35のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該 $V_{L-2}$ は、配列番号36のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号37のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号38のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

【0167】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、i) 配列番号33のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号34のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号35のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$ は、i) 配列番号36のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号37のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号38のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、i) 配列番号39のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号40のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号41のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$ は、i) 配列番号42のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号43のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号44のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

【0168】

いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、重鎖可変領域（ $V_H$ ）および軽鎖可変領域（ $V_L$ ）を含む抗CD93抗体に由来するヒト化抗体であり、 $V_H$ は、i) 配列番号33のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号34のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号35のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、 $V_L$ は、i) 配列番号36のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号37のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号38のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

【0169】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号45に示される配列を有する $V_H$ 鎖領

域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号46に示される配列を有するVL鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

【0170】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号45のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号46のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

10

【0171】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エпитープについて、第二の重鎖可変領域（V<sub>H</sub>-2）および第二の軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>-2）を含む抗体または抗体断片と競合し、該V<sub>H</sub>-2は、配列番号49のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号50のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号51のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該V<sub>L</sub>-2は、配列番号52のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号53のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号54のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

20

【0172】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i）配列番号49のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、i i）配列番号50のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびi i i）配列番号51のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i）配列番号52のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、i i）配列番号53のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびi i i）配列番号54のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i）配列番号55のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、i i）配列番号56のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびi i i）配列番号57のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i）配列番号58のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、i i）配列番号59のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびi i i）配列番号60のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

30

【0173】

いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗CD93抗体に由来するヒト化抗体であり、V<sub>H</sub>は、i）配列番号49のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、i i）配列番号50のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびi i i）配列番号51のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、V<sub>L</sub>は、i）配列番号52のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、i i）配列番号53のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびi i i）配列番号54のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

40

【0174】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号61に示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号62に示される配列を有する

50

V<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

【0175】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号61のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号62のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0176】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域（V<sub>H</sub>-2）および第二の軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>-2）を含む抗体または抗体断片と競合し、該V<sub>H</sub>-2は、配列番号65のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号66のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号67のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該V<sub>L</sub>-2は、配列番号68のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号69のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号70のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

【0177】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号65のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号66のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号67のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号68のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号69のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号70のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号71のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号72のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号73のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号74のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号75のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号76のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

【0178】

いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗CD93抗体に由来するヒト化抗体であり、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号65のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号66のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号67のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号68のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号69のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号70のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

【0179】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号77に示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号78に示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

10

20

30

40

50

## 【0180】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号77のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号78のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

## 【0181】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、重鎖可変領域（ $V_H$ ）および軽鎖可変領域（ $V_L$ ）を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域（ $V_{H-2}$ ）および第二の軽鎖可変領域（ $V_{L-2}$ ）を含む抗体または抗体断片と競合し、該 $V_{H-2}$ は、配列番号81のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号82のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号83のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該 $V_{L-2}$ は、配列番号84のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号85のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号86のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

## 【0182】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、i) 配列番号81のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号82のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号83のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$ は、i) 配列番号84のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号85のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号86のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、i) 配列番号87のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号88のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号89のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$ は、i) 配列番号90のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号91のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号92のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

## 【0183】

いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、重鎖可変領域（ $V_H$ ）および軽鎖可変領域（ $V_L$ ）を含む抗CD93抗体に由来するヒト化抗体であり、 $V_H$ は、i) 配列番号81のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号82のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号83のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、 $V_L$ は、i) 配列番号84のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号85のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号86のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

## 【0184】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号93に示される配列を有する $V_H$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号94に示される配列を有する $V_L$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

## 【0185】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号93のアミノ酸配列、または少なくとも約

80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号94のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0186】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域（V<sub>H</sub>-2）および第二の軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>-2）を含む抗体または抗体断片と競合し、該V<sub>H</sub>-2は、配列番号97のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号98のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号99のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該V<sub>L</sub>-2は、配列番号100のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号101のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号102のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

10

【0187】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号97のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号98のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号99のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号100のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号101のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号102のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号103のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号104のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号105のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号106のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号107のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号108のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

20

30

【0188】

いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗CD93抗体に由来するヒト化抗体であり、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号97のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号98のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号99のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号100のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号101のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号102のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

40

【0189】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号109に示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号110に示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

【0190】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号109のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み、

50

含み； $V_L$ は、配列番号110のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0191】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、重鎖可変領域（ $V_H$ ）および軽鎖可変領域（ $V_L$ ）を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域（ $V_{H-2}$ ）および第二の軽鎖可変領域（ $V_{L-2}$ ）を含む抗体または抗体断片と競合し、該 $V_{H-2}$ は、配列番号113のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号114のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号115のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該 $V_{L-2}$ は、配列番号116のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号117のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号118のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

10

【0192】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、i) 配列番号113のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号114のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号115のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$ は、i) 配列番号116のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号117のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号118のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、i) 配列番号119のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号120のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号121のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$ は、i) 配列番号122のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号123のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号124のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

20

30

【0193】

いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、重鎖可変領域（ $V_H$ ）および軽鎖可変領域（ $V_L$ ）を含む抗CD93抗体に由来するヒト化抗体であり、 $V_H$ は、i) 配列番号113のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号114のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号115のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、 $V_L$ は、i) 配列番号116のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号117のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号118のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

【0194】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号125に示される配列を有する $V_H$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号126に示される配列を有する $V_L$ 鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

40

【0195】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号125のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号126のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%の

50

いずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0196】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、重鎖可変領域(V<sub>H</sub>)および軽鎖可変領域(V<sub>L</sub>)を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域(V<sub>H</sub>-2)および第二の軽鎖可変領域(V<sub>L</sub>-2)を含む抗体または抗体断片と競合し、該V<sub>H</sub>-2は、配列番号129のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号130のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号131のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該V<sub>L</sub>-2は、配列番号132のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号133のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号134のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

10

【0197】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i)配列番号129のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号130のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号131のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i)配列番号132のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号133のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号134のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i)配列番号135のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号136のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号137のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i)配列番号138のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号139のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号140のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

20

【0198】

いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、重鎖可変領域(V<sub>H</sub>)および軽鎖可変領域(V<sub>L</sub>)を含む抗CD93抗体に由来するヒト化抗体であり、V<sub>H</sub>は、i)配列番号129のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号130のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号131のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、V<sub>L</sub>は、i)配列番号132のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号133のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号134のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

30

【0199】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号141に示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号142に示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

40

【0200】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号141のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号142のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0201】

50

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域（V<sub>H</sub>-2）および第二の軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>-2）を含む抗体または抗体断片と競合し、該V<sub>H</sub>-2は、配列番号145のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号146のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号147のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該V<sub>L</sub>-2は、配列番号148、355、または358のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号149または356のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号150、357または359のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

#### 【0202】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号145のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号146のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号147のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号148、355、または358のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号149または356のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号150、357または359のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号151のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号152のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号153のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号154のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号155のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号156のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

#### 【0203】

いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗CD93抗体に由来するヒト化抗体であり、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号145のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号146のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号147のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号148、355、または358のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号149または356のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号150、357または359のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

#### 【0204】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号157および360～362のいずれかに示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号158、および363～365のいずれかに示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

#### 【0205】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号157および360～362のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号158、および363～365のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、

10

20

30

40

50

【 0 2 0 6 】

【 0 2 0 7 】

**【 0 2 0 8 】**

【 0 2 0 9 】

**【 0 2 1 0 】**

**【 0 2 1 1 】**

【 0 2 1 2 】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号361のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号365のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%の

50

いずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0213】

いくつかの実施形態では、 $V_H$  は、配列番号 362 のアミノ酸配列、または少なくとも約 80 % (例えば、少なくとも約 80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$  は、配列番号 363 のアミノ酸配列、または少なくとも約 80 % (例えば、少なくとも約 80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0214】

いくつかの実施形態では、 $V_H$  は、配列番号 362 のアミノ酸配列、または少なくとも約 80 % (例えば、少なくとも約 80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$  は、配列番号 364 のアミノ酸配列、または少なくとも約 80 % (例えば、少なくとも約 80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0215】

いくつかの実施形態では、 $V_H$  は、配列番号 362 のアミノ酸配列、または少なくとも約 80 % (例えば、少なくとも約 80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$  は、配列番号 365 のアミノ酸配列、または少なくとも約 80 % (例えば、少なくとも約 80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0216】

いくつかの実施形態では、抗 CD93 構築物は、重鎖可変領域 ( $V_H$ ) および軽鎖可変領域 ( $V_L$ ) を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93 の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域 ( $V_{H-2}$ ) および第二の軽鎖可変領域 ( $V_{L-2}$ ) を含む抗体または抗体断片と競合し、該  $V_{H-2}$  は、配列番号 161 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 162 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 163 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、該  $V_{L-2}$  は、配列番号 164 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 165 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 166 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む。

【0217】

いくつかの実施形態では、 $V_H$  は、i) 配列番号 161 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、ii) 配列番号 162 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および iii) 配列番号 163 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$  は、i) 配列番号 164 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、ii) 配列番号 165 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および iii) 配列番号 166 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、 $V_H$  は、i) 配列番号 167 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、ii) 配列番号 168 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および iii) 配列番号 169 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$  は、i) 配列番号 170 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、ii) 配列番号 171 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および iii) 配列番号 172 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表 2 に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表 2 に示される「好ましい置換」に限定される。

【0218】

いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗CD93抗体に由来するヒト化抗体であり、V<sub>H</sub>は、i）配列番号161のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii）配列番号162のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii）配列番号163のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、V<sub>L</sub>は、i）配列番号164のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii）配列番号165のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii）配列番号166のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

【0219】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号173に示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号174に示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

【0220】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号173のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号174のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0221】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域（V<sub>H</sub>-2）および第二の軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>-2）を含む抗体または抗体断片と競合し、該V<sub>H</sub>-2は、配列番号177のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号178のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号179のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該V<sub>L</sub>-2は、配列番号180または353のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号181または354のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号182のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

【0222】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i）配列番号177のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii）配列番号178のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii）配列番号179のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i）配列番号180または353のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii）配列番号181または354のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii）配列番号182のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i）配列番号177のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii）配列番号178のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii）配列番号179のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、V<sub>L</sub>は、i）配列番号180のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii）配列番号181のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii）配列番号182のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i）配列番号183のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii）配列番号184のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii）配列番号185のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i）配列番号186のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii）配列番号187のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii）配列番号188のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸

置換は、本出願の表 2 に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表 2 に示される「好ましい置換」に限定される。

【0223】

いくつかの実施形態では、抗 CD93 抗体部分は、重鎖可変領域 (V<sub>H</sub>) および軽鎖可変領域 (V<sub>L</sub>) を含む抗 CD93 抗体に由来するヒト化抗体であり、V<sub>H</sub> は、i) 配列番号 177 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、ii) 配列番号 178 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および iii) 配列番号 179 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、V<sub>L</sub> は、i) 配列番号 180 または 353 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、ii) 配列番号 181 または 354 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および iii) 配列番号 182 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む。

10

【0224】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号 189 および 347~349 のいずれかに示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2 および HC-CDR3、ならびに配列番号 190、および 350~352 のいずれかに示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2 および LC-CDR3 を含む。

【0225】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub> は、配列番号 189 および 347~349 のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub> は、配列番号 190 および 350~352 のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

20

【0226】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub> は、配列番号 189 のアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub> は、配列番号 190 のアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

30

【0227】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub> は、配列番号 347 のアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub> は、配列番号 350 のアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0228】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub> は、配列番号 347 のアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub> は、配列番号 351 のアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

40

【0229】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub> は、配列番号 347 のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含

50

む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号352のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0230】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号348のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号350のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

10

【0231】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号348のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号351のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0232】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号348のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号352のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

20

【0233】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号349のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号350のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

30

【0234】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号349のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号351のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0235】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号349のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号352のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

40

【0236】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、重鎖可変領域（ $V_H$ ）および軽鎖可変領域（ $V_L$ ）を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域（ $V_{H-2}$ ）および第二の軽鎖可変領域（ $V_{L-2}$ ）を含む抗体ま

50

たは抗体断片と競合し、該  $V_H-2$  は、配列番号 193 のアミノ酸配列を含む  $HC-CDR1$ 、配列番号 194 のアミノ酸配列を含む  $HC-CDR2$ 、および配列番号 195 のアミノ酸配列を含む  $HC-CDR3$  を含み、該  $V_L-2$  は、配列番号 196 のアミノ酸配列を含む  $LC-CDR1$ 、配列番号 197 のアミノ酸配列を含む  $LC-CDR2$ 、および配列番号 198 のアミノ酸配列を含む  $LC-CDR3$  を含む。

【0237】

いくつかの実施形態では、 $V_H$  は、i) 配列番号 193 のアミノ酸配列を含む  $HC-CDR1$ 、ii) 配列番号 194 のアミノ酸配列を含む  $HC-CDR2$ 、および iii) 配列番号 195 のアミノ酸配列を含む  $HC-CDR3$ 、または  $HC-CDR$  中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$  は、i) 配列番号 196 のアミノ酸配列を含む  $LC-CDR1$ 、ii) 配列番号 197 のアミノ酸配列を含む  $LC-CDR2$ 、および iii) 配列番号 198 のアミノ酸配列を含む  $LC-CDR3$ 、または  $LC-CDR$  中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、 $V_H$  は、i) 配列番号 199 のアミノ酸配列を含む  $HC-CDR1$ 、ii) 配列番号 200 のアミノ酸配列を含む  $HC-CDR2$ 、および iii) 配列番号 201 のアミノ酸配列を含む  $HC-CDR3$ 、または  $HC-CDR$  中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$  は、i) 配列番号 202 のアミノ酸配列を含む  $LC-CDR1$ 、ii) 配列番号 203 のアミノ酸配列を含む  $LC-CDR2$ 、および iii) 配列番号 204 のアミノ酸配列を含む  $LC-CDR3$ 、または  $LC-CDR$  中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表 2 に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表 2 に示される「好ましい置換」に限定される。

【0238】

いくつかの実施形態では、抗 CD93 抗体部分は、重鎖可変領域 ( $V_H$ ) および軽鎖可変領域 ( $V_L$ ) を含む抗 CD93 抗体に由来するヒト化抗体であり、 $V_H$  は、i) 配列番号 193 のアミノ酸配列を含む  $HC-CDR1$ 、ii) 配列番号 194 のアミノ酸配列を含む  $HC-CDR2$ 、および iii) 配列番号 195 のアミノ酸配列を含む  $HC-CDR3$  を含み、 $V_L$  は、i) 配列番号 196 のアミノ酸配列を含む  $LC-CDR1$ 、ii) 配列番号 197 のアミノ酸配列を含む  $LC-CDR2$ 、および iii) 配列番号 198 のアミノ酸配列を含む  $LC-CDR3$  を含む。

【0239】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号 205 に示される配列を有する  $V_H$  鎖領域内に  $CDR1$ 、 $CDR2$  および  $CDR3$  のアミノ酸配列をそれぞれ含む  $HC-CDR1$ 、 $HC-CDR2$  および  $HC-CDR3$ 、ならびに配列番号 206 に示される配列を有する  $V_L$  鎖領域内に  $CDR1$ 、 $CDR2$  および  $CDR3$  のアミノ酸配列をそれぞれ含む  $LC-CDR1$ 、 $LC-CDR2$  および  $LC-CDR3$  を含む。

【0240】

いくつかの実施形態では、 $V_H$  は、配列番号 205 のアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$  は、配列番号 206 のアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0241】

いくつかの実施形態では、抗 CD93 構築物は、重鎖可変領域 ( $V_H$ ) および軽鎖可変領域 ( $V_L$ ) を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93 の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域 ( $V_H-2$ ) および第二の軽鎖可変領域 ( $V_L-2$ ) を含む抗体または抗体断片と競合し、該  $V_H-2$  は、配列番号 209 のアミノ酸配列を含む  $HC-CDR1$ 、配列番号 210 のアミノ酸配列を含む  $HC-CDR2$ 、および配列番号 211 のア

ミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該VL-2は、配列番号212のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号213のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号214のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

【0242】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号209のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号210のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号211のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号212のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号213のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号214のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号215のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号216のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号217のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号218のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号219のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号220のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

【0243】

いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、重鎖可変領域(V<sub>H</sub>)および軽鎖可変領域(V<sub>L</sub>)を含む抗CD93抗体に由来するヒト化抗体であり、V<sub>H</sub>は、i) 配列番号209のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号210のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号211のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、V<sub>L</sub>は、i) 配列番号212のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号213のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号214のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

【0244】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号221に示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号222に示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

【0245】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号221のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号222のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0246】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、重鎖可変領域(V<sub>H</sub>)および軽鎖可変領域(V<sub>L</sub>)を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域(V<sub>H</sub>-2)および第二の軽鎖可変領域(V<sub>L</sub>-2)を含む抗体または抗体断片と競合し、該V<sub>H</sub>-2は、配列番号289のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号290のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号291のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該V<sub>L</sub>-2は、配列番号292のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号293のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配

列番号 294 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む。

【0247】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub> は、i) 配列番号 289 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、ii) 配列番号 290 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および iii) 配列番号 291 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub> は、i) 配列番号 292 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、ii) 配列番号 293 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および iii) 配列番号 294 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub> は、i) 配列番号 295 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、ii) 配列番号 296 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および iii) 配列番号 297 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub> は、i) 配列番号 298 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、ii) 配列番号 299 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および iii) 配列番号 300 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表 2 に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表 2 に示される「好ましい置換」に限定される。

10

【0248】

いくつかの実施形態では、抗 CD93 抗体部分は、重鎖可変領域 (V<sub>H</sub>) および軽鎖可変領域 (V<sub>L</sub>) を含む抗 CD93 抗体に由来するヒト化抗体であり、V<sub>H</sub> は、i) 配列番号 289 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、ii) 配列番号 290 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および iii) 配列番号 291 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、V<sub>L</sub> は、i) 配列番号 292 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、ii) 配列番号 293 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および iii) 配列番号 294 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む。

20

【0249】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号 287 および 319~321 のいずれかに示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2 および HC-CDR3、ならびに配列番号 288、および 322~324 のいずれかに示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2 および LC-CDR3 を含む。

30

【0250】

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub> は、配列番号 287 および 319~321 のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub> は、配列番号 288 および 322~324 のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

40

【0251】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号 287、および 319~321 のいずれかに示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2 および HC-CDR3、ならびに配列番号 288、および 322~324 のいずれかに示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2 および LC-CDR3 を含む。

【0252】

50

10

## 20

30

## 40

50

## 50

## 50

## 50

## 50

**【 0 2 5 9 】**

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号321のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号322のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

#### 【0260】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号321のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号323のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

#### 【0261】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号321のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号324のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

#### 【0262】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、重鎖可変領域（ $V_H$ ）および軽鎖可変領域（ $V_L$ ）を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域（ $V_{H-2}$ ）および第二の軽鎖可変領域（ $V_{L-2}$ ）を含む抗体または抗体断片と競合し、該 $V_{H-2}$ は、配列番号17または304のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号18または305のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号19のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該 $V_{L-2}$ は、配列番号20、301、302、303、または306のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号21のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

#### 【0263】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、i) 配列番号17または304のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号18または305のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号19のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$ は、i) 配列番号20、301、302、303、または306のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号21のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号22のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

#### 【0264】

いくつかの実施形態では、抗CD93  $V_H$ は、i) 配列番号17のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号18のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号19のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、抗CD93  $V_L$ は、i) 配列番号20のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号21のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号22のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

#### 【0265】

10

20

30

40

50

**【 0 2 6 6 】**

10

【 0 2 6 7 】

20

**【 0 2 6 8 】**

30

**【 0 2 6 9 】**

40

【 0 2 7 0 】

**【 0 2 7 1 】**

50

【 0 2 7 2 】

いくつかの実施形態では、抗CD93 V<sub>H</sub>は、i) 配列番号304のアミノ酸配列を

含むHC-CDR1、ii)配列番号305のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号19のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、抗CD93 VLは、i)配列番号303のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号21のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号22のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

【0273】

いくつかの実施形態では、抗CD93 VHは、i)配列番号304のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号305のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号19のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、抗CD93 VLは、i)配列番号306のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号21のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号22のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

10

【0274】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、配列番号29、および307~312のいずれかに示される配列を有するVH鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号30、および313~318のいずれかに示される配列を有するVL鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

【0275】

20

いくつかの実施形態では、VHは、配列番号307~312のいずれか1つのアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；VLは、配列番号313~318のいずれか1つのアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0276】

いくつかの実施形態では、VHは、配列番号307のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；VLは、配列番号313のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

30

【0277】

いくつかの実施形態では、VHは、配列番号307のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；VLは、配列番号314のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

40

【0278】

いくつかの実施形態では、VHは、配列番号307のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；VLは、配列番号315のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0279】

いくつかの実施形態では、VHは、配列番号307のアミノ酸配列、または少なくとも

50

**【 0 2 8 0 】**

10

【 0 2 8 1 】

20

**【 0 2 8 2 】**

30

**【 0 2 8 3 】**

40

**【 0 2 8 4 】**

**【 0 2 8 5 】**

50

**【 0 2 8 6 】**

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号308のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、9

**【 0 2 8 7 】**

10

**【 0 2 8 8 】**

**【 0 2 8 9 】**

20

**【 0 2 9 0 】**

30

**【 0 2 9 1 】**

**【 0 2 9 2 】**

40

**【 0 2 9 3 】**

50

10

## 20

30

## 40

50

## 50

50

## 50

50

## 50

50

## 50

50

## 50

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号311のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号313のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少

**【 0 3 0 1 】**

**【 0 3 0 2 】**

【 0 3 0 3 】

【 0 3 0 4 】

【 0 3 0 5 】

**【 0 3 0 6 】**

**【 0 3 0 7 】**

いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号312のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号314のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%の

50

いずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0308】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号312のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号315のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0309】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号312のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号316のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0310】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号312のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号317のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0311】

いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号312のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号318のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0312】

いくつかの実施形態では、抗体部分は重鎖可変領域( $V_H$ )および軽鎖可変領域( $V_L$ )を含み、 $V_H$ は、i)配列番号33のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)アミノ酸配列RIFPGDGD $X_1X_2YX_3GKFKG$ (配列番号233)を含むHC-CDR2(式中、 $X_1X_2$ はANまたはTDであり、および/または $X_3$ はNまたはDである)、およびiii)TGAA $YX_1FDPFPY$ (配列番号234)のアミノ酸配列を含むHC-CDR3(式中、 $X_1$ はDまたはEである)を含み； $V_L$ は、i)アミノ酸配列SS $X_1KSLLSX_2GX_3TYLY$ (配列番号235)を含むLC-CDR1(式中、 $X_1$ はSまたはTであり、 $X_2$ はNまたはSであり、および/または $X_3$ はVまたはIである)、ii)配列番号37のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号38のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

【0313】

いくつかの実施形態では、抗体部分は重鎖可変領域( $V_H$ )および軽鎖可変領域( $V_L$ )を含み、 $V_H$ は、i)アミノ酸配列 $X_1YWX_2N$ (配列番号236)を含むHC-CDR1(式中、 $X_1$ はSまたはTであり、および/または $X_2$ はLまたはMである)、ii)アミノ酸配列R $IX_1PGDGDXX_3YX_4GKFKG$ (配列番号237)を含むHC-CDR2(式中、 $X_1$ はYまたはFであり、 $X_2X_3$ はTDまたはANであり、および/または $X_4$ はNまたはDである)、およびiii)配列番号35、163および179からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み； $V_L$ は、i)  $X_1X_2X_3KSLLSX_4GX_5TYLY$ (配列番号238)のアミノ酸配列を含むLC-CDR1(式中、 $X_1X_2X_3$ はSSS、SST、またはRFSであり、 $X_4$ は

10

20

30

40

50

N または S であり、および／または  $X_5 = V$  または I である)、i i) アミノ酸配列  $X_1$  M S N L A S (配列番号 239) を含む L C - C D R 2 (式中、 $X_1$  は R または Q である)、および i i i) アミノ酸配列 A Q  $X_1$  L E  $X_2$  P  $X_3$  T (配列番号 240) を含む L C - C D R 3 (式中、 $X_1$  は M または N であり、 $X_2$  は R または L であり、および／または  $X_3$  は F または W である) を含む。いくつかの実施形態では、L C - C D R 3 は、配列番号 38、166 および 182 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

#### 【0314】

いくつかの実施形態では、抗体部分は重鎖可変領域 ( $V_H$ ) および軽鎖可変領域 ( $V_L$ ) を含み、 $V_H$  は、i) アミノ酸配列  $X_1$  Y V  $X_2$  H (配列番号 241) を含む H C - C D R 1 (式中、 $X_1$  は A または S であり、および／または  $X_2$  は M または I である)、i i) アミノ酸配列 Y I  $X_1$  P Y  $X_2$  D  $X_3$  T  $X_4$  Y N E K F K G (配列番号 242) を含む H C - C D R 2 (式中、 $X_1$  は F または N であり、 $X_2$  は N または S であり、 $X_3$  は G または Y であり、および／または  $X_4$  は E または Q である)、および i i i) アミノ酸配列 R  $X_1$  D G N P Y  $X_2$  M D Y (配列番号 243) を含む H C - C D R 3 (式中、 $X_1$  は T または A であり、および／または  $X_2$  は T または A である) を含み； $V_L$  は、i) K A S Q D V S T A V  $X_1$  (配列番号 244) のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1 (式中、 $X_1$  は A または V である)、i i) 配列番号 117 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および i i i) 配列番号 118 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3 を含む。いくつかの実施形態では、L C - C D R 3 は、配列番号 115 または 221 に示されるアミノ酸配列を含む。

#### 【0315】

いくつかの実施形態では、抗体部分は重鎖可変領域 ( $V_H$ ) および軽鎖可変領域 ( $V_L$ ) を含み、 $V_H$  は、i) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、i i) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または H C - C D R 中に最大 5、4、3、2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み； $V_L$  は、i) K A S Q  $X_1$  V  $X_2$  T  $X_3$  V  $X_4$  (配列番号 245) のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1 (式中、 $X_1$  は N または D であり、 $X_2$  は G または S であり、 $X_3$  は N または A であり、および／または  $X_4$  は A または V である)、i i) S A S Y R  $X_1$   $X_2$  (配列番号 246) のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2 (式中、a)  $X_1$  は F もしくは Y であり  $X_2$  は I もしくは T であるか、または b)  $X_1$   $X_2$  は F I または Y T である)、i i i) アミノ酸配列 Q Q  $X_1$   $X_2$   $X_3$   $X_4$  P  $X_5$  T (配列番号 247) を含む L C - C D R 3 (式中、 $X_1$   $X_2$   $X_3$   $X_4$  は Y N R N または H Y S T であり、および／または  $X_5$  は I または F である) を含む。いくつかの実施形態では、L C - C D R 3 は、配列番号 6、118 または 214 に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、L C - C D R 3 は、配列番号 6 に示されるアミノ酸配列を含む。

#### 【0316】

いくつかの実施形態では、抗体部分は重鎖可変領域 ( $V_H$ ) および軽鎖可変領域 ( $V_L$ ) を含み、 $V_H$  は、i) 配列番号 113 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、i i) 配列番号 114 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および i i i) 配列番号 115 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または H C - C D R 中に最大 5、4、3、2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み； $V_L$  は、i) K A S Q  $X_1$  V  $X_2$  T  $X_3$  V  $X_4$  (配列番号 245) のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1 (式中、 $X_1$  は N または D であり、 $X_2$  は G または S であり、 $X_3$  は N または A であり、および／または  $X_4$  は A または V である)、i i) S A S Y R  $X_1$   $X_2$  (配列番号 246) のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2 (式中、a)  $X_1$  は F もしくは Y であり  $X_2$  は I もしくは T であるか、または b)  $X_1$   $X_2$  は F I または Y T である)、i i i) アミノ酸配列 Q Q  $X_1$   $X_2$   $X_3$   $X_4$  P  $X_5$  T (配列番号 247) を含む L C - C D R 3 (式中、 $X_1$   $X_2$   $X_3$   $X_4$  は Y N R N または H Y S T であり、および／または  $X_5$  は I または F である) を含む。いくつかの実施形態では、L C - C D R 3 は、配列番号 6、118 または 214 に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、L C - C D R 3 は、配列番号 118 に示されるアミ

ノ酸配列を含む。

【0317】

いくつかの実施形態では、抗体部分は重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含み、V<sub>H</sub>は、i）配列番号209のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii）配列番号210のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii）配列番号211のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；V<sub>L</sub>は、i）KASQX<sub>1</sub>VX<sub>2</sub>TX<sub>3</sub>VX<sub>4</sub>（配列番号245）のアミノ酸配列を含むLC-CDR1（式中、X<sub>1</sub>はNまたはDであり、X<sub>2</sub>はGまたはSであり、X<sub>3</sub>はNまたはAであり、および／またはX<sub>4</sub>はAまたはVである）、ii）SASYRX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>（配列番号246）のアミノ酸配列を含むLC-CDR2（式中、a）X<sub>1</sub>はFもしくはYでありX<sub>2</sub>はIもしくはTであるか、またはb）X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>はFIまたはYTである）、iii）アミノ酸配列QQX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>PX<sub>5</sub>T（配列番号247）を含むLC-CDR3（式中、X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>はYNRNまたはHYSTであり、および／またはX<sub>5</sub>はIまたはFである）を含む。いくつかの実施形態では、LC-CDR3は、配列番号6、118または214に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、LC-CDR3は、配列番号214に示されるアミノ酸配列を含む。

10

【0318】

いくつかの実施形態では、抗体部分は重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含み、V<sub>H</sub>は、i）配列番号17のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii）配列番号18のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii）配列番号19のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；V<sub>L</sub>は、i）X<sub>1</sub>ASQSVX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>SYM<sub>7</sub>（配列番号248）のアミノ酸配列を含むLC-CDR1（式中、X<sub>1</sub>はKまたはRであり、X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>はDYAGDまたはSTSSYであり、および／またはX<sub>7</sub>はNまたはHである）、ii）X<sub>1</sub>ASNLES（配列番号249）のアミノ酸配列を含むLC-CDR2（式中、X<sub>1</sub>はAまたはYである）、およびiii）アミノ酸配列QX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>PX<sub>6</sub>T（配列番号250）を含むLC-CDR3（式中、X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>はQTNE DまたはHSWEIであり、および／またはX<sub>6</sub>はRまたはFである）を含む。いくつかの実施形態では、LC-CDR3は配列番号22または54に記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、LC-CDR3は、配列番号22に示されるアミノ酸配列を含む。

20

30

【0319】

いくつかの実施形態では、抗体部分は重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含み、V<sub>H</sub>は、i）配列番号49のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii）配列番号50のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii）配列番号51のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；V<sub>L</sub>は、i）X<sub>1</sub>ASQSVX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>SYM<sub>7</sub>（配列番号248）のアミノ酸配列を含むLC-CDR1（式中、X<sub>1</sub>はKまたはRであり、X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>はDYAGDまたはSTSSYであり、および／またはX<sub>7</sub>はNまたはHである）、ii）X<sub>1</sub>ASNLES（配列番号249）のアミノ酸配列を含むLC-CDR2（式中、X<sub>1</sub>はAまたはYである）、およびiii）アミノ酸配列QX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>PX<sub>6</sub>T（配列番号250）を含むLC-CDR3（式中、X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>はQTNE DまたはHSWEIであり、および／またはX<sub>6</sub>はRまたはFである）を含む。いくつかの実施形態では、LC-CDR3は配列番号22または54に記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、LC-CDR3は、配列番号54に示されるアミノ酸配列を含む。

40

【0320】

いくつかの実施形態では、構築物は、抗体部分は、全長抗体、二重特異性抗体、一本鎖F<sub>v</sub>（scF<sub>v</sub>）フラグメント、Fabフラグメント、Fab'フラグメント、F（ab'，

50

） 2、Fvフラグメント、ジスルフィド安定化Fvフラグメント（dsFv）、（dsFv）<sub>2</sub>、V<sub>H</sub>H、Fv-Fc融合物、scFv-Fc融合物、scFv-Fv融合物、ダイアボディ、トリボディ、およびテトラボディからなる群より選択される抗体またはその抗原結合フラグメントを含むか、またはそれらである。

【0321】

いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は全長抗体である。

【0322】

いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分はscFvである。

【0323】

いくつかの実施形態では、上記の抗CD93抗体部分は、IgG、IgA、IgD、IgE、IgM、ならびにそれらの組み合わせおよびハイブリッドからなる群より選択される免疫グロブリンのFcフラグメントを含む。いくつかの実施形態では、上記の抗CD93抗体部分または全長抗体は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、ならびにそれらの組み合わせおよびハイブリッドからなる群より選択される免疫グロブリンのFcフラグメントを含む。いくつかの実施形態では、Fcフラグメントは、対応する野生型Fcフラグメントと比較して低下したエフェクター機能を有する。いくつかの実施形態では、Fcフラグメントは、対応する野生型Fcフラグメントと比較して増強されたエフェクター機能を有する。いくつかの実施形態では、Fcフラグメントは、対応する野生型Fcフラグメントと比較して血清半減期が増加するように変更されている。いくつかの実施形態では、Fcフラグメントは、対応する野生型Fcフラグメントと比較して血清半減期が低下するように変更されている。

【0324】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、本明細書に記載の抗体部分のいずれかのヒト化抗体を含む。

【0325】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、抗CD93融合タンパク質を含むか、または抗CD93融合タンパク質である。

【0326】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、多重特異性抗CD93構築物（二重特異性抗体など）を含むか、または多重特異性抗CD93構築物である。

【0327】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、抗CD93免疫コンジュゲートを含むか、または抗CD93免疫コンジュゲートである。

【0328】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、CD93およびIGFBP7の結合を遮断する。いくつかの実施形態では、IGFBP7はヒトIGFBP7である。いくつかの実施形態では、IGFBP7へのCD93の結合は、抗CD93抗体とCD93またはCD93発現細胞とのプレインキュベーション後に、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%またはそれよりも多く遮断される。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体およびCD93の用量は、約1:10、1:6、1:3、1:1.5、1:1、4:3、2:1または5:1の比である。いくつかの実施形態では、CD93のIGFBP7への結合は、約50μg/ml、25μg/ml、10μg/ml、5μg/ml、2μg/ml、1μg/ml、0.8μg/ml、0.6μg/mlまたは0.4μg/mlの濃度での抗CD93抗体のプレインキュベーション後に、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%またはそれよりも多く遮断される。

【0329】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、CD93およびMMRN2の結合を遮断する。いくつかの実施形態では、MMRN2はヒトMMRN2である。いくつかの実施形態では、MMRN2はMMRN2<sup>495-674</sup>フラグメントである。いくつかの実施

10

20

30

40

50

形態では、MMRN2へのCD93の結合は、抗CD93抗体とCD93またはCD93発現細胞とのプレインキュベーション後に、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%またはそれよりも多く遮断される。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、CD93およびMMRN2の結合を遮断しない。

【0330】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、IGFBP7およびMMRN2の両方へのCD93の結合を遮断する。

【0331】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、CD93とIGFBP7との間の相互作用を遮断しない。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、CD93とMMRN2との間の相互作用を遮断しない。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、IGFBP7またはMMRN2のいずれかの間の相互作用を遮断しない。

10

【0332】

いくつかの実施形態では、CD93はヒトCD93である。

【0333】

a) 抗体親和性

抗体部分の結合特異性は、当技術分野で公知の方法によって実験的に決定することができる。そのような方法は、ウエスタンブロット、ELISA-、RIA-、ECL-、IRMA-、EIA-、BLI、BIACORE（商標）-試験、フローサイトメトリーおよびペプチドスキャンを含むが、これらに限定されない。

20

【0334】

いくつかの実施形態では、抗体部分とCD93との結合の $K_D$ は、約 $10^{-7}$  M~約 $10^{-12}$  M、約 $10^{-7}$  M~約 $10^{-8}$  M、約 $10^{-8}$  M~約 $10^{-9}$  M、約 $10^{-9}$  M~約 $10^{-10}$  M、約 $10^{-10}$  M~約 $10^{-11}$  M、約 $10^{-11}$  M~約 $10^{-12}$  M、約 $10^{-7}$  M~約 $10^{-12}$  M、約 $10^{-8}$  M~約 $10^{-12}$  M、約 $10^{-9}$  M~約 $10^{-12}$  M、約 $10^{-10}$  M~約 $10^{-12}$  M、約 $10^{-7}$  M~約 $10^{-11}$  M、約 $10^{-8}$  M~約 $10^{-11}$  M、約 $10^{-9}$  M~約 $10^{-11}$  M、約 $10^{-7}$  M~約 $10^{-10}$  M、約 $10^{-8}$  M~約 $10^{-10}$  M、または約 $10^{-7}$  M~約 $10^{-9}$  Mである。いくつかの実施形態では、抗体部分とCD93との間の結合の $K_D$ は、約 $10^{-7}$  M、 $10^{-8}$  M、 $10^{-9}$  M、 $10^{-10}$  M、 $10^{-11}$  M、または $10^{-12}$  Mのいずれか1つよりも強い。いくつかの実施形態では、CD93はヒトCD93である。

30

【0335】

いくつかの実施形態では、抗体部分とCD93との間の結合の $K_{on}$ は、約 $10^3$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ ~約 $10^8$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ 、約 $10^3$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ ~約 $10^4$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ 、約 $10^4$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ ~約 $10^5$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ 、約 $10^5$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ ~約 $10^6$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ 、約 $10^6$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ ~約 $10^7$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ 、または約 $10^7$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ ~約 $10^8$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ である。いくつかの実施形態では、抗体部分とCD93との間の結合の $K_{on}$ は、約 $10^3$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ ~約 $10^5$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ 、約 $10^4$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ ~約 $10^6$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ 、約 $10^5$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ ~約 $10^7$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ 、約 $10^6$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ ~約 $10^8$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ 、約 $10^4$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ ~約 $10^7$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ 、または約 $10^5$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ ~約 $10^8$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ である。いくつかの実施形態では、抗体部分とCD93との間の結合の $K_{on}$ は、約 $10^3$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ 、 $10^4$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ 、 $10^5$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ 、 $10^6$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ 、 $10^7$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ または $10^8$  M $^{-1}$ s $^{-1}$ のいずれか1つ以下である。いくつかの実施形態では、CD93はヒトCD93である。

40

【0336】

いくつかの実施形態では、抗体部分とCD93との間の結合の $K_{off}$ は、約 $1$  s $^{-1}$ ~約 $10^{-6}$  s $^{-1}$ 、約 $1$  s $^{-1}$ ~約 $10^{-2}$  s $^{-1}$ 、約 $10^{-2}$  s $^{-1}$ ~約 $10^{-3}$  s $^{-1}$ 、約 $10^{-3}$  s $^{-1}$ ~約 $10^{-4}$  s $^{-1}$ 、約 $10^{-4}$  s $^{-1}$ ~約 $10^{-5}$

50

$s^{-1}$ 、約  $10^{-5}$   $s^{-1}$  ~ 約  $10^{-6}$   $s^{-1}$ 、約  $1 s^{-1}$  ~ 約  $10^{-5}$   $s^{-1}$ 、約  $10^{-2}$   $s^{-1}$  ~ 約  $10^{-6}$   $s^{-1}$ 、約  $10^{-3}$   $s^{-1}$  ~ 約  $10^{-6}$   $s^{-1}$ 、約  $10^{-4}$   $s^{-1}$  ~ 約  $10^{-6}$   $s^{-1}$ 、約  $10^{-2}$   $s^{-1}$  ~ 約  $10^{-5}$   $s^{-1}$ 、または約  $10^{-3}$   $s^{-1}$  ~ 約  $10^{-5}$   $s^{-1}$  である。いくつかの実施形態では、抗体部分と CD93 との間の結合の  $K_{off}$  は、少なくとも約  $1 s^{-1}$ 、 $10^{-2}$   $s^{-1}$ 、 $10^{-3}$   $s^{-1}$ 、 $10^{-4}$   $s^{-1}$ 、 $10^{-5}$   $s^{-1}$  または  $10^{-6}$   $s^{-1}$  のいずれか 1 つである。いくつかの実施形態では、CD93 はヒト CD93 である。

#### 【0337】

いくつかの実施形態では、抗 CD93 抗体部分または抗 CD93 構築物の結合親和性は、既存の抗 CD93 抗体（例えば、抗ヒト CD93 抗体、例えば、MM01）よりも高い（例えば、 $K_D$  値がより小さい）。

#### 【0338】

##### b) キメラ抗体またはヒト化抗体

いくつかの実施形態では、抗 CD93 抗体部分はキメラ抗体である。特定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第 4,816,567 号；および Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984) に記載されている。いくつかの実施形態では、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えば、マウス由来の可変領域）およびヒト定常領域を含む。いくつかの実施形態では、キメラ抗体は、クラスまたはサブクラスが親抗体のものから変更されている「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体には、その抗原結合フラグメントが含まれる。

#### 【0339】

いくつかの実施形態では、抗 CD93 抗体はヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体は、親非ヒト抗体の特異性および親和性を保持しながら、ヒトに対する免疫原性を低下させるためにヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、HVR、例えば CDR（またはその一部）が非ヒト抗体に由来し、FR（またはその一部）がヒト抗体配列に由来する 1 またはそれを超える可変ドメインを含む。ヒト化抗体は、必要に応じて、ヒト定常領域の少なくとも一部も含む。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体中のいくつかの FR 残基は、例えば、抗体の特異性または親和性を回復または改善するために、非ヒト抗体（例えば、HVR 残基が由来する抗体）からの対応する残基で置換される。

#### 【0340】

ヒト化抗体およびその作製方法は、例えば、Almagro and Franssón, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008) に概説されており、例えば以下にさらに記載されている：Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988)；Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989)；米国特許第 5,821,337 号、第 7,527,791 号、第 6,982,321 号、および第 7,087,409 号；Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005) (SDR (a-CDR) グラフトを記載)；Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991) (「リサーフェシング」を記載)；Dall'Aquila et al., Methods 36:43-60 (2005) (「FR シャッフリング」を記載)；ならびに Osbourn et al., Methods 36:61-68 (2005) および Klimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000) (FR シャッフリングに対する「ガイド選択」アプローチを記載)。

#### 【0341】

ヒト化のために使用され得るヒトフレームワーク領域としては以下が挙げられるが、これらに限定されない：「ベストフィット」法を使用して選択されたフレームワーク領域（例えば、Sims et al., J. Immunol. 151:2296 (1993) を参照）；軽鎖可変領域または重鎖可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えば、Carter et al., Proc.

10

20

30

40

50

Nat l. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); および Presta et al. J. Immunol., 151:2623 (1993) を参照); ヒト成熟 (体細胞変異) フレームワーク領域またはヒト生殖系列フレームワーク領域 (例えば、Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008) を参照); および FR ライブラリーのスクリーニングに由来するフレームワーク領域 (例えば、Baca et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997) および Rosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996) を参照)。

【0342】

マウス由来抗体のヒト化は、一般的かつ日常的に使用されている技術であることが理解される。したがって、配列表に開示される抗 CD93 抗体のいずれかおよび全てのヒト化フォーマットは、前臨床または臨床の状況で使用することができることが理解される。参照される抗 CD93 抗体またはその抗原結合領域のいずれかのヒト化フォーマットがそのような前臨床または臨床の状況で使用される場合、ヒト化フォーマットは、元の非ヒト化フォーマットと同一または類似の生物学的活性およびプロファイルを有すると予想される。

【0343】

#### c) ヒト抗体

いくつかの実施形態では、抗 CD93 抗体部分はヒト抗体 (ヒトドメイン抗体またはヒト DAb として知られている) である。ヒト抗体は、当技術分野で公知の様々な技術を使用して産生することができる。ヒト抗体は、一般に、van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5:368-74 (2001), Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459 (2008)、および Chen, Mol. Immunol. 47(4):912-21 (2010) に記載されている。完全ヒト単ドメイン抗体 (または DAb) を産生することができるトランスジェニックマウスまたはラットは、当技術分野で公知である。例えば、US 20090307787 A1、米国特許第 8,754,287 号、US 20150289489 A1、US 20100122358 A1、および WO 2004049794 を参照のこと。

【0344】

ヒト抗体 (例えば、ヒト DAb) は、抗原チャレンジに応答して、インタクトなヒト抗体またはヒト可変領域を有するインタクトな抗体を産生するように改変されたトランスジェニック動物に免疫原を投与することによって調製され得る。そのような動物は、典型的には、内因性免疫グロブリン遺伝子座を置換するか、染色体外に存在するか、または動物の染色体にランダムに組み込まれた、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部または一部を含む。そのようなトランスジェニックマウスでは、内因性免疫グロブリン遺伝子座は一般に不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の総説については、Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005) を参照のこと。例えば、米国特許第 6,075,181 号および第 6,150,584 号 (XENOMOUSE (商標) 技術を記載); 米国特許第 5,770,429 号 (HuMab (登録商標) を記載); 米国特許第 7,041,870 号 (K-M MOUSE (登録商標) を記載)、および米国特許出願番号 2007/0061900 (Velocimouse (登録商標) を記載) を参照のこと。そのような動物によって生成されたインタクトな抗体からのヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることによってさらに改変され得る。

【0345】

ヒト抗体 (例えば、ヒト DAb) もまた、ハイブリドーマに基づく方法によって作製することができる。ヒトモノクローナル抗体を産生するためのヒト骨髓腫およびマウス-ヒトヘテロミエローマ細胞株が記載されている (例えば、Kozbor J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur et al., Monoclo

nal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); および Boerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991) を参照のこと)。ヒトB細胞ハイブリドーマ技術を利用して生成されたヒト抗体もまた、Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103: 3557-3562 (2006) に記載されている。さらなる方法としては、例えば、米国特許第7, 189, 826号(ハイブリドーマ細胞株からのモノクローナルヒトIgM抗体の産生を記載) および Ni, Xiandai Mianyixue, 26(4): 265-268 (2006) (ヒト-ヒトハイブリドーマを記載) に記載されているものが挙げられる。ヒトハイブリドーマ技術(トリオーマ技術) はまた、Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3): 927-937 (2005) および Vollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3): 185-91 (2005) に記載されている。

10

20

30

40

50

【0346】

ヒト抗体(例えば、ヒトDAb)はまた、ヒト由来ファージディスプレイライブラリーから選択されるFvクローン可変ドメイン配列を単離することによって作製され得る。次いで、そのような可変ドメイン配列を所望のヒト定常ドメインと組み合わせることができる。抗体ライブラリーからヒト抗体を選択するための技術を以下に記載する。

【0347】

d) ライブラリー由来抗体

本明細書中に記載される抗CD93抗体部分は、所望の1つまたは複数の活性を有する抗体についてコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることによって単離され得る。例えば、ファージディスプレイライブラリーを作製し、所望の結合特性を有する抗体についてそのようなライブラリーをスクリーニングするための様々な方法が当技術分野で公知である。そのような方法は、例えば、HoogenboomらのMethods in Molecular Biology 178: 1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) に概説されており、さらに例えばMcCafferty et al., Nature 348: 552-554; Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248: 161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); and Lee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132 (2004) に記載されている。単ドメイン抗体ライブラリーを構築するための方法が記載されており、例えば米国特許第7371849号を参照。

【0348】

ある特定のファージディスプレイ法では、V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>遺伝子のレパートリーをポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によって別々にクローニングし、ファージライブラリーにおいてランダムに組み替え、次いでこれを、Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994) に記載されるように抗原結合ファージについてスクリーニングできる。ファージは、典型的には、scFvフラグメントまたはFabフラグメントのいずれかとして抗体フラグメントを提示する。免疫化された供給源からのライブラリーは、ハイブリドーマを構築する必要なしに免疫原に対する高親

和性抗体を提供する。あるいは、Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734 (1993)に記載されているように、免疫化を一切することなく、ナイーブレパートリーをクローニングして（例えば、ヒト由来）、広範囲の非自己抗原および自己抗原に対する単一の抗体供給源を提供することができる。最後に、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)によって記載されるように、幹細胞から再編成されていないV遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含有するPCRプライマーを使用して高度に可変性のCDR3領域をコードし、インビトロで再編成を達成することによって、ナイーブライブラリーを合成的に作製することもできる。ヒト抗体ファージライブラリーを記載する特許公報としては、例えば、米国特許第5,750,373号、ならびに米国特許出願公開第2005/0079574号、同第2005/0119455号、同第2005/0266000号、同第2007/0117126号、同第2007/0160598号、同第2007/0237764号、同第2007/0292936号および同第2009/0002360号が挙げられる。

10

【0349】

ヒト抗体ライブラリーから単離された抗体または抗体フラグメントは、本明細書ではヒト抗体またはヒト抗体フラグメントと見なされる。

【0350】

e) 置換、挿入、欠失および改変体

いくつかの実施形態では、1またはそれを超えるアミノ酸置換を有する抗体改変体が提供される。置換変異誘発のための関心部位としては、HVR（またはCDR）およびFRが挙げられる。保存的置換を「好ましい置換」という見出しの下で表2に示す。より実質的な変化は、「例示的な置換」という見出しの下で表2に提供されており、アミノ酸側鎖クラスを参照して以下にさらに記載される。アミノ酸置換を目的の抗体に導入し、その産物を、所望の活性、例えば、保持された／改善された抗原結合、低下した免疫原性、または改善されたADCCもしくはCDCについてスクリーニングすることができる。

20

30

40

50

【表 2】

表2. アミノ酸置換

| 元の残基    | 例示的な置換                           | 好ましい置換 |
|---------|----------------------------------|--------|
| Ala (A) | Val; Leu; Ile                    | Val    |
| Arg (R) | Lys; Gln; Asn                    | Lys    |
| Asn (N) | Gln; His; Asp, Lys; Arg          | Gln    |
| Asp (D) | Glu; Asn                         | Glu    |
| Cys (C) | Ser; Ala                         | Ser    |
| Gln (Q) | Asn; Glu                         | Asn    |
| Glu (E) | Asp; Gln                         | Asp    |
| Gly (G) | Ala                              | Ala    |
| His (H) | Asn; Gln; Lys; Arg               | Arg    |
| Ile (I) | Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン  | Leu    |
| Leu (L) | ノルロイシン ; Ile; Val; Met; Ala; Phe | Ile    |
| Lys (K) | Arg; Gln; Asn                    | Arg    |
| Met (M) | Leu; Phe; Ile                    | Leu    |
| Phe (F) | Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr     | Tyr    |
| Pro (P) | Ala                              | Ala    |
| Ser (S) | Thr                              | Thr    |
| Thr (T) | Val; Ser                         | Ser    |
| Trp (W) | Tyr; Phe                         | Tyr    |
| Tyr (Y) | Trp; Phe; Thr; Ser               | Phe    |
| Val (V) | Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン  | Leu    |

10

20

## 【0351】

アミノ酸は、一般的な側鎖特性に従ってグループ分けされ得る：（１）疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile；（２）中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；（３）酸性：Asp、Glu；（４）塩基性：His、Lys、Arg；（５）鎖配向に影響する残基：Gly、Pro；および（６）芳香族：Trp、Tyr、Phe。

30

## 【0352】

非保存的置換は、これらのクラスの１つのメンバーを別のクラスと交換することを伴う。

## 【0353】

１つのタイプの置換改変体は、親抗体（例えば、ヒト化抗体またはヒト抗体）の１またはそれを超える超可変領域残基を置換することを含む。一般に、さらなる研究のために選択された得られた改変体（複数可）は、親抗体と比較して特定の生物学的特性（例えば、親和性の増加、免疫原性の低下）に改変（例えば、改良）を有する、および／または親抗体の特定の生物学的特性を実質的に保持する。例示的な置換改変体は親和性成熟抗体であり、例えば、本明細書に記載されるものなどのファージディスプレイに基づく親和性成熟技術を使用して簡便に生成することができる。簡潔には、１またはそれを超えるHVR残基を変異させ、改変体抗体をファージ上に提示し、特定の生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングする。

40

## 【0354】

例えば、抗体親和性を改善するために、HVRに変更（例えば、置換）を行ってもよい。そのような変更は、HVR「ホットスポット」、すなわち体細胞成熟プロセス中に高頻度で変異を受けるコドン（例えば、Chowdhury, Methods Mol. Bi

50

ol. 207:179-196 (2008) を参照) によってコードされる残基および／または SDR (a-CDR) において行われ得、得られた改変体 V<sub>H</sub> または V<sub>L</sub> は結合親和性について試験される。二次ライブラリーを構築して再選択することによる親和性成熟は、例えば、Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)) に記載されている。親和性成熟のいくつかの実施形態では、多様性は、様々な方法（例えば、エラープロード PCR、鎖シャッフリング、またはオリゴヌクレオチド特異的変異誘発）のいずれかによって成熟のために選択された可変遺伝子に導入される。次に、二次ライブラリーが作成される。次いで、ライブラリーをスクリーニングして、所望の親和性または分子挙動を有する任意の抗体改変体を同定する。多様性を導入する別の方法は、いくつかの HVR 残基（例えば、一度に 4～6 残基）をランダム化する HVR 指向アプローチを含む。抗原結合に関与する HVR 残基は、例えばアラニンまたはヒスチジン走査変異誘発またはモデリングを使用して特異的に同定され得る。特に、HC-CDR3 および LC-CDR3 がしばしば標的化される。

10

#### 【0355】

いくつかの実施形態では、置換、挿入または欠失は、そのような変更が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低下させない限り、1 またはそれを超える HVR 内で起こり得る。例えば、結合親和性を実質的に低下させない保存的変更（例えば、本明細書で提供される保存的置換）を HVR において行うことができる。そのような変更は、HVR 「ホットスポット」または CDR の外側であり得る。

20

#### 【0356】

変異誘発の標的となり得る抗体の残基または領域を同定するための有用な方法は、Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085 に記載されている「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれる。この方法では、標的残基（例えば、Arg、Asp、His、Lys および Glu などの荷電残基）の残基または群が同定され、中性または負に荷電したアミノ酸（例えば、アラニンまたはポリアラニン）で置き換えられて、抗体と抗原との相互作用が影響を受けるかどうか決定される。さらなる置換を、最初の置換に対する機能的感受性を示すアミノ酸位置に導入することができる。あるいは、またはさらに、抗体と抗原との間の接触点を同定するための抗原-抗体複合体の結晶構造である。そのような接触残基および隣接残基は、置換の候補として標的化または排除され得る。改変体をスクリーニングして、それらが抗体の所望の特性を含むかどうかを決定することができる。

30

#### 【0357】

アミノ酸配列挿入には、1つの残基から100個またはそれを超える残基を含有するポリペプチドに及ぶ長さのアミノ末端および／またはカルボキシル末端融合、ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入が含まれる。末端挿入の例としては、N末端メチオニル残基を有する抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入改変体には、抗体の血清半減期を増加させる酵素（例えば、ADEPT 用）またはポリペプチドに対する抗体の N 末端または C 末端への融合が含まれる。

40

#### 【0358】

##### f) グリコシル化改変体

いくつかの実施形態では、抗 CD93 抗体部分は、構築物がグリコシル化される程度を増加または減少させるように変更される。抗体へのグリコシル化部位の付加または欠失は、1 またはそれを超えるグリコシル化部位が作成または除去されるようにアミノ酸配列を変更することによって都合よく達成され得る。

#### 【0359】

抗体部分が Fc 領域を含む場合、それに結合した炭水化物は変更され得る。哺乳動物細胞によって産生されるネイティブ抗体は、典型的には、Fc 領域の CH2 ドメインの Asn 297 に N 結合によって一般に結合している分岐型の二分岐オリゴ糖を含む。例えば、

50

Wright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997) を参照されたい。オリゴ糖は、様々な炭水化物、例えば、マンノース、N-アセチルグルコサミン (GlcNAc)、ガラクトースおよびシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖構造の「ステム」において GlcNAc に結合したフコースを含み得る。いくつかの実施形態では、抗体部分のオリゴ糖の修飾は、特定の改善された特性を有する抗体改変体を作製するために行われ得る。

#### 【0360】

いくつかの実施形態では、抗 CD93 抗体部分は、Fc 領域に（直接的または間接的に）結合したフコースを欠く炭水化物構造を有する。例えば、そのような抗体中のフコースの量は、1%~80%、1%~65%、5%~65% または 20%~40% であり得る。フコースの量は、例えば、国際公開第 2008/077546 号に記載されているように、MALDI-TOF 質量分析によって測定した場合の Asn297 に結合した全ての糖構造の合計（例えば、複合、ハイブリッドおよび高マンノース構造）に対する、Asn297 における糖鎖内のフコースの平均量を計算することによって決定される。Asn297 は、Fc 領域の約 297 位に位置するアスパラギン残基を指すが（Fc 領域残基の EU ナンバリング）；Asn297 はまた、抗体におけるわずかな配列変化に起因して、位置 297 の約 ±3 アミノ酸上流または下流、すなわち、位置 294 と 300 との間に位置する場合がある。そのようなフコシル化改変体は、改善された ADCC 機能を有し得る。例えば、米国特許出願公開番号 US 2003/0157108 (Presta, L.)；US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。「脱フコシル化」または「フコース欠損」抗体改変体に関連する刊行物の例としては以下が挙げられる：US 2003/0157108；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US 2004/0110282；US 2004/0109865；WO 2003/085119；WO 2003/084570；WO 2005/035586；WO 2005/035778；WO 2005/053742；WO 2002/031140；Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004)；Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87:614 (2004)。脱フコシル化抗体を産生することができる細胞株の例としては、タンパク質フコシル化が欠損した Lec13 CHO 細胞 (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986))；米国特許出願番号 US 2003/0157108 A1, Presta, L；および WO 2004/056312 A1, Adams et al.、特に実施例 11)、およびノックアウト細胞株、例えばアルファー-1, 6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、FUT8、ノックアウト CHO 細胞（例えば、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87:614 (2004)；Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006)；および WO 2003/085107) が挙げられる。

#### 【0361】

いくつかの実施形態では、抗 CD93 抗体部分は、例えば、抗体の Fc 領域に結合した二分岐オリゴ糖が GlcNAc によって二分されている、二分オリゴ糖を有する。そのような抗体改変体は、フコシル化の減少および／または ADCC 機能の改善を有し得る。そのような抗体改変体の例は、例えば WO 2003/011878 (Jean-Mairet ら)；米国特許第 6,602,684 号 (Umana ら)；および US 2005/0123546 (Umana ら) に記載されている。Fc 領域に結合したオリゴ糖中に少なくとも 1 つのガラクトース残基を有する抗体改変体も提供される。そのような抗体改変体は、改善された CDC 機能を有し得る。そのような抗体改変体は、例えば WO 1997/30087 (Patel ら)；WO 1998/58964 (Raju, S.)；お

よび WO 1999/22764 (Raju, S.) に記載されている。

【0362】

g) Fc 領域改変体

いくつかの実施形態では、抗 CD93 抗体部分は、Fc フラグメントを含む。

【0363】

「Fc 領域」、「Fc ドメイン」、「Fc フラグメント」または「Fc」という用語は、定常領域の少なくとも一部を含有する免疫グロブリン重鎖の C 末端非抗原結合領域を指す。この用語は、天然 Fc 領域および改変体 Fc 領域を含む。いくつかの実施形態では、ヒト IgG 重鎖 Fc 領域は、重鎖の Cys 226 からカルボキシル末端まで延在する。しかしながら、Fc 領域の C 末端リジン (Lys 447) は、Fc 領域の構造または安定性に影響を及ぼすことなく、存在しても存在しなくてもよい。本明細書において別段の指定がない限り、IgG または Fc 領域中のアミノ酸残基のナンバリングは、Kabata 10  
Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991 に記載されているように、EU インデックスとも呼ばれる抗体の EU ナンバリングシステムに従う。

【0364】

いくつかの実施形態では、Fc フラグメントは、IgG、IgA、IgD、IgE、IgM、およびそれらの組み合わせおよびハイブリッドからなる群より選択される免疫グロ  
ブリンに由来する。いくつかの実施形態では、Fc フラグメントは、IgG1、IgG2  
20、IgG3、IgG4、およびそれらの組み合わせおよびハイブリッドからなる群より選  
択される免疫グロブリンに由来する。

【0365】

いくつかの実施形態では、Fc フラグメントは、対応する野生型 Fc フラグメントと比較して減少したエフェクター機能（例えば、抗体依存性細胞傷害 (ADCC) のレベルによって測定して、少なくとも約 30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90% または 95% 減少したエフェクター機能）を有する。

【0366】

いくつかの実施形態では、Fc フラグメントは IgG1 Fc フラグメントである。いくつかの実施形態において、IgG1 Fc フラグメントは、L234A 変異および／または L235A 変異を含む。いくつかの実施形態では、Fc フラグメントは IgG2 または IgG4 Fc フラグメントである。いくつかの実施形態では、Fc フラグメントは、S228P、F234A および／または L235A 変異を含む IgG4 Fc フラグメントである。いくつかの実施形態では、Fc フラグメントは、N297A 変異を含む。いくつかの実施形態では、Fc フラグメントは、N297G 変異を含む。

【0367】

いくつかの実施形態では、1 またはそれを超えるアミノ酸修飾を抗体部分の Fc 領域に導入し、それによって Fc 領域改変体を生成することができる。Fc 領域改変体は、1 またはそれを超えるアミノ酸位置にアミノ酸修飾（例えば、置換）を含むヒト Fc 領域配列（例えば、ヒト IgG1、IgG2、IgG3 または IgG4 Fc 領域）を含み得る。

【0368】

いくつかの実施形態では、Fc フラグメントは、すべてではないが一部のエフェクター機能を有し、これにより、インビボでの抗体部分の半減期が重要であるが、特定のエフェクター機能（補体および ADCC など）が不要または有害である適用の望ましい候補となる。CDC および／または ADCC 活性の減少／枯渇を確認するために、インビトロおよび／またはインビボ細胞傷害アッセイを行うことができる。例えば、Fc 受容体 (FcR) 結合アッセイを実施して、抗体が FcγR 結合を欠く（したがって、おそらく ADCC 活性を欠く）が、FcRn 結合能を保持することを確実にすることができる。ADCC を媒介するための初代細胞である NK 細胞は FcγRIII のみを発現し、単球は FcγR  
50

I、FcγRIIおよびFcγRIIIを発現する。造血細胞上のFcR発現を、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991)の464頁の表2に要約する。目的の分子のADCC活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定的な例は、米国特許第5,500,362号(例えば、Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)を参照)およびHellstrom, I. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985); 5,821,337 (Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)を参照)に記載されている。あるいは、非放射性アッセイ法を使用してもよい(例えば、フローサイトメトリーのためのACTI(商標)非放射性細胞傷害アッセイ(Cell Technology, Inc. Mountain View, CA;およびCytotox 96(登録商標)非放射性細胞傷害アッセイ(Promega, Madison, WIを参照のこと)。そのようなアッセイに有用なエフェクター細胞としては、末梢血単核細胞(PBMC)およびナチュラルキラー(NK)細胞が挙げられる。代替において、または、加えて、目的とする分子のADCC活性は、インビボにおいて、例えば、Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998)に開示されるような動物モデルにおいて評価され得る。抗体がC1qに結合することができず、したがってCDC活性を欠くことを確認するために、C1q結合アッセイを行うこともできる。例えば、国際公開第2006/029879号および国際公開第2005/100402号のC1qおよびC3c結合ELISAを参照されたい。補体活性化を評価するために、CDCアッセイを実施することができる(例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg, M. S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003); およびCragg, M. S. and M. J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004)を参照のこと)。FcRn結合およびインビボでのクリアランス/半減期の決定もまた、当該分野で公知の方法を用いて行うことができる(例えば、Petkova, S. B. et al., Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)を参照のこと)。

#### 【0369】

エフェクター機能が低下した抗体には、Fc領域残基238、265、269、270、297、327および329のうちの1またはそれを超える置換がされたものが含まれる(米国特許第6,737,056号)。そのようなFc変異体には、残基265および297がアラニンに置換されたいわゆる「DANA」Fc変異体(米国特許第7,332,581号)を含む、アミノ酸位置265、269、270、297および327のうちの2つまたはそれを超える置換を有するFc変異体が含まれる。いくつかの実施形態では、Fcフラグメントは、N297A変異を含む。いくつかの実施形態では、Fcフラグメントは、N297G変異を含む。

#### 【0370】

FcRへの結合が改善または減少した一定の抗体改変体が記載されている。(例えば、米国特許第6,737,056号;国際公開第2004/056312号、およびShields et al., J. Biol. Chem. 9(2):6591-6604 (2001)を参照のこと。)

#### 【0371】

いくつかの実施形態では、FcフラグメントはIgG1 Fcフラグメントである。いくつかの実施形態において、IgG1 Fcフラグメントは、L234A変異および/またはL235A変異を含む。いくつかの実施形態において、IgG1 Fcフラグメントは、L235A変異および/またはG237A変異を含む。いくつかの実施形態では、FcフラグメントはIgG2またはIgG4 Fcフラグメントである。いくつかの実施形態では、Fcフラグメントは、S228P、F234Aおよび/またはL235A変異を

含む I g G 4 F c フラグメントである。

【0372】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、A D C C を改善する 1 またはそれを超えるアミノ酸置換、例えば F c 領域の 298、333 および／または 334 の位置の置換（残基の E U ナンバリング）を有する F c 領域を含む。

【0373】

いくつかの実施形態では、例えば、米国特許第 6, 194, 551 号、W O 99 / 51642、および I d u s o g i e e t a l . J . I m m u n o l . 164 : 4178 - 4184 (2000) に記載されるように、C1q 結合および／または補体依存性細胞傷害 (C D C) の変更（すなわち、改善または減少のいずれか）をもたらす F c 領域に変更が加えられる。

【0374】

いくつかの実施形態では、抗体部分改変体は、半減期を変更するおよび／または新生児型 F c 受容体 (F c R n) への結合を変化させる 1 またはそれを超えるアミノ酸置換を含む改変体 F c 領域を含む。半減期が増加し、母体 I g G の胎児への移行 (G u y e r e t a l . , J . I m m u n o l . 117 : 587 (1976) および K i m e t a l . , J . I m m u n o l . 24 : 249 (1994)) を担う新生児型 F c 受容体 (F c R n) への結合が改善された抗体は、U S 2005 / 0014934 A1 (H i n t o n r a) に記載されている。これらの抗体は、F c 領域の F c R n への結合を変更する 1 またはそれを超える置換を有する F c 領域を含む。そのような F c 改変体には、F c 領域残基のうちの 1 またはそれより多くに置換（例えば F c 領域残基 434 の置換）を有するものが含まれる（米国特許第 7, 371, 826 号）。

【0375】

D u n c a n & W i n t e r , N a t u r e 322 : 738 - 40 (1988) ; 米国特許第 5, 648, 260 号 ; 米国特許第 5, 624, 821 号 ; および F c 領域改変体の他の例に関する W O 94 / 29351 も参照のこと。

【0376】

#### h) システイン操作抗体改変体

いくつかの実施形態では、抗体の 1 またはそれを超える残基がシステイン残基で置換されているシステイン操作抗体部分、例えば「チオ M A b」を作製することが望ましい場合がある。特定の実施形態では、置換残基は、抗体のアクセス可能な部位に存在する。これらの残基をシステインで置換することによって、反応性チオール基はそれによって抗体のアクセス可能な部位に配置され、本明細書にさらに記載されるように、抗体を薬物部分またはリンカー-薬物部分などの他の部分にコンジュゲートして免疫コンジュゲートを作製するために使用され得る。いくつかの実施形態では、以下のいずれか 1 またはそれを超える残基がシステインで置換され得る：重鎖の A118 (E U ナンバリング) ; および重鎖 F c 領域の S400 (E U ナンバリング)。システイン操作された抗体部分は、例えば、米国特許第 7, 521, 541 号に記載されているように生成され得る。

【0377】

#### i) 抗体誘導体

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体部分は、当技術分野で公知であり、容易に入手可能なさらなる非タンパク質性部分を含むようにさらに修飾され得る。抗体の誘導体化に適した部分には、水溶性ポリマーが含まれるが、これらに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例には、ポリエチレングリコール (P E G)、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1, 3-ジオキソラン、ポリ-1, 3, 6-トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか）、およびデキストランまたはポリ (n-ビニルピロリドン) ポリエチレングリコール、プロプロピレングリコールホモポリマー、プロリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール (

10

20

30

40

50

例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール、およびそれらの混合物が含まれるが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中での安定性のために、製造において利点を有し得る。ポリマーは、任意の分子量であってもよく、分岐していても分岐していなくてもよい。抗体に結合するポリマーの数は様々であり得、1よりも多くのポリマーが結合する場合、それらは同じまたは異なる分子であり得る。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数および／または種類は、改善される抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が定義された条件下で診断に使用されるかどうかなどを含むがこれらに限定されない考慮事項に基づいて決定することができる。

#### 【0378】

いくつかの実施形態では、抗体部分は、1またはそれを超える生物学的に活性なタンパク質、ポリペプチドまたはそれらのフラグメントを含むようにさらに改変され得る。「生物活性」または「生物学的に活性」は、本明細書で互換的に使用される場合、特定の機能を実行するための体内の生物学的活性を示すことを意味する。例えば、タンパク質、DNAなどの特定の生体分子との組み合わせ、次いでそのような生体分子の活性の促進または阻害を意味し得る。いくつかの実施形態では、生物活性タンパク質またはそのフラグメントは、疾患または状態の予防または処置のために活性薬物物質として患者に投与されるタンパク質およびポリペプチド、ならびに診断目的に使用されるタンパク質およびポリペプチド、例えば診断試験またはインビトロアッセイで使用される酵素、ならびに疾患を予防するために患者に投与されるタンパク質およびポリペプチド（ワクチンなど）を含む。

#### 【0379】

多重特異性抗CD93構築物

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、本明細書に記載の抗CD93抗体部分のいずれか1つによる抗CD93抗体部分と、第二の抗原を特異的に認識する第二の結合部分（第二の抗体部分など）とを含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗CD93構築物を含む。

#### 【0380】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93分子は、抗CD93抗体部分と、第二の抗原を特異的に認識する第二の部分（第二の抗体部分など）とを含む。

#### 【0381】

いくつかの実施形態では、第二の抗原は免疫チェックポイント分子である。いくつかの実施形態では、第二の抗原はPD-1またはPD-L1である。

#### 【0382】

いくつかの実施形態では、第二の部分は、PD-1またはPD-L1の細胞外ドメイン（ECD）である。いくつかの実施形態では、第二の部分は、PD-L1トラップまたはPD-1トラップである。例えば、Nat Commun. 2018 Jun 8; 9(1): 2237を参照のこと。

#### 【0383】

いくつかの実施形態では、第二の抗原は腫瘍抗原である。

#### 【0384】

いくつかの実施形態では、第二の抗原は血管新生剤である。いくつかの実施形態では、血管新生剤はVEGF（例えば、ヒトVEGF）抗体である。いくつかの実施形態では、血管新生剤はVEGF受容体である。いくつかの実施形態では、血管新生剤はVEGFR1（例えば、ヒトVEGFR1）である。いくつかの実施形態では、血管新生剤はVEGFR2（例えば、ヒトVEGFR2）である。

#### 【0385】

いくつかの実施形態では、第二の部分は、VEGF受容体の細胞外ドメイン（ECD）を含む。いくつかの実施形態では、第二の部分は、VEGFR1および／またはVEGFR2のECDを含む。いくつかの実施形態では、第二の部分はVEGFトラップを含む。例えば、Proc Natl Acad Sci USA. 2002 Aug 20; 99(17): 11393-8を参照のこと。

10

20

30

40

50

## 【0386】

いくつかの実施形態では、第二の抗体部分および抗CD93抗体部分は、結合部分の適切な機能を可能にする任意の操作可能な形態で、本明細書に記載の任意のリンカーなどのリンカーを介して互いに融合される。いくつかの実施形態では、リンカーはGSリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、配列番号225～232および338からなる群より選択される。

## 【0387】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、a) 本明細書に記載の抗CD93抗体部分のいずれか1つによる抗CD93抗体部分；b) PD-L1を特異的に認識する第二の抗体部分（抗PD-L1抗体部分）を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗CD93構築物である。

10

## 【0388】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、a) 2つの重鎖および2つの軽鎖を含む抗CD93全長抗体であって、2つの重鎖はそれぞれ重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）を含み、2つの軽鎖はそれぞれ軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗CD93全長抗体と、b) 抗CD93全長抗体の重鎖の少なくとも一方または両方に融合した抗PD-L1抗体部分（本明細書に記載の抗体部分のいずれかなど）とを含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗CD93構築物である。いくつかの実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、両方の重鎖のN末端に融合される。いくつかの実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、両方の重鎖のC末端に融合される。

20

## 【0389】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、a) 2つの重鎖および2つの軽鎖を含む全長抗体を含む抗PD-L1抗体部分であって、2つの重鎖はそれぞれ重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）を含み、2つの軽鎖はそれぞれ軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗PD-L1抗体部分と、b) 抗PD-L1全長抗体の重鎖の少なくとも一方または両方に融合した抗CD93抗体部分（本明細書に記載の抗CD93抗体部分のいずれかなど）とを含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗CD93構築物である。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、両方の重鎖のN末端に融合される。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、両方の重鎖のC末端に融合される。

## 【0390】

30

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、a) 2つの重鎖および2つの軽鎖を含む抗CD93全長抗体であって、2つの重鎖はそれぞれ重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）を含み、2つの軽鎖はそれぞれ軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗CD93全長抗体と、b) 抗CD93全長抗体の軽鎖の少なくとも一方または両方に融合した抗PD-L1抗体部分（本明細書に記載の抗体部分のいずれかなど）とを含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗CD93構築物である。いくつかの実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、両方の軽鎖のN末端に融合される。いくつかの実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、両方の軽鎖のC末端に融合される。

## 【0391】

40

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、a) 2つの重鎖および2つの軽鎖を含む全長抗体を含む抗PD-L1抗体部分であって、2つの重鎖はそれぞれ重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）を含み、2つの軽鎖はそれぞれ軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗PD-L1抗体部分と、b) 抗PD-L1全長抗体の軽鎖の少なくとも一方または両方に融合した抗CD93抗体部分（本明細書に記載の抗体部分のいずれかなど）とを含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗CD93構築物である。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、両方の軽鎖のN末端に融合される。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、両方の軽鎖のC末端に融合される。

## 【0392】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、a) 本明細書に記載の抗CD93抗体部分のいずれか1つによる抗CD93抗体部分；b) PD-1を特異的に認識する第二の

50

抗体部分（抗PD-1抗体部分）を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗CD93構築物である。

【0393】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、a) 2つの重鎖および2つの軽鎖を含む抗CD93全長抗体であって、2つの重鎖はそれぞれ重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）を含み、2つの軽鎖はそれぞれ軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗CD93全長抗体と、b) 抗CD93全長抗体の重鎖の少なくとも一方または両方に融合した抗PD-1抗体部分（本明細書に記載の抗体部分のいずれかなど）とを含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗CD93構築物である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体部分は、両方の重鎖のN末端に融合される。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体部分は、両方の重鎖のC末端に融合される。

10

【0394】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、a) 2つの重鎖および2つの軽鎖を含む全長抗体を含む抗PD-1抗体部分であって、2つの重鎖はそれぞれ重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）を含み、2つの軽鎖はそれぞれ軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗PD-1抗体部分と、b) 抗PD-1全長抗体の重鎖の少なくとも一方または両方に融合した抗CD93抗体部分（本明細書に記載の抗CD93抗体部分のいずれかなど）とを含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗CD93構築物である。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、両方の重鎖のN末端に融合される。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、両方の重鎖のC末端に融合される。

20

【0395】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、a) 2つの重鎖および2つの軽鎖を含む抗CD93全長抗体であって、2つの重鎖はそれぞれ重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）を含み、2つの軽鎖はそれぞれ軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗CD93全長抗体と、b) 抗CD93全長抗体の軽鎖の少なくとも一方または両方に融合した抗PD-1抗体部分（本明細書に記載の抗体部分のいずれかなど）とを含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗CD93構築物である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体部分は、両方の軽鎖のN末端に融合される。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体部分は、両方の軽鎖のC末端に融合される。

【0396】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、a) 2つの重鎖および2つの軽鎖を含む全長抗体を含む抗PD-1抗体部分であって、2つの重鎖はそれぞれ重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）を含み、2つの軽鎖はそれぞれ軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗PD-1抗体部分と、b) 抗PD-1全長抗体の軽鎖の少なくとも一方または両方に融合した抗CD93抗体部分（本明細書に記載の抗体部分のいずれかなど）とを含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗CD93構築物である。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、両方の軽鎖のN末端に融合される。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、両方の軽鎖のC末端に融合される。

30

【0397】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、a) 本明細書に記載の抗CD93抗体部分のいずれか1つによる抗CD93抗体部分；b) VEGFを特異的に認識する第二の結合部分を含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗CD93構築物である。

40

【0398】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、a) 2つの重鎖および2つの軽鎖を含む抗CD93全長抗体であって、2つの重鎖はそれぞれ重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）を含み、2つの軽鎖はそれぞれ軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗CD93全長抗体と、b) 抗CD93全長抗体の重鎖の少なくとも一方または両方に融合したVEGFを特異的に認識する第二の結合部分とを含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗CD93構築物である。いくつかの実施形態では、第二の結合部分は、両方の重鎖のN末端に融合される。いくつかの実施形態では、第二の結合部分は、両方の重鎖のC末端に融合される。

50

## 【0399】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、a) 2つの重鎖および2つの軽鎖を含む全長抗体を含む抗VEGF抗体部分であって、2つの重鎖はそれぞれ重鎖可変領域(V<sub>H</sub>)を含み、2つの軽鎖はそれぞれ軽鎖可変領域(V<sub>L</sub>)を含む抗VEGF抗体部分と、b) 抗VEGF全長抗体の重鎖の少なくとも一方または両方に融合した抗CD93抗体部分(本明細書に記載の抗CD93抗体部分のいずれかなど)とを含む多重特異性(例えば、二重特異性)抗CD93構築物である。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、両方の重鎖のN末端に融合される。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、両方の重鎖のC末端に融合される。

## 【0400】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、a) 2つの重鎖および2つの軽鎖を含む抗CD93全長抗体であって、2つの重鎖はそれぞれ重鎖可変領域(V<sub>H</sub>)を含み、2つの軽鎖はそれぞれ軽鎖可変領域(V<sub>L</sub>)を含む抗CD93全長抗体と、b) 抗CD93全長抗体の軽鎖の少なくとも一方または両方に融合したVEGFを特異的に認識する第二の結合部分とを含む多重特異性(例えば、二重特異性)抗CD93構築物である。いくつかの実施形態では、第二の結合部分は、両方の軽鎖のN末端に融合される。いくつかの実施形態では、VEGFを特異的に認識する第二の結合部分は、両方の軽鎖のC末端に融合される。

## 【0401】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、a) 2つの重鎖および2つの軽鎖を含む全長抗体を含む抗VEGF抗体部分であって、2つの重鎖はそれぞれ重鎖可変領域(V<sub>H</sub>)を含み、2つの軽鎖はそれぞれ軽鎖可変領域(V<sub>L</sub>)を含む抗VEGF抗体部分と、b) 抗VEGF全長抗体の軽鎖の少なくとも一方または両方に融合した抗CD93抗体部分(本明細書に記載の抗体部分のいずれかなど)とを含む多重特異性(例えば、二重特異性)抗CD93構築物である。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、両方の軽鎖のN末端に融合される。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、両方の軽鎖のC末端に融合される。

## 【0402】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物が提供され、その抗CD93構築物は、a) 2つの重鎖と2つの軽鎖とを含む、CD93を特異的に認識する全長抗体であって、その2つの重鎖はそれぞれ、配列番号289のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号290のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号291のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含む、重鎖可変領域(V<sub>H</sub>)を含み、その2つの軽鎖はそれぞれ、配列番号292のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号293のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号294のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む、軽鎖可変領域(V<sub>L</sub>)を含む、全長抗体と、b) 配列番号325のアミノ酸配列を含むVEGF結合部分とを含み、そのVEGF結合部分は、その全長抗体の重鎖のうちの一方または両方に融合されている。いくつかの実施形態では、VEGF結合部分は、全長抗体の両方の重鎖のC末端に融合されている。いくつかの実施形態では、VEGF結合部分は、リンカーを伴わずに全長抗体に融合されている。いくつかの実施形態では、VEGF結合部分は、リンカーを介して全長抗体に融合されている。いくつかの実施形態では、リンカーは、GSリンカーであるか、または配列番号225~232および338からなる群より選択される。いくつかの実施形態では、そのリンカーは、配列番号338のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗CD93 V<sub>H</sub>は、配列番号287および配列番号319~321のいずれか1つのアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約80%(例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号288および配列番号322~324のいずれか1つのアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約80%(例えば、少なくとも約80%、少なくとも約8

10

20

30

40

50

5%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、全長抗体は、IgG1アイソタイプ(ヒトIgG1アイソタイプなど)を有する。いくつかの実施形態では、重鎖は、配列番号342のアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約80%(例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖は、配列番号343のアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約80%(例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、配列番号366に示されるアミノ酸配列を含む重鎖融合ポリペプチド、または少なくとも約80%(例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体と、配列番号367に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖、または少なくとも約80%(例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体とを含む、抗CD93構築物が提供される。

10

20

#### 【0403】

いくつかの実施形態では、抗CD93 V<sub>H</sub>は、i)配列番号1のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号2のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号3のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、抗CD93 V<sub>L</sub>は、i)配列番号4のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号5のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号6のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

30

#### 【0404】

いくつかの実施形態では、抗CD93 V<sub>H</sub>は、i)配列番号17または304のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号18または305のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号19のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、抗CD93 V<sub>L</sub>は、i)配列番号20、301、302、303、または306のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号21のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号22のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

40

#### 【0405】

いくつかの実施形態では、抗CD93 V<sub>H</sub>は、i)配列番号289のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号290のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号291のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、抗CD93 V<sub>L</sub>は、i)配列番号292のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号293のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号294のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、抗CD93 V<sub>H</sub>は、i)配列番号295のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号296のアミノ酸

50

配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号297のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、抗CD93 VLは、i)配列番号298のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号299のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号300のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

#### 【0406】

いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

#### 【0407】

例示的な抗PD-L1抗体部分

例示的な抗PD-L1抗体部分には、WO2019228514A1、WO2019227490A1およびWO2020019232A1に記載されているものが含まれるが、これらに限定されない。

#### 【0408】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物に使用される抗PD-L1抗体部分(scFvなど)は、重鎖可変領域(VH)および軽鎖可変領域(VL)を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、PD-L1の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域(VH-2)および第二の軽鎖可変領域(VL-2)を含む抗体または抗体フラグメントと競合し、該VH-2は、配列番号251のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号252のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号253のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該VL-2は、配列番号254のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号255のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号256のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

#### 【0409】

いくつかの実施形態では、抗PD-L1部分は、配列番号281、282、または283に示される配列を有するVH鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号284、285、または286に示される配列を有するVL鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

#### 【0410】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物において使用される抗PD-L1抗体部分(scFvなど)は、重鎖可変領域(VH)および軽鎖可変領域(VL)を含み、a) VHは、配列番号251のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号252のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号253のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に全部で約5、4、3、2もしくは1個までのアミノ酸置換を含むその改変体を含み；b) VLは、配列番号254のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号255のいずれか1つのアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号256のいずれか1つのアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に全部で約5、4、3、2、または1個までのアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

#### 【0411】

いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

#### 【0412】

いくつかの実施形態では、VHは、配列番号281、282、または283のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、9

10

20

30

40

50

5 %、96 %、97 %、98 %、または99 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号284、285または286のアミノ酸配列、または少なくとも約80 % (例えば、少なくとも約80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または99 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号281のアミノ酸配列、または少なくとも約80 % (例えば、少なくとも約80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または99 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号284のアミノ酸配列、または少なくとも約80 % (例えば、少なくとも約80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または99 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号282のアミノ酸配列、または少なくとも約80 % (例えば、少なくとも約80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または99 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号285のアミノ酸配列、または少なくとも約80 % (例えば、少なくとも約80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または99 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号283のアミノ酸配列、または少なくとも約80 % (例えば、少なくとも約80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または99 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号286のアミノ酸配列、または少なくとも約80 % (例えば、少なくとも約80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または99 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

10

20

#### 【0413】

いくつかの実施形態では、第二の抗体部分および抗CD93抗体部分は、結合部分の適切な機能を可能にする任意の操作可能な形態で、本明細書に記載の任意のリンカーなどのリンカーを介して互いに融合される。

#### 【0414】

例示的な抗PD-1抗体部分

例示的な抗PD-1抗体部分としては、WO2018133842およびWO2018133837に記載されているものが挙げられるが、これらに限定されない。

30

#### 【0415】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物に使用される抗PD-1抗体部分(scfvなど)は、重鎖可変領域(V<sub>H</sub>)および軽鎖可変領域(V<sub>L</sub>)を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、PD-1の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域(V<sub>H</sub>-2)および第二の軽鎖可変領域(V<sub>L</sub>-2)を含む抗体または抗体フラグメントと競合し、該V<sub>H</sub>-2は、配列番号257のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号258のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号259のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該V<sub>L</sub>-2は、配列番号260のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号261のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号262のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

40

#### 【0416】

いくつかの実施形態では、抗PD-1部分は、配列番号275に示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号276に示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

#### 【0417】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物において使用される抗PD-1抗体部分(scfvなど)は、重鎖可変領域(V<sub>H</sub>)および軽鎖可変領域(V<sub>L</sub>)を含み、a) V<sub>H</sub>は、配列番号257のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号258の

50

アミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号259のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に全部で約5、4、3、2もしくは1個までのアミノ酸置換を含むその改変体を含み；b)VLは、配列番号260のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号261のいずれか1つのアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号262のいずれか1つのアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に全部で約5、4、3、2、または1個までのアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

#### 【0418】

いくつかの実施形態では、第二の抗体部分は、配列番号275に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と、配列番号276に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)とを含むマウス抗体に由来するヒト化抗体部分を含む。

#### 【0419】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物に使用される抗PD-1抗体部分(scFvなど)は、重鎖可変領域(VH)および軽鎖可変領域(VL)を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、PD-1の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域(VH-2)および第二の軽鎖可変領域(VL-2)を含む抗体または抗体フラグメントと競合し、該VH-2は、配列番号263のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号264のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号265のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該VL-2は、配列番号266のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号267のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号268のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

#### 【0420】

いくつかの実施形態では、抗PD-1部分は、配列番号277に示される配列を有するVH鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号278に示される配列を有するVL鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む。

#### 【0421】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物において使用される抗PD-1抗体部分(scFvなど)は、重鎖可変領域(VH)および軽鎖可変領域(VL)を含み、a)VHは、配列番号263のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号264のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号265のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に全部で約5、4、3、2もしくは1個までのアミノ酸置換を含むその改変体を含み；b)VLは、配列番号266のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号267のいずれか1つのアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号268のいずれか1つのアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に全部で約5、4、3、2、または1個までのアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

#### 【0422】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体部分は、配列番号277に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と、配列番号278に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)とを含むマウス抗体に由来するヒト化抗体部分を含む。

#### 【0423】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物に使用される抗PD-1抗体部分(scFvなど)は、重鎖可変領域(VH)および軽鎖可変領域(VL)を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、PD-1の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域(V

10

20

30

40

50

H-2) および第二の軽鎖可変領域 (V<sub>L</sub>-2) を含む抗体または抗体フラグメントと競合し、該 V<sub>H</sub>-2 は、配列番号 269 のアミノ酸配列を含む H<sub>C</sub>-CDR1、配列番号 270 のアミノ酸配列を含む H<sub>C</sub>-CDR2、および配列番号 271 のアミノ酸配列を含む H<sub>C</sub>-CDR3 を含み、該 V<sub>L</sub>-2 は、配列番号 272 のアミノ酸配列を含む L<sub>C</sub>-CDR1、配列番号 273 のアミノ酸配列を含む L<sub>C</sub>-CDR2、および配列番号 274 のアミノ酸配列を含む L<sub>C</sub>-CDR3 を含む。

【0424】

いくつかの実施形態では、抗 PD-1 部分は、配列番号 279 に示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む H<sub>C</sub>-CDR1、H<sub>C</sub>-CDR2 および H<sub>C</sub>-CDR3、ならびに配列番号 280 に示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む L<sub>C</sub>-CDR1、L<sub>C</sub>-CDR2 および L<sub>C</sub>-CDR3 を含む。

【0425】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗 CD93 構築物において使用される抗 PD-1 抗体部分 (s c F v など) は、重鎖可変領域 (V<sub>H</sub>) および軽鎖可変領域 (V<sub>L</sub>) を含み、a) V<sub>H</sub> は、配列番号 269 のアミノ酸配列を含む H<sub>C</sub>-CDR1、配列番号 270 のアミノ酸配列を含む H<sub>C</sub>-CDR2、および配列番号 271 のアミノ酸配列を含む H<sub>C</sub>-CDR3、または H<sub>C</sub>-CDR 中に全部で約 5、4、3、2 もしくは 1 個までのアミノ酸置換を含むその改変体を含み；b) V<sub>L</sub> は、配列番号 272 のアミノ酸配列を含む L<sub>C</sub>-CDR1、配列番号 273 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む L<sub>C</sub>-CDR2、および配列番号 274 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む L<sub>C</sub>-CDR3、または L<sub>C</sub>-CDR 中に全部で約 5、4、3、2、または 1 個までのアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表 2 に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表 2 に示される「好ましい置換」に限定される。

【0426】

いくつかの実施形態では、第二の抗体部分は、配列番号 279 に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V<sub>H</sub>) と、配列番号 280 に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V<sub>L</sub>) とを含むマウス抗体に由来するヒト化抗体部分を含む。

【0427】

いくつかの実施形態では、第二の抗体部分および抗 CD93 抗体部分は、結合部分の適切な機能を可能にする任意の操作可能な形態で、本明細書に記載の任意のリンカーなどのリンカーを介して互いに融合される。

【0428】

VEGF を特異的に認識する例示的な結合部分

VEGF を特異的に認識する例示的な結合部分には、アバスチン、ラムシルマブもしくは VEGF トラップ (アフリベルセプト)、またはその改変体もしくは機能的部分が含まれるが、これらに限定されない。

【0429】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗 CD93 構築物に使用される VEGF を特異的に認識する結合部分は、重鎖可変領域 (V<sub>H</sub>) および軽鎖可変領域 (V<sub>L</sub>) を含む抗体部分を含む抗体部分 (s c F v など) であり、V<sub>H</sub> は、配列番号 326 のアミノ酸配列を含む H<sub>C</sub>-CDR1、配列番号 327 のアミノ酸配列を含む H<sub>C</sub>-CDR2、および配列番号 328 のアミノ酸配列を含む H<sub>C</sub>-CDR3 を含み、V<sub>L</sub> は、配列番号 329 のアミノ酸配列を含む L<sub>C</sub>-CDR1、配列番号 330 のアミノ酸配列を含む L<sub>C</sub>-CDR2、および配列番号 331 のアミノ酸配列を含む L<sub>C</sub>-CDR3 を含む。

【0430】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗 CD93 構築物に使用される VEGF を特異的に認識する結合部分は、重鎖可変領域 (V<sub>H</sub>) および軽鎖可変領域 (V<sub>L</sub>) を含む抗体部分を含む抗体部分 (s c F v など) であり、V<sub>H</sub> は、配列番号 332 のアミノ酸配列を含

むHC-CDR1、配列番号333のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号334のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、VLは、配列番号335のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号336のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号337のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

【0431】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物に使用されるVEGFを特異的に認識する結合部分は、重鎖可変領域(VH)および軽鎖可変領域(VL)を含む抗体部分を含む抗体部分(scFvなど)であり、VHは、配列番号289のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号290のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号291のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、VLは、配列番号292のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号293のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号294のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。

【0432】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物に使用されるVEGFを特異的に認識する結合部分は、配列番号325のアミノ酸配列を含む。

【0433】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、多重特異性(例えば、二重特異性)抗CD93構築物であり、その多重特異性(例えば、二重特異性)抗CD93構築物は、a) 2つの重鎖と2つの軽鎖とを含む、抗CD93全長抗体であって、その2つの重鎖はそれぞれ、重鎖可変領域(VH)を含み、その2つの軽鎖はそれぞれ、軽鎖可変領域(VL)を含み、そのVHは、配列番号289のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号290のアミノ酸配列を含むHC-CDR2および配列番号291のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、そのVLは、配列番号292のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号293のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号294のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む、抗CD93全長抗体と、b) その抗CD93全長抗体の2つの重鎖のC末端に融合されている、VEGFを特異的に認識する結合部分とを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物に使用されるVEGFを特異的に認識する結合部分は、配列番号325のアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約80%(例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、配列番号366に示されるアミノ酸配列を含む重鎖融合ポリペプチド、または少なくとも約80%(例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体と、配列番号367に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖、または少なくとも約80%(例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体とを含む、抗CD93構築物が提供される。

【0434】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物は、CD93とIGFBP7との間の相互作用を遮断することができる。いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物は、CD93とIGFBP7との間の相互作用を少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%遮断することができる。

【0435】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物は、CD93とMMRN2との間の相互作用を遮断することができる。いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93

構築物は、CD93とMMRN2との間の相互作用を少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%遮断することができる。

#### 【0436】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物は、バイオレイヤー干渉法によって測定される1nM未満、約1nM、約2nM、約3nM、約4nM、約5nM、約10nM、約20nM、約30nM、約40nM、約50nM、または約50nMを超える解離定数でVEGFAに結合することができる。いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物は、バイオレイヤー干渉法によって測定される約2nMの解離定数でVEGFAに結合することができる。

10

#### 【0437】

さらなる抗CD93融合タンパク質

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、抗CD93抗体部分（例えば、抗CD93 scFv）および第二の部分を含む。

#### 【0438】

いくつかの実施形態では、第二の部分は、半減期延長部分を含む。いくつかの実施形態では、半減期延長部分は、アルブミン結合部分（例えば、アルブミン結合抗体部分）である。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分および半減期延長部分は、リンカー（「リンカー」の章に記載されるリンカーのいずれかなど）を介して連結される。

20

#### 【0439】

いくつかの実施形態では、第二の部分は、受容体の細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態では、第二の部分は、PD-1またはPD-L1の細胞外ドメイン（ECD）である。いくつかの実施形態では、第二の部分は、PD-L1トラップまたはPD-1トラップである。例えば、Nat Commun. 2018 Jun 8; 9(1): 2237を参照のこと。いくつかの実施形態では、第二の部分は、VEGF受容体の細胞外ドメイン（ECD）を含む。いくつかの実施形態では、第二の部分は、VEGFR1および／またはVEGFR2のECDを含む。いくつかの実施形態では、第二の部分はVEGFRトラップを含む。例えば、Proc Natl Acad Sci USA. 2002 Aug 20; 99(17): 11393-8を参照のこと。

30

#### 【0440】

抗CD93免疫コンジュゲート

本出願はまた、抗CD93抗体部分（本明細書に記載の任意のCD93抗体部分など）および第二の薬剤を含む抗CD93免疫コンジュゲートを提供する。いくつかの実施形態では、第二の薬剤は治療剤である。いくつかの実施形態では、第二の薬剤は標識である。

#### 【0441】

リンカー

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD93構築物は、2つの部分（例えば、上記の多重特異性構築物中の抗CD93抗体部分および半減期延長部分、抗CD93抗体部分および第二の結合部分）の間に1またはそれを超えるリンカーを含む。抗CD93構築物に使用されるリンカー（複数可）の長さ、柔軟性の程度および／または他の特性は、1またはそれを超える特定の抗原またはエピトープに対する親和性、特異性またはアビディティを含むがこれらに限定されない特性に何らかの影響を及ぼし得る。例えば、より長いリンカーは、2つの隣接するドメインが互いに立体的に干渉しないことを確実にするように選択され得る。いくつかの実施形態では、リンカー（ペプチドリンカーなど）は、隣接するドメインが互いに対して自由に動くことができるように、柔軟な残基（グリシンおよびセリンなど）を含む。例えば、グリシン-セリンダブレットは、適切なペプチドリンカーであり得る。いくつかの実施形態では、リンカーは非ペプチドリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーはペプチドリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは切断不可能なリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは切断可能

40

50

なリンカーである。

【0442】

他のリンカーの考慮事項には、得られる化合物の物理的または薬物動態学的特性、例えば溶解度、親油性、親水性、疎水性、安定性（安定性がより高いまたはより低いおよび計画された分解）、剛性、柔軟性、免疫原性、抗体結合の調節、ミセルまたはリポソームに組み込まれる能力などへの影響が含まれる。

【0443】

ペプチドリリンカー

ペプチドリリンカーは、天然に存在する配列または天然に存在しない配列を有し得る。例えば、重鎖のみの抗体のヒンジ領域に由来する配列が、リンカーとして使用され得る。例えば、WO 1996 / 34103を参照されたい。

10

【0444】

ペプチドリリンカーは、任意の適切な長さであり得る。いくつかの実施形態では、ペプチドリリンカーは、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、50、75、100またはそれを超えるアミノ酸長のいずれかである。いくつかの実施形態では、ペプチドリリンカーは、約100、75、50、40、35、30、25、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5個以下またはそれよりも少ないアミノ酸長のいずれかである。いくつかの実施形態では、ペプチドリリンカーの長さは、約1アミノ酸～約10アミノ酸、約1アミノ酸～約20アミノ酸、約1アミノ酸～約30アミノ酸、約5アミノ酸～約15アミノ酸、約10アミノ酸～約25アミノ酸、約5アミノ酸～約30アミノ酸、約10アミノ酸～約30アミノ酸長、約30アミノ酸～約50アミノ酸、約50アミノ酸～約100アミノ酸、または約1アミノ酸～約100アミノ酸のいずれかである。

20

【0445】

このようなペプチドリリンカーの本質的な技術的特徴は、前記ペプチドリリンカーがいかなる重合活性も含まないことである。二次構造の促進の非存在を含むペプチドリリンカーの特徴は当技術分野で公知であり、例えばDall'Acqua et al. (Biochem. (1998) 37, 9266-9273), Cheadle et al. (Mol Immunol (1992) 29, 21-30) およびRaag and Whitlow (FASEB (1995) 9 (1), 73-80) に記載されている。「ペプチドリリンカー」との関連における特に好ましいアミノ酸はGlyである。さらに、いかなる二次構造も促進しないペプチドリリンカーが好ましい。ドメインの互いに対する連結は、例えば、遺伝子工学によって提供することができる。融合され操作可能に連結された二重特異性一本鎖構築物を調製し、それらを哺乳動物細胞または細菌において発現させるための方法は、当技術分野で周知である（例えば、国際公開第99 / 54440号、Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N. Y. 1989 and 1994またはSambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., 2001）。

30

40

【0446】

ペプチドリリンカーは、プロテアーゼ、特にマトリックスメタロプロテイナーゼ（MMP）によって切断されない安定なリンカーであり得る。

【0447】

リンカーは、柔軟なリンカーであってもよい。例示的な柔軟なリンカーとしては、グリシンポリマー（G）<sub>n</sub>（配列番号225）、グリシン-セリンポリマー（例えば、（GS）<sub>n</sub>（配列番号226）、（GSGGS）<sub>n</sub>（配列番号227）、（GGGGS）<sub>n</sub>（配列番号228）、および（GGGS）<sub>n</sub>（配列番号229）を含み、nは少なくとも1の

50

整数である)、グリシン-アラニンポリマー、アラニン-セリンポリマー、および当技術分野で公知の他の柔軟なリンカーが挙げられる。グリシンおよびグリシン-セリンポリマーは比較的構造化されていないため、成分間の中性テザーとして機能することができる。グリシンは、アラニンよりも有意に多くの  $\phi$ - $\psi$  空間にアクセスし、より長い側鎖を有する残基よりもはるかに制限されない (Scheraaga, Rev. Computational Chem. 11 173-142 (1992) を参照のこと)。当業者は、抗体融合タンパク質の設計が、全体または部分的に柔軟であるリンカーを含むことができ、その結果、リンカーが、柔軟なリンカー部分、ならびに所望の抗体または融合タンパク質構造を提供するために柔軟性が低い構造を与える 1 またはそれを超える部分を含み得ることを認識するであろう。

10

【0448】

さらに、例示的なリンカーはまた、(GGGGS)<sub>n</sub> (配列番号 228) などのアミノ酸配列を含み、n は 1~8 の整数である (例えば、(GGGGS)<sub>3</sub> (配列番号 230; 以下「(G4S)<sub>3</sub>」または「GS3」という)、または (GGGGS)<sub>6</sub> (配列番号 231; 以下「(G4S)<sub>6</sub>」または「GS6」という)。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、(GSTSGSGKPGSGEGS)<sub>n</sub> (配列番号 232) のアミノ酸配列を含み、n は 1~3 の整数である。

【0449】

非ペプチドリンカー

2つの部分のカップリングは、両方の構成要素がそれぞれの活性、例えば、それぞれ抗 CD93 多重特異性抗体中の CD93 および第二の薬剤への結合を保持する限り、2つの分子を結合する任意の化学反応によって達成され得る。この結合は、多くの化学的機構、例えば共有結合、親和性結合、インターカレーション、配位結合および錯化を含み得る。いくつかの実施形態では、結合は共有結合である。共有結合は、既存の側鎖の直接縮合または外部架橋分子の組み込みのいずれかによって達成することができる。多くの二価または多価連結剤は、この文脈においてタンパク質分子をカップリングするのに有用であり得る。例えば、代表的なカップリング剤は、チオエステル、カルボジイミド、スクシンイミドエステル、ジイソシアネート、グルタルアルデヒド、ジアゾベンゼンおよびヘキサメチレンジアミンなどの有機化合物を含むことができる。この列挙は、当技術分野で公知の様々な種類のカップリング剤を網羅することを意図するものではなく、むしろ、より一般的なカップリング剤の例である (Killen and Lindstrom, Jour. Immun. 133:1335-2549 (1984); Jansen et al., Immunological Reviews 62:185-216 (1982); および Vitetta et al., Science 238:1098 (1987) を参照)。

20

30

【0450】

本出願において適用され得るリンカーは、文献に記載されている (例えば、MBS (マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル) の使用を記載している Ramakrishnan, S. ら、Cancer Res. 44:201-208 (1984) を参照のこと)。いくつかの実施形態では、本明細書で使用される非ペプチドリンカーとしては: (i) EDC (1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩; (ii) SMPT (4-スクシンイミジルオキシカルボニル-アルファ-メチル-アルファ-(2-ブリジル-ジチオ)-トルエン (Pierce Chem. Co., Cat. (21558G); (iii) SPDP (スクシンイミジル-6-[3-(2-ブリジルジチオ)プロピオンアミド]ヘキサノエート (Pierce Chem. Co., Cat #21651G); (iv) スルホ-LC-SPDP (スルホスクシンイミジル-6-[3-(2-ブリジルジチオ)-プロピオンアミド]ヘキサノエート (Pierce Chem. Co., Cat. #2165-G); および (v) EDC にコンジュゲートしたスルホ-NHS (N-ヒドロキシスルホスクシンイミド: Pierce Chem. Co., Cat. #24510) が挙げられる。いくつかの実施形態では、リ

40

50

ンカーはPEG含有リンカーである。

#### 【0451】

上記のリンカーは、異なる属性を有する構成要素を含み、したがって、異なる生理化学的特性を有する二重特異性抗体をもたらし得る。例えば、アルキルカルボキシレートのスルホ-NHSエステルは、芳香族カルボキシレートのスルホ-NHSエステルよりも安定である。NHSエステル含有リンカーは、スルホ-NHSエステルよりも可溶性が低い。また、リンカーSMP Tは、立体障害ジスルフィド結合を含み、安定性の高い抗体融合タンパク質を形成することができる。ジスルフィド結合はインビトロで切断されて利用可能な抗体融合タンパク質が少なくなるため、ジスルフィド結合は一般に、他の結合よりも安定性が低い。特に、スルホ-NHSは、カルボジイミド・カップリングの安定性を高めることができる。カルボジイミド・カップリング(EDCなど)は、スルホ-NHSと組み合わせると、カルボジイミド・カップリング反応単独よりも加水分解に対して耐性の高いエステルを形成する。

10

#### 【0452】

#### III. 調製方法

いくつかの実施形態では、CD93に特異的に結合する抗CD93構築物または抗体部分、および抗CD93構築物または抗体部分の調製中に産生されるポリヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、宿主細胞、または培養培地などの組成物を調製する方法が提供される。本明細書中に記載される抗CD93構築物または抗体部分または組成物は、下記において、より具体的には実施例において一般的に記載されるようないくつかのプロセスによって調製され得る。

20

#### 【0453】

#### 抗体の発現および産生

本明細書に記載される抗体(抗CD93モノクローナル抗体、抗CD93二重特異性抗体、および抗CD93抗体部分を含む)は、以下および実施例に記載されるものを含む、当技術分野における任意の公知の方法を使用して調製することができる。

#### 【0454】

#### モノクローナル抗体

モノクローナル抗体は、実質的に均一な抗体の集団から得られ、すなわち、集団を構成する個々の抗体は、少量で存在し得る天然に存在する可能性のある変異および／または翻訳後修飾(例えば、異性化、アミド化)を除いて同一である。したがって、修飾語「モノクローナル」は、別々の抗体の混合物ではないという抗体の特徴を示す。例えば、モノクローナル抗体は、Kohlerら、Nature, 256:495(1975)によって最初に記載されたハイブリドーマ法を使用して作製され得るか、または組換えDNA法(米国特許第4,816,567号)によって作製され得る。ハイブリドーマ法では、マウスまたは他の適切な宿主動物、例えばハムスターまたはラマを上記のように免疫化して、免疫化に使用したタンパク質に特異的に結合する抗体を産生するかまたは産生することができるリンパ球を誘発する。あるいは、リンパ球をインビトロで免疫化することができる。次いで、リンパ球を、ポリエチレングリコールなどの適切な融合剤を使用して骨髓腫細胞と融合させて、ハイブリドーマ細胞を形成する(Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp. 59-103 (Academic Press, 1986))。ラクダにおける免疫化については実施例1も参照されたい。

30

40

#### 【0455】

免疫化剤は、典型的には、抗原タンパク質またはその融合改変体を含む。一般に、ヒト起源の細胞が望まれる場合は末梢血リンパ球(「PBL」)が使用されるか、または、非ヒト哺乳動物供給源が望まれる場合は脾臓細胞もしくはリンパ節細胞が使用される。次いで、ポリエチレングリコールなどの適切な融合剤を使用してリンパ球を不死化細胞株と融合させて、ハイブリドーマ細胞を形成する。Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic

50

c Press (1986), pp. 59-103.

【0456】

不死化細胞株は、通常、形質転換された哺乳動物細胞、特にげっ歯類、ウシおよびヒト起源の骨髄腫細胞である。通常、ラットまたはマウス骨髄腫細胞株が使用される。このようにして調製されたハイブリドーマ細胞は、好ましくは、融合されていない親骨髄腫細胞の成長または生存を阻害する1またはそれを超える物質を含有する適切な培養培地に播種されて成長する。例えば、親骨髄腫細胞が酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (HGPRT または HPRT) を欠く場合、ハイブリドーマの培養培地には、典型的には、HGPRT 欠損細胞の成長を妨げる物質であるヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミジンが含まれる (HAT 培地)。

10

【0457】

好ましい不死化骨髄腫細胞は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定した高レベル産生を支持し、HAT 培地などの培地に感受性であるものである。これらの中でも、ネズミ骨髄腫株、例えば、MOPC-21 および MPC-11 マウス腫瘍 (Salik Institute Cell Distribution Center, San Diego, Calif. USA から入手可能)、および SP-2 細胞 (およびその誘導体、例えば X63-Ag8-653) (American Type Culture Collection, Manassas, Va. USA. から入手可能) に由来するものが好ましい。ヒト骨髄腫およびマウス-ヒトヘテロ骨髄腫細胞株もまた、ヒトモノクローナル抗体の産生について記載されている (Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987))。

20

【0458】

ハイブリドーマ細胞が成長している培養培地を、抗原に対するモノクローナル抗体の産生についてアッセイする。好ましくは、ハイブリドーマ細胞によって産生されるモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降によって、またはインビトロ結合アッセイ、例えばフローサイトメトリー、ラジオイムノアッセイ (RIA) もしくは酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) によって決定される。

30

【0459】

ハイブリドーマ細胞が培養される培養培地は、所望の抗原に対するモノクローナル抗体の存在についてアッセイすることができる。好ましくは、モノクローナル抗体の結合親和性および特異性は、免疫沈降によって、またはインビトロ結合アッセイ、例えばラジオイムノアッセイ (RIA)、酵素結合アッセイ (ELISA)、もしくは BLI によって決定することができる。そのような技術およびアッセイは、当技術分野において公知である。例えば、結合親和性は、Munson, Anal. Biochem., 107:220 (1980) の Scatchard 分析によって決定され得る。

【0460】

所望の特異性、親和性および／または活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞が同定された後、限界希釈手順によってクローンをサブクロニングし、標準的な方法 (Goding, 上記) によって成長させることができる。この目的に適した培養培地には、例えば、D-MEM または RPMI-1640 培地が含まれる。さらに、ハイブリドーマ細胞を、哺乳動物において腫瘍としてインビボで成長させることができる。

40

【0461】

サブクローンによって分泌されたモノクローナル抗体は、例えばプロテインA-セファロース、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィ、イオン交換クロマトグラフィ、ゲル電気泳動、透析、またはアフィニティークロマトグラフィなどの従来の免疫グロブリン精製手順によって培養培地、腹水、または血清から適切に分離される。

【0462】

50

モノクローナル抗体はまた、組換えDNA法、例えば米国特許第4,816,567号明細書に記載されている方法によって、上記に記載されているように作製され得る。モノクローナル抗体をコードするmRNAは、従来の手順を使用して（例えば、マウス抗体の重鎖および軽鎖をコードするcDNAに特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）容易に単離され、配列決定される。ハイブリドーマ細胞は、そのようなmRNAの好ましい供給源として働く。単離されると、cDNAは発現ベクターに入れられてもよく、発現ベクターはその後、免疫グロブリンタンパク質を産生しない大腸菌細胞、サルCOS細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞または骨髓腫細胞などの宿主細胞にトランスフェクトされ、そのような組換え宿主細胞においてモノクローナル抗体を合成する。抗体をコードするDNAの細菌における組換え発現に関する総説論文としては、Skerreraら、Curr. Opinion in Immunol., 5:256-262 (1993) およびPluckthun, Immunol. Revs. 130:151-188 (1992) が挙げられる。

10

#### 【0463】

さらなる実施形態では、McCaffertyら、Nature, 348:552-554 (1990) に記載されている技術を使用して生成された抗体ファージライブラリーから抗体を単離することができる。Clacksonら、Nature, 352:624-628 (1991) およびMarksら、J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991) には、ファージライブラリーを使用したマウス抗体およびヒト抗体の単離がそれぞれ記載されている。その後の刊行物は、鎖シャッフリングによる高親和性（nM範囲）のヒト抗体の産生（Marksら、Bio/Technology, 10:779-783 (1992)）、ならびにコンビナトリアル感染およびインビボ組換え（Waterhouseら、Nucleic Acids Res., 21:2265-2266 (1993)）を、非常に大きなファージライブラリーを構築するための戦略として記載している。したがって、これらの技術は、モノクローナル抗体を単離するための従来のモノクローナル抗体ハイブリドーマ技術の実行可能な代替法である。

20

#### 【0464】

DNAはまた、例えば、相同マウス配列の代わりにヒト重鎖定常ドメインおよび軽鎖定常ドメインのコード配列を置換することによって（米国特許第4,816,567号；Morrisonら、Proc. Natl Acad. Sci. USA, 81:6851 (1984)）、または非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列の全部または一部を免疫グロブリンコード配列に共有結合することによって改変され得る。典型的には、そのような非免疫グロブリンポリペプチドは、抗体の定常ドメインの代わりに使用されるか、または抗体の1つの抗原結合部位の変換ドメインの代わりに使用されて、抗原に対して特異性を有する1つの抗原結合部位および異なる抗原に対して特異性を有する別の抗原結合部位を含むキメラ二価抗体を作製する。

30

#### 【0465】

本明細書に記載のモノクローナル抗体は一価であってもよく、その調製は当技術分野で周知である。例えば、1つの方法は、免疫グロブリン軽鎖および改変重鎖の組換え発現を含む。重鎖は、重鎖架橋を防ぐために、一般にFc領域の任意の点でトランケートされる。あるいは、関連するシステイン残基は、架橋を防ぐために、別のアミノ酸残基で置換されていてもよく、または欠失されていてもよい。インビトロ法はまた、一価抗体を調製するのにも適している。そのフラグメント、特にFabフラグメントを産生するための抗体の消化は、当技術分野で公知の日常的な技術を用いて達成することができる。

40

#### 【0466】

キメラ抗体またはハイブリッド抗体はまた、架橋剤を含む方法を含む合成タンパク質化学における公知の方法を使用してインビトロで調製され得る。例えば、免疫毒素は、ジスルフィド交換反応を使用して、またはチオエーテル結合を形成することによって構築され得る。この目的に適した試薬の例としては、イミノチオラートおよびメチル-4-メルカプトブチルイミデートが挙げられる。

50

## 【0467】

抗体部分をコードする核酸分子

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD93構築物または抗体部分のいずれか1つをコードするポリヌクレオチドが提供される。いくつかの実施形態では、本明細書中に記載されるような方法のいずれか1つを使用して調製されるポリヌクレオチドが提供される。いくつかの実施形態では、核酸分子は、抗体部分（例えば、抗CD93抗体部分）の重鎖または軽鎖をコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、核酸分子は、抗体部分（例えば、抗CD93抗体部分）の重鎖をコードするポリヌクレオチドおよび軽鎖をコードするポリヌクレオチドの両方を含む。いくつかの実施形態では、第一の核酸分子は、重鎖をコードする第一のポリヌクレオチドを含み、第二の核酸分子は、軽鎖をコードする第二のポリヌクレオチドを含む。

10

## 【0468】

いくつかのこのような実施形態では、重鎖および軽鎖は、1つの核酸分子から、または2つの別個の核酸分子から、2つの別個のポリペプチドとして発現される。いくつかの実施形態では、例えば抗体がscFvである場合、単一ポリヌクレオチドは、共に連結された重鎖と軽鎖の両方を含む単一ポリペプチドをコードする。

## 【0469】

いくつかの実施形態では、抗体部分（例えば、抗CD93抗体部分）の重鎖または軽鎖をコードするポリヌクレオチドは、翻訳されると重鎖または軽鎖のN末端に位置するリーダー配列をコードするヌクレオチド配列を含む。上述のように、リーダー配列は、天然の重鎖または軽鎖リーダー配列であってもよく、または別の異種リーダー配列であってもよい。

20

## 【0470】

いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドはDNAである。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドはRNAである。いくつかの実施形態では、RNAはmRNAである。

## 【0471】

核酸分子は、当技術分野で従来の組換えDNA技術を使用して構築され得る。いくつかの実施形態では、核酸分子は、選択された宿主細胞における発現に適した発現ベクターである。

30

## 【0472】

核酸構築物

いくつかの実施形態では、本明細書中に記載されるポリヌクレオチドのいずれか1つを含む核酸構築物が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の任意の方法を使用して調製された核酸構築物が提供される。

## 【0473】

いくつかの実施形態では、核酸構築物は、ポリヌクレオチドに作動可能に連結されたプロモーターをさらに含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは遺伝子に対応し、プロモーターは遺伝子の野生型プロモーターである。

## 【0474】

ベクター

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体部分（例えば、抗CD93抗体部分）または本明細書に記載の核酸構築物のいずれか1つの重鎖および／または軽鎖をコードする任意のポリヌクレオチドを含むベクターが提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の任意の方法を使用して調製されたベクターが提供される。抗体、scFv、融合タンパク質または本明細書に記載される構築物の他の形態（例えば、抗CD93 scFv）などの抗CD93構築物のいずれかをコードするポリヌクレオチドを含むベクターも提供される。そのようなベクターとしては、限定されないが、DNAベクター、ファージベクター、ウイルスベクター、レトロウイルスベクターなどが挙げられる。いくつかの実施形態では、ベクターは、重鎖をコードする第一のポリヌクレオチド配列および軽鎖

40

50

をコードする第二のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖および軽鎖は、2つの別個のポリペプチドとしてベクターから発現される。いくつかの実施形態では、重鎖および軽鎖は、例えば抗体が s c F v である場合など、単一のポリペプチドの一部として発現される。

#### 【0475】

いくつかの実施形態では、第一のベクターは、重鎖をコードするポリヌクレオチドを含み、第二のベクターは、軽鎖をコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、第一のベクターおよび第二のベクターは、同様の量（同様のモル量または同様の質量など）で宿主細胞にトランスフェクトされる。いくつかの実施形態では、5：1～1：5のモル比または質量比の第一のベクターおよび第二のベクターが宿主細胞にトランスフェクトされる。いくつかの実施形態では、重鎖をコードするベクターと軽鎖をコードするベクターについて1：1～1：5の質量比が使用される。いくつかの実施形態では、重鎖をコードするベクターと軽鎖をコードするベクターについて1：2の質量比が使用される。

10

#### 【0476】

いくつかの実施形態では、CHOもしくはCHO由来細胞またはNSO細胞におけるポリペプチドの発現に最適化されたベクターが選択される。例示的なそのようなベクターは、例えば、Running Deer et al., Biotechnol. Prog. 20:880-889 (2004)に記載されている。

20

#### 【0477】

宿主細胞

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の任意のポリペプチド、核酸構築物および／またはベクターを含む宿主細胞が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の任意の方法を使用して調製された宿主細胞が提供される。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、発酵条件下で、本明細書に記載の抗体部分のいずれかを産生することができる。

#### 【0478】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体部分（例えば、抗CD93抗体部分）は、原核細胞、例えば細菌細胞；または真核細胞、例えば真菌細胞（酵母など）、植物細胞、昆虫細胞、および哺乳動物細胞で発現され得る。そのような発現は、例えば、当技術分野で公知の手順に従って行われ得る。ポリペプチドを発現するために使用され得る例示的な真核細胞には、COS7細胞を含むCOS細胞；293-6E細胞を含む293細胞；CHO細胞（CHO-S、DG44、Lec13 CHO細胞、CHOZN（登録商標）およびFUT8 CHO細胞を含む）；PER.C6（登録商標）細胞（CruCell）；およびNSO細胞が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体部分（例えば、抗CD93抗体部分）は、酵母で発現され得る。例えば、米国特許出願公開第2006/0270045号を参照されたい。いくつかの実施形態では、特定の真核宿主細胞は、抗体部分の重鎖および／または軽鎖に所望の翻訳後修飾を行う能力に基づいて選択される。例えば、いくつかの実施形態では、CHO細胞は、293細胞で産生される同じポリペプチドよりも高いレベルのシアリル化を有するポリペプチドを産生する。

30

40

#### 【0479】

所望の宿主細胞への1またはそれを超える核酸の導入は、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介トランスフェクション、カチオン性脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、感染などを含むがこれらに限定されない任意の方法によって達成され得る。非限定的な例示的方法は、例えば、Sambrookら、Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001)に記載されている。核酸は、任意の適切な方法に従って、所望の宿主細胞に一過性または安定にトランスフェクトされ得る。

50

## 【0480】

本出願はまた、本明細書中に記載されるポリヌクレオチドまたはベクターのいずれかを含む宿主細胞を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、抗CD93抗体を含む宿主細胞を提供する。目的の抗体、ポリペプチドまたはタンパク質をコードする遺伝子を単離する目的で、異種DNAを過剰発現することができる任意の宿主細胞を使用することができる。哺乳動物宿主細胞の非限定的な例には、COS、HeLaおよびCHO細胞が含まれるが、これらに限定されない。PCT公開番号WO87/04462も参照されたい。適切な非哺乳動物宿主細胞には、原核生物（例えば、E. coliまたはB. subtilis）および酵母（例えば、S. cerevisiae、S. pombe；またはK. lactis）が含まれる。

10

## 【0481】

いくつかの実施形態では、抗体部分は無細胞系で産生される。非限定的な例示的な無細胞系は、例えば、Sitaramanら、Methods Mol. Biol. 498: 229-44 (2009)；Spirin, Trends Biotechnol. 22: 538-45 (2004)；Endoら、Biotechnol. Adv. 21: 695-713 (2003)に記載されている。

## 【0482】

## 培養培地

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の任意の抗体部分、ポリヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、および／または宿主細胞を含む培養培地が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の任意の方法を使用して調製された培養培地が提供される。

20

## 【0483】

いくつかの実施形態では、培地は、ヒポキサンチン、アミノプテリンおよび／またはチミジン（例えば、HAT培地）を含む。いくつかの実施形態では、培地は血清を含まない。いくつかの実施形態では、培地は血清を含む。いくつかの実施形態では、培地はDMEMまたはRPMI-1640培地である。いくつかの実施形態では、培地は化学的に規定された培地である。いくつかの実施形態では、化学的に規定された培地は、宿主細胞株に対して最適化される。

## 【0484】

## 抗体部分の精製

抗CD93構築物（例えば、抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体）は、任意の適切な方法によって精製され得る。そのような方法には、アフィニティマトリックスまたは疎水性相互作用クロマトグラフィの使用が含まれるが、これらに限定されない。適切なアフィニティリガンドとしては、ROR1 ECDおよび抗体定常領域に結合するリガンドが挙げられる。例えば、プロテインA、プロテインG、プロテインA/G、または抗体アフィニティカラムを使用して定常領域に結合し、Fcフラグメントを含む抗CD93構築物を精製することができる。疎水性相互作用クロマトグラフィ、例えばブチルまたはフェニルカラムもまた、抗体などのいくつかのポリペプチドの精製に適し得る。イオン交換クロマトグラフィ（例えば、陰イオン交換クロマトグラフィおよび／または陽イオン交換クロマトグラフィ）もまた、抗体などのいくつかのポリペプチドの精製に適し得る。混合モードクロマトグラフィ（例えば、逆相／陰イオン交換、逆相／陽イオン交換、親水性相互作用／陰イオン交換、親水性相互作用／陽イオン交換など）もまた、抗体などのいくつかのポリペプチドの精製にも適し得る。ポリペプチドを精製する多くの方法が当技術分野で公知である。

30

40

## 【0485】

## V. 処置方法

個体における疾患または状態を処置する方法、または個体における免疫応答をモジュレートする方法もまた、本明細書で提供される。本方法は、本明細書に記載の抗CD93構築物を個体（例えば、ヒトなどの哺乳動物）に投与することを含む。この節の抗CD93構築物に関連する議論は、本出願で記載されるあらゆる抗CD93構築物、例えば、多重

50

特異性抗CD93構築物、例えば、抗CD93融合タンパク質、例えば、抗CD93／アフリベルセプト融合タンパク質が挙げられる抗CD93／VEGFR融合タンパク質に当てはまるものが、理解されるべきである。

【0486】

いくつかの実施形態では、個体において疾患もしくは状態を処置するかまたは免疫応答を調節する方法であって、有効量の本明細書に記載の抗CD93構築物を個体に投与することを含む方法が提供される。例示的な疾患または状態には、加齢黄斑変性（AMD）、糖尿病性黄斑浮腫（DME）、脈絡膜血管新生（CNV）およびがんが含まれるが、これらに限定されない。

【0487】

いくつかの実施形態では、個体における疾患または状態（AMD、DME、CNV、またはがんなど）を処置する方法であって、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域（V<sub>H</sub>-2）および第二の軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>-2）を含む抗体または抗体フラグメントと競合し、該V<sub>H</sub>-2は、配列番号1のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号2のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号3のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該V<sub>L</sub>-2は、配列番号4のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号5のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号6のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む、有効量の抗CD93構築物を個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、i）配列番号1のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii）配列番号2のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii）配列番号3のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub>は、i）配列番号4のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii）配列番号5のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii）配列番号6のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗CD93抗体に由来するヒト化抗体であり、V<sub>H</sub>は、i）配列番号1のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii）配列番号2のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii）配列番号3のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、V<sub>L</sub>は、i）配列番号4のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii）配列番号5のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii）配列番号6のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub>は、配列番号13のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号14のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0488】

いくつかの実施形態では、個体における疾患または状態（AMD、DME、CNV、またはがんなど）を処置する方法であって、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域（V<sub>H</sub>-2）および第二の軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>-2）を含む抗体または抗体フラグメントと競合し、該V<sub>H</sub>-2は、配列番号17のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号18のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号19のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該V<sub>L</sub>-2は、配列番号20のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号21のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む、有効量の抗CD93構築物を個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗CD93 V<sub>H</sub>は、i）配列番号17または304のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii）配列番号18また

10

20

30

40

50

は 305 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および i i i) 配列番号 19 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、抗 CD93 V<sub>L</sub> は、i) 配列番号 20、301、302、303、または 306 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、i i) 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および i i i) 配列番号 22 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。

【0489】

いくつかの実施形態では、抗 CD93 抗体部分は、重鎖可変領域 (V<sub>H</sub>) および軽鎖可変領域 (V<sub>L</sub>) を含む抗 CD93 抗体に由来するヒト化抗体であり、V<sub>H</sub> は、i) 配列番号 17 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、i i) 配列番号 18 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および i i i) 配列番号 19 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、V<sub>L</sub> は、i) 配列番号 20 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、i i) 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および i i i) 配列番号 22 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub> は、配列番号 29 および 307~312 のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub> は、配列番号 30 および 313~318 のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0490】

いくつかの実施形態では、個体における疾患または状態 (AMD、DME、CNV、またはがんなど) を処置する方法であって、重鎖可変領域 (V<sub>H</sub>) および軽鎖可変領域 (V<sub>L</sub>) を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93 の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域 (V<sub>H</sub>-2) および第二の軽鎖可変領域 (V<sub>L</sub>-2) を含む抗体または抗体フラグメントと競合し、該 V<sub>H</sub>-2 は、配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、配列番号 34 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 35 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、該 V<sub>L</sub>-2 は、配列番号 36 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 37 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 38 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む、有効量の抗 CD93 構築物を個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub> は、i) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、i i) 配列番号 34 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および i i i) 配列番号 35 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub> は、i) 配列番号 36 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、i i) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および i i i) 配列番号 38 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、抗 CD93 抗体部分は、重鎖可変領域 (V<sub>H</sub>) および軽鎖可変領域 (V<sub>L</sub>) を含む抗 CD93 抗体に由来するヒト化抗体であり、V<sub>H</sub> は、i) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、i i) 配列番号 34 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および i i i) 配列番号 35 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み、V<sub>L</sub> は、i) 配列番号 36 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、i i) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および i i i) 配列番号 38 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む。いくつかの実施形態では、V<sub>H</sub> は、配列番号 45 のアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub> は、配列番号 46 のアミノ酸配列、または少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% のいずれか 1 つ) の配列同一性を有するア

ミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0491】

いくつかの実施形態では、個体における疾患または状態（AMD、DME、CNV、またはがんなど）を処置する方法であって、重鎖可変領域（ $V_H$ ）および軽鎖可変領域（ $V_L$ ）を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域（ $V_{H-2}$ ）および第二の軽鎖可変領域（ $V_{L-2}$ ）を含む抗体または抗体フラグメントと競合し、該 $V_{H-2}$ は、配列番号65のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号66のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号67のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該 $V_{L-2}$ は、配列番号68のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号69のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号70のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む、有効量の抗CD93構築物を個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、i) 配列番号65のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号66のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号67のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$ は、i) 配列番号68のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号69のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号70のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、重鎖可変領域（ $V_H$ ）および軽鎖可変領域（ $V_L$ ）を含む抗CD93抗体に由来するヒト化抗体であり、 $V_H$ は、i) 配列番号65のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号66のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号67のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、 $V_L$ は、i) 配列番号68のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号69のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号70のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号77のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号78のアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

【0492】

いくつかの実施形態では、個体における疾患または状態（AMD、DME、CNV、またはがんなど）を処置する方法であって、重鎖可変領域（ $V_H$ ）および軽鎖可変領域（ $V_L$ ）を含む抗体部分を含み、該抗体部分は、CD93の結合エピトープについて、第二の重鎖可変領域（ $V_{H-2}$ ）および第二の軽鎖可変領域（ $V_{L-2}$ ）を含む抗体または抗体フラグメントと競合し、該 $V_{H-2}$ は、配列番号289のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号290のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号291のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、該 $V_{L-2}$ は、配列番号292のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号293のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号294のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む、有効量の抗CD93構築物を個体に投与することを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、i) 配列番号289のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号290のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号291のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$ は、i) 配列番号292のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号293のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号294のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む。いくつかの実施形態では、抗CD93抗体部分は、重鎖可変領域（ $V_H$ ）および軽鎖可変領域（ $V_L$ ）を含む抗CD93抗

体に由来するヒト化抗体であり、 $V_H$ は、i) 配列番号289のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号290のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号291のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、 $V_L$ は、i) 配列番号292のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号293のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号294のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む。いくつかの実施形態では、 $V_H$ は、配列番号287および319～321のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号288および322～324のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。

10

【0493】

いくつかの実施形態では、個体における疾患または状態（AMD、DME、CNV、もしくはがんなど）を処置する方法が提供され、その方法は、有効量の抗CD93構築物を個体に投与することを含み、その抗CD93構築物は、a) 2つの重鎖と2つの軽鎖とを含む、CD93を特異的に認識する全長抗体であって、その2つの重鎖はそれぞれ、配列番号289のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号290のアミノ酸配列を含むHC-CDR2および配列番号291のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含む、重鎖可変領域（ $V_H$ ）を含み、その2つの軽鎖はそれぞれ、配列番号292のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号293のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号294のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む、軽鎖可変領域（ $V_L$ ）を含む、全長抗体と、b) 配列番号325のアミノ酸配列を含むVEGF結合部分とを含み、そのVEGF結合部分はその全長抗体の重鎖の一方または両方に融合されている。いくつかの実施形態では、VEGF結合部分は、全長抗体の両方の重鎖のC末端に融合されている。いくつかの実施形態では、VEGF結合部分は、リンカーを介して全長抗体に融合されている。いくつかの実施形態では、リンカーは、GSリンカーであるか、または配列番号225～232および配列番号338からなる群より選択される。いくつかの実施形態では、そのリンカーは、配列番号338のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗CD93  $V_H$ は、配列番号287および配列番号319～321のいずれか1つのアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み； $V_L$ は、配列番号288および配列番号322～324のいずれか1つのアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、全長抗体は、IgG1アイソタイプ（ヒトIgG1アイソタイプなど）を有する。いくつかの実施形態では、重鎖は、配列番号342のアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖は、配列番号343のアミノ酸配列を含むか、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む。いくつかの実施形態では、個体における疾患または状態（AMD、DME、CNV、もしくはがんなど）を処置する方法が提供され、その方法は、有効量の抗CD93構築物を個体に投与することを含み、

20

30

40

50

その抗CD93構築物は、配列番号366に示されるアミノ酸配列を含む重鎖融合ポリペプチド、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体と、配列番号367に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖ポリペプチド、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体とを含む。

【0494】

いくつかの実施形態では、上記のアミノ酸置換は、本出願の表2に示される「例示的な置換」に限定される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、本出願の表2に示される「好ましい置換」に限定される。

【0495】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD93構築物のいずれか1つを対象に投与することを含む、腫瘍を処置する方法が提供される。いくつかの実施形態において、本方法は、抗CD93構築物の非存在下における腫瘍成長と比較して、少なくとも約5%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、または90%よりも多く、腫瘍成長を遅らせる。

【0496】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD93構築物のいずれか1つを対象に投与することを含む、対象の腫瘍のサイズを減少させる方法が提供される。いくつかの実施形態では、腫瘍のサイズを減少させることは、対象における腫瘍体積を減少させることを指す。いくつかの実施形態では、腫瘍のサイズを減少させることは、対象における腫瘍の寸法（例えば、直径）を減少させることを指す。いくつかの実施形態では、腫瘍サイズは、抗CD93構築物が投与されていない対象における対応腫瘍（counterpart tumor）のサイズと比較して、少なくとも約2%、約5%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、または約90%よりも多く、減少される。いくつかの実施形態では、腫瘍サイズは、抗CD93構築物が投与されていない対象における対応腫瘍のサイズと比較して、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、または約90%に減少される。

【0497】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD93構築物のいずれか1つを対象に投与することを含む、対象における1またはそれを超える腫瘍を排除する方法が提供される。いくつかの実施形態では、腫瘍の排除は、抗CD93構築物の約3日後、約1週間後、約2週間後、約3週間後、約4週間後、約5週間後、約6週間後、約7週間後、約8週間後、または約8週間よりも後に起こる。

【0498】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD93構築物のいずれか1つを対象に投与することを含む、対象の腫瘍への免疫細胞浸潤を促進する方法が提供される。いくつかの実施形態では、本方法は、抗CD93構築物が投与されていない対象における免疫細胞浸透と比較して、腫瘍への免疫細胞浸透を少なくとも約2%、約5%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、または約90%よりも多く増大させる。

【0499】

いくつかの実施形態では、1またはそれを超える腫瘍を排除する方法、対象の腫瘍のサイズを減少させる方法、および／あるいは対象の腫瘍への免疫細胞浸潤を促進する方法が提供され、それらの方法は、抗CD93構築物を投与することを含み、その抗CD93構築物は、配列番号366に示されるアミノ酸配列を含む重鎖融合ポリペプチド、または少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約9

10

20

30

40

50

0%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体と、配列番号367に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖ポリペプチドとを含む。

#### 【0500】

いくつかの実施形態では、1またはそれを超える腫瘍を排除する方法、対象の腫瘍のサイズを減少させる方法、および／あるいは対象の腫瘍への免疫細胞浸潤を促進する方法が提供され、それらの方法は、抗CD93構築物(例えば、本明細書に記載の多重特異性抗CD93構築物のいずれか1つ)を投与することを含み、その抗CD93構築物は、CD93とIGFBP7との間の相互作用を遮断することができる。いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物は、CD93とIGFBP7との間の相互作用を少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%遮断することができる。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、CD93とMMRN2との間の相互作用を遮断することができる。いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物は、CD93とMMRN2との間の相互作用を少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%遮断することができる。

#### 【0501】

いくつかの実施形態では、1またはそれを超える腫瘍を排除する方法、対象の腫瘍のサイズを減少させる方法、および／あるいは対象の腫瘍への免疫細胞浸潤を促進する方法が提供され、それらの方法は、本明細書に記載の多重特異性抗CD93構築物のいずれか1つを投与することを含み、その多重特異性抗CD93構築物は、CD93とMMRN2との間の相互作用を遮断することができる。いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物は、CD93とMMRN2との間の相互作用を少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%遮断することができる。

#### 【0502】

いくつかの実施形態では、1またはそれを超える腫瘍を排除する方法、対象の腫瘍のサイズを減少させる方法、および／あるいは対象の腫瘍への免疫細胞浸潤を促進する方法が提供され、それらの方法は、本明細書に記載の多重特異性抗CD93構築物のいずれか1つを投与することを含み、その多重特異性抗CD93構築物は、バイオレイヤー干渉法によって測定される1nM未満、約1nM、約2nM、約3nM、約4nM、約5nM、約10nM、約20nM、約30nM、約40nM、約50nM、または約50nMを超える解離定数でVEGFAに結合することができる。いくつかの実施形態では、多重特異性抗CD93構築物は、バイオレイヤー干渉法によって測定される約2nMの解離定数でVEGFAに結合することができる。

#### 【0503】

疾患または状態  
疾患または状態

本明細書に記載の方法は、異常な血管構造に関連する任意の疾患または状態に適用可能である。いくつかの実施形態では、疾患または状態は、新生血管形成に関連する。いくつかの実施形態では、疾患または状態は皮膚乾癬である。いくつかの実施形態では、疾患または状態は良性腫瘍である。いくつかの実施形態では、疾患または状態はがんである。

#### 【0504】

新生血管形成に関連する疾患

いくつかの実施形態では、疾患または状態は、新生血管形成に関連する。本明細書に記載の「新生血管形成」は、既存の血管系から新しい血管系が発達する現象を指す。

## 【0505】

いくつかの実施形態では、疾患または状態は、眼の新生血管形成に関連する。

## 【0506】

いくつかの実施形態では、疾患または状態は、ウェット型AMDとしても知られる脈絡膜血管新生(CNV)である。脈絡膜血管新生は、脈絡膜に由来する新しい血管がブルッフ膜の断裂を介して網膜下色素上皮(sub-RPE)または網膜下腔に成長することを含み得、これは視力喪失の主な原因であり得る。CNVは、数週間以内に顕著な中心視力の突然の悪化を引き起こす可能性がある。起こり得る他の症状には、色覚障害(color disturbance)、および変視症(直線が波状に見える歪み)が含まれる。新しい血管の出血は、CNVの症状の発症を加速させ得る。CNVは、眼の後ろの圧迫感も含み得る。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される方法および医薬組成物は、新生血管形成に関連するCNVまたは眼の状態を処置するために使用される。

10

## 【0507】

AMDの進行した「ウェット」形態(新生血管または滲出性)はあまり一般的ではないが、患者の中心視力の急速かつ高頻度の実質的な喪失を引き起こし得る。AMDのウェット形態では、脈絡膜新生血管が形成され、網膜色素上皮の下および中を通して成長し得る血管のネットワークに発達する。これは網膜下腔への血漿の漏出および／または出血を伴うので、これが黄斑で起こる場合、中心視力の重度の突然の喪失が起こり得る。「AMD」という用語は、別段の指定がない限り、ドライ型AMDまたはウェット型AMDのいずれかであり得る。本出願は、AMD、ウェット型AMDおよび／またはドライ型AMDの処置または予防を企図する。

20

## 【0508】

いくつかの実施形態では、疾患または状態は、網膜静脈閉塞(RVO)後の黄斑浮腫である。

## 【0509】

いくつかの実施形態では、疾患または状態は、糖尿病性黄斑浮腫(DME)である。糖尿病性黄斑浮腫(DME)は、黄斑内の血管からの流体の漏出による糖尿病における網膜の腫脹である。黄斑は網膜の中心部分であり、網膜錐体が豊富な小さな領域であり、色を検出し、昼間の視覚が依存する特殊な神経終末である。黄斑浮腫が発症すると、中心視野の中央またはすぐ側にかすみが生じる。糖尿病性黄斑浮腫からの視力喪失は、数ヶ月にわたって進行し、明確に焦点を合わせることが不可能にする可能性がある。DMEの一般的な症状は、霧視、浮遊物、複視、および処置されない場合は最終的には失明である。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される方法および医薬組成物は、DMEを処置するために使用される。

30

## 【0510】

いくつかの実施形態では、疾患または状態は網膜静脈閉塞である。網膜静脈閉塞は、網膜から血液を運び去る小静脈の閉塞である。網膜は、光画像を神経信号に変換し、それらを脳に送る内眼(inner eye)の背部の組織の層である。網膜静脈閉塞は、動脈の硬化(アテローム性動脈硬化症)および血栓の形成によって引き起こされることが最も多い。網膜のより小さい静脈(分枝静脈またはBRVO)の閉塞は、しばしば、アテローム性動脈硬化症によって肥厚または硬化した網膜動脈が交差して網膜静脈に圧力をかける場所で行き起こる。網膜静脈閉塞の症状には、一方の眼の全部または一部における突然のかすみまたは視力喪失が含まれ得る。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される方法および医薬組成物は、網膜静脈閉塞症を処置するために使用される。

40

## 【0511】

いくつかの実施形態では、疾患または状態は、DME患者における糖尿病性網膜症(DR)である。

## 【0512】

がん

いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される疾患または状態は、がんである

50

。本明細書中に記載される方法のいずれかを使用して処置され得るがんには、任意のタイプのがんが含まれる。本出願に記載の薬剤で処置されるがんのタイプには、癌腫、芽細胞腫、肉腫、良性および悪性腫瘍、ならびに悪性疾患、例えば肉腫、癌腫、および黒色腫が含まれるが、これらに限定されない。成人腫瘍／がんおよび小児腫瘍／がんも含まれる。

【0513】

様々な実施形態において、がんは、早期がん、非転移性がん、原発性がん、進行がん、局所進行がん、転移性がん、寛解状態のがん、再発性がん、アジュバント状況におけるがん、ネオアジュバント状況におけるがん、または治療に対して実質的に難治性のがんである。

【0514】

いくつかの実施形態では、がんは固形腫瘍である。

【0515】

いくつかの実施形態では、がんは、CD93＋腫瘍内皮細胞を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍中の内皮細胞の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、または90%がCD93陽性である。いくつかの実施形態では、がんは、対象の正常組織よりも少なくとも20%、40%、60%、80%、または100%多いCD93＋内皮細胞を含む。いくつかの実施形態では、がんは、がんを有しない対象または対象の群における対応する臓器よりも少なくとも20%、40%、60%、80%、または100%多いCD93＋内皮細胞を含む。

【0516】

いくつかの実施形態では、がんはIGFBP7＋血管を含む。いくつかの実施形態では、がんは、対象の正常組織よりも少なくとも20%、40%、60%、80%、または100%多いIGFBP7＋血管を含む。いくつかの実施形態では、がんは、がんを有しない対象または対象の群における対応する臓器よりも少なくとも20%、40%、60%、80%、または100%多いIGFBP7＋血管を含む。

【0517】

いくつかの実施形態では、がん（例えば、固形腫瘍）は、腫瘍低酸素を特徴とする。いくつかの実施形態では、がんは、少なくとも約1%、2%、3%、4%、または5%のピモニダゾール陽性率（すなわち、ピモニダゾール陽性面積を全腫瘍面積で割ったもの）を特徴とする。

【0518】

本出願の方法によって処置され得るがんの例としては、限定されないが、肛門がん、星細胞腫（例えば、小脳および大脳）、基底細胞癌、膀胱がん、骨がん、（骨肉腫および悪性線維性組織球腫）、脳腫瘍（例えば、神経膠腫、脳幹神経膠腫、小脳または大脳星細胞腫（例えば、星細胞腫、悪性神経膠腫、髄芽腫および神経膠芽腫）、乳がん、子宮頸がん、結腸がん、脳がん、結腸直腸がん、子宮内膜がん（例えば、子宮がん）、食道がん、眼がん（例えば、眼内黒色腫および網膜芽細胞腫）、胃部（胃）がん、消化管間質腫瘍（GIST）、頭頸部がん、肝細胞（肝臓）がん（例えば、肝癌およびヘパトーム（heptoma））、肝臓がん、肺がん（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌、および肺の扁平上皮癌）、髄芽腫、黒色腫、中皮腫、骨髄異形成症候群、鼻咽頭がん、神経芽腫、卵巣がん、脾臓がん、副甲状腺がん、腹膜のがん、下垂体腫瘍、直腸がん、腎がん、腎盂および尿管がん（移行細胞がん）、横紋筋肉腫、皮膚がん（例えば、非黒色腫（例えば、扁平上皮癌）、黒色腫およびメルケル細胞癌）、小腸がん、扁平上皮がん、精巣がん、甲状腺がん、および結節硬化症が挙げられる。がんのさらなる例は、The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 19th Edition, §on Hematology and Oncology, published by Merck Sharp & Dohme Corp., 2011 (ISBN 978-0-911910-19-3); The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 20th Edition, §on Hematology and Oncology, published by Merck

10

20

30

40

50

Sharp & Dohme Corp., 2018 (ISBN 978-0-911-91042-1) (Merck Manualsのインターネット・ウェブサイトの2018年デジタルオンライン版) ; およびSEER Program Coding and Staging Manual 2016に見出すことができ、これらはそれぞれ、あらゆる目的のためにその全体が参照により組み込まれる。

【0519】

対象

いくつかの実施形態では、対象は、哺乳動物（ヒトなど）である。

【0520】

いくつかの実施形態では、対象は、CD93+内皮細胞を含む異常な血管を含む組織を有する。いくつかの実施形態では、異常な血管を有する組織中の内皮細胞の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、または90%がCD93陽性である。いくつかの実施形態では、異常な血管を有する組織は、対象の正常組織よりも少なくとも20%、40%、60%、80%、または100%多いCD93+内皮細胞を含む。いくつかの実施形態では、異常な血管を有する組織は、異常な血管を有しない対象または対象の群における対応する臓器よりも少なくとも20%、40%、60%、80%、または100%多いCD93+内皮細胞を含む。

10

【0521】

いくつかの実施形態では、対象は、IGFBP7+血管を含む異常な血管を含む組織を有する。いくつかの実施形態では、組織は、対象の正常組織よりも少なくとも20%、40%、60%、80%、または100%多いIGFBP7+血管を含む。いくつかの実施形態では、組織は、異常な血管を有しない対象または対象の群における対応する臓器よりも少なくとも20%、40%、60%、80%、または100%多いIGFBP7+血管を含む。

20

【0522】

いくつかの実施形態では、対象は、異常な血管構造に基づく処置のために選択される。いくつかの実施形態では、異常な血管構造は、CD93+内皮細胞を特徴とする（例えば、CD93+CD31+細胞を測定することによる）。いくつかの実施形態では、異常な血管を有する組織中の内皮細胞の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、または90%がCD93陽性である。いくつかの実施形態では、異常な血管を有する組織は、対象の正常組織よりも少なくとも20%、40%、60%、80%、または100%多いCD93+内皮細胞を含む。いくつかの実施形態では、異常な血管を有する組織は、異常な血管を有しない対象または対象の群における対応する臓器よりも少なくとも20%、40%、60%、80%、または100%多いCD93+内皮細胞を含む。

30

【0523】

いくつかの実施形態では、異常な血管構造は、IGFBP7+血管の異常なレベルを特徴とする。いくつかの実施形態では、組織は、対象の正常組織よりも少なくとも20%、40%、60%、80%、または100%多いIGFBP7+血管を含む。いくつかの実施形態では、組織は、異常な血管を有しない対象または対象の群における対応する臓器よりも少なくとも20%、40%、60%、80%、または100%多いIGFBP7+血管を含む。

40

【0524】

いくつかの実施形態では、対象は、少なくとも1つの以前の治療を有する。いくつかの実施形態では、以前の治療は、放射線治療、化学療法および／または免疫療法を含む。いくつかの実施形態では、対象は、以前の治療に対して抵抗性、難治性、または再発性である。

【0525】

抗CD93構築物の投薬および投与方法

個体に投与される本明細書に記載の疾患または障害を処置するために使用される抗CD

50

93 構築物の投薬レジメン（特定の投与量および頻度など）は、特定の抗CD93構築物（例えば、抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体、例えば、抗CD93融合タンパク質）、投与様式、および処置される疾患または状態の種類によって異なり得る。いくつかの実施形態では、疾患または状態の種類はがんである。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物（抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体など）の有効量は、客観的応答（部分応答または完全応答など）をもたらすのに有効な量である。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物（抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体など）の有効量は、個体において完全応答をもたらすのに十分な量である。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物（抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体など）の有効量は、個体において部分応答をもたらすのに十分な量である。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物（抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体など）の有効量は、抗CD93構築物（抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体など）で処置された個体の集団の中で、約20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、64%、65%、70%、75%、80%、85%、または90%のいずれかを超える全奏効率をもたらすのに十分な量である。本明細書中に記載される方法の処置に対する個体の応答を、例えば、RECISTレベルに基づいて決定することができる。

10

#### 【0526】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物（抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体など）の有効量は、個体の無増悪生存を延長するのに十分な量である。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物（抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体など）の有効量は、個体の全生存を延長するのに十分な量である。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物（抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体など）の有効量は、抗CD93構築物（抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体など）で処置された個体の集団の中で、約50%、60%、70%、80%、または90%のいずれかを超える臨床的利益をもたらすのに十分な量である。

20

#### 【0527】

いくつかの実施形態では、単独でのまたは第二、第三および／もしくは第四の薬剤と組み合わせた抗CD93構築物（抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体など）の有効量は、処置前の同じ対象の対応する腫瘍サイズ、がん細胞の数、または腫瘍成長速度と比較して、または処置を受けていない（例えば、プラセボ処置を受けている）他の対象の対応する活性と比較して、少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%もしくは100%のいずれかだけ腫瘍のサイズを減少させる、がん細胞の数を減少させる、または腫瘍の成長速度を低下させるのに十分な量である。精製酵素を用いたインビトロアッセイ、細胞ベースのアッセイ、動物モデル、またはヒト試験などの標準的な方法を使用して、この効果の大きさを測定することができる。

30

#### 【0528】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物（抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体など）の有効量は、組成物が個体に投与された場合に毒物学的効果を誘発するレベル（すなわち、臨床的に許容され得る毒性レベルを超える効果）未満であるか、または潜在的な副作用を制御または耐容することができるレベルである量である。

40

#### 【0529】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物（例えば、抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体）の有効量は、同じ投薬レジメンに従った組成物の最大耐量（MTD）に近い量である。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物（抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体など）の有効量は、MTDの約80%、90%、95%、または98%のいずれかよりも多い。

#### 【0530】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物（抗CD93モノクローナル抗体または多

50

重特異性抗体など)の有効量は、処置を受けていない個体と比較して、疾患または状態の進行を(例えば、少なくとも約5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%)遅らせるかまたは阻害する量である。いくつかの実施形態では、疾患または状態は自己免疫疾患である。いくつかの実施形態では、疾患または状態は感染症である。

#### 【0531】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物(抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体など)の有効量は、処置を受けていない個体と比較して、状態(例えば、移植)の副作用(自己免疫応答)を(例えば、少なくとも約5%、10%、15%、20%、30%、40%、または50%)減少させる量である。

#### 【0532】

上記態様のいずれかのいくつかの実施形態において、抗CD93構築物(例えば、抗CD93モノクローナル抗体または多重特異性抗体)の有効量は、総体重の1kgあたり約0.001μg~約100mg、例えば、約0.005μg/kg~約50mg/kg、約0.01μg/kg~約10mg/kg、または約0.01μg/kg~約1mg/kgの範囲である。

#### 【0533】

いくつかの実施形態では、処置は、1回よりも多くの抗CD93構築物の投与(例えば、約2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、9回、または10回の抗CD93構築物の投与)を含む。いくつかの実施形態では、2回の投与を約1週間以内に行う。いくつかの実施形態では、2回目の投与は、1回目の投与の完了の少なくとも約1、2、3、4、5、6、または7日後に行われる。いくつかの実施形態では、2回目の投与は、1回目の投与の完了の約1~14日後、1~10日後、1~7日後、2~6日後、または3~5日後に行われる。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、1週間に約1~3回(例えば、1週間に約1回、1週間に約2回、または1週間に約3回)投与される。

#### 【0534】

抗CD93構築物は、例えば、静脈内、動脈内、腹腔内、肺内、経口、吸入、小胞内、筋肉内、気管内、皮下、眼内、髄腔内、経粘膜、および経皮を含む様々な経路を介して個体(ヒトなど)に投与することができる。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、個体に投与されている間、医薬組成物に含まれる。いくつかの実施形態では、組成物の持続連続放出製剤を使用することができる。いくつかの実施形態では、組成物は静脈内投与される。いくつかの実施形態では、組成物は腹腔内投与される。いくつかの実施形態では、組成物は静脈内投与される。いくつかの実施形態では、組成物は腹腔内投与される。いくつかの実施形態では、組成物は筋肉内投与される。いくつかの実施形態では、組成物は皮下投与される。いくつかの実施形態では、組成物は静脈内投与される。いくつかの実施形態では、組成物は経口投与される。

#### 【0535】

##### 併用療法

本出願はまた、疾患または状態(がんなど)を処置するために抗CD93構築物を個体に投与する方法であって、第二の薬剤または治療を投与することをさらに含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、第二の薬剤または治療は、疾患または状態を処置するための標準的なまたは一般的に使用される薬剤または治療である。いくつかの実施形態では、第二の薬剤または治療は化学療法剤を含む。いくつかの実施形態では、第二の薬剤または治療は手術を含む。いくつかの実施形態では、第二の薬剤または治療は放射線治療を含む。いくつかの実施形態では、第二の薬剤または治療は免疫療法を含む。いくつかの実施形態では、第二の薬剤または治療は細胞治療(例えば、免疫細胞(例えば、CAR T細胞)を含む細胞治療)を含む。いくつかの実施形態では、第二の薬剤または治療は血管新生阻害剤を含む。

#### 【0536】

いくつかの実施形態では、第二の薬剤は化学療法剤である。いくつかの実施形態では、第二の薬剤は代謝拮抗剤である。いくつかの実施形態では、代謝拮抗剤は5-FUである

10

20

30

40

50

。

## 【0537】

いくつかの実施形態では、第二の薬剤は免疫チェックポイント調節剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント調節剤は、PD-L1、PD-L2、CTLA4、PD-L2、PD-1、CD47、TIGIT、GITR、TIM3、LAG3、CD27、4-1BB、およびB7H4からなる群より選択される免疫チェックポイントタンパク質の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイントタンパク質はPD-1である。いくつかの実施形態では、第二の薬剤は、抗PD-1抗体またはそのフラグメントである。

## 【0538】

いくつかの実施形態では、第二の治療は免疫療法である。いくつかの実施形態では、免疫療法は、キメラ抗原受容体を発現する免疫細胞を投与することを含む。いくつかの実施形態では、免疫細胞はT細胞（CD4+T細胞またはCD8+T細胞など）である。いくつかの実施形態では、キメラ抗原受容体は腫瘍抗原に結合する。

## 【0539】

いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、第二の薬剤または治療と同時に投与される。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、第二の薬剤または治療と同時発生的に投与される。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、第二の薬剤または治療と逐次投与される。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、第二の薬剤または治療の前に投与される。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、第二の薬剤または治療の後に投与される。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、第二の薬剤または治療と同じ単位剤形で投与される。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、第二の薬剤または治療とは異なる単位剤形で投与される。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、第二の薬剤または治療と同じ単位剤形で投与される。いくつかの実施形態では、抗CD93構築物は、第二の薬剤または治療とは異なる単位剤形で投与される。

## 【0540】

## VI. 組成物、キットおよび製造品

本明細書に記載の抗CD93構築物または抗CD93抗体部分、抗体部分をコードする核酸、抗体部分をコードする核酸を含むベクター、または核酸もしくはベクターを含む宿主細胞のいずれか1つを含む組成物（製剤など）も本明細書で提供される。

## 【0541】

本明細書に記載の抗CD93構築物の適切な製剤は、所望の純度を有する抗CD93構築物または抗CD93抗体部分を必要に応じた薬学的に許容され得る担体、賦形剤または安定剤（Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)）と、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で混合することによって得ることができる。許容され得る担体、賦形剤、または安定剤は、使用される投与量および濃度でレシピエントに対して非毒性であり、リン酸、クエン酸、および他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸およびメチオニンを含む酸化防止剤；防腐剤（例えばオクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えばメチルまたはプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；およびm-クレゾール）；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、リジン等のアミノ酸；単糖類、二糖類、およびグルコース、マンノース、またはデキストリンを含む他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトールなどの糖類；ナトリウム等の塩形成対イオン；金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）；および／または非イオン性界面活性剤、例えばTWEEN（登録商標）、PLURONICS（登録商標）またはポリエチレングリコール（PEG）などを含む。皮下投与に

10

20

30

40

50

適した凍結乾燥製剤は、国際公開第 97/04801 号に記載されている。そのような凍結乾燥製剤は、適切な希釈剤を用いて高タンパク質濃度に再構成することができ、再構成された製剤は、本明細書で画像化、診断、または処置される個体に皮下投与することができる。

【0542】

インビボ投与に使用される製剤は滅菌されていなければならない。これは、例えば、滅菌濾過膜による濾過によって容易に達成される。

【0543】

本明細書に記載の抗 CD93 構築物または抗 CD93 抗体部分のいずれか 1 つを含むキットも提供される。キットは、本明細書に記載の細胞組成物または処置を調節する方法のいずれかに有用であり得る。

10

【0544】

いくつかの実施形態では、CD93 に特異的に結合する抗 CD93 構築物を含むキットが提供される。

【0545】

いくつかの実施形態では、キットは、抗 CD93 構築物を個体に送達することができるデバイスをさらに含む。非経口送達などの適用のためのデバイスの 1 つのタイプは、組成物を対象の体内に注射するために使用されるシリンジである。吸入デバイスは、特定の適用にも使用され得る。

【0546】

いくつかの実施形態では、キットは、疾患または状態、例えばがん、感染症、自己免疫疾患、または移植を処置するための治療剤をさらに含む。

20

【0547】

本出願のキットは適切な包装中にある。適切な包装には、バイアル、ボトル、瓶、可撓性包装（例えば、密封されたマイラーまたはプラスチックバッグ）などが含まれるが、これらに限定されない。キットは、必要に応じて、緩衝液および解釈情報などの追加の成分を提供し得る。

【0548】

したがって、本出願は製造品も提供する。製造品は、容器と、容器上のまたは容器に関連付けられたラベルまたは添付文書とを含むことができる。適切な容器には、バイアル（密封バイアルなど）、ボトル、瓶、可撓性包装などが含まれる。一般に、容器は組成物を保持し、滅菌アクセスポートを有し得る（例えば、容器は、静脈内溶液バッグであってもよいし、皮下注射針で穿刺可能な栓を有するバイアルであってもよい）。ラベルまたは添付文書は、組成物が個体における特定の状態を画像化、診断または処置するために使用されることを示す。ラベルまたは添付文書は、組成物を個体に投与し、個体を画像化するための指示をさらに含む。ラベルは、再構成および／または使用のための指示を示し得る。組成物を保持する容器は、再構成された製剤の反復投与（例えば、2～6 回の投与から）を可能にする複数回使用バイアルであり得る。添付文書は、診断用製品の市販パッケージに通例含まれる指示であって、そのような診断用製品の使用に関する適応症、用法、用量、投与、禁忌および／または警告に関する情報を含む指示を指す。さらに、製造品は、

30

40

【0549】

キットまたは製造品は、複数の単位用量の組成物および使用についての指示を含み得、薬局、例えば病院の薬局および調剤薬局での保管および使用に十分な量で包装され得る。

【0550】

当業者は、本発明の範囲および主旨の範囲内でいくつかの実施形態が可能であることを認識するであろう。以下の非限定的な例を参照して、本発明をより詳細に説明する。以下

50

の実施例は、本発明をさらに例示するが、当然のことながら、その範囲を限定するものとして解釈されるべきでは決していない。

# 【0551】

## 例示的な実施形態

実施形態1．重鎖可変領域（ $V_H$ ）および軽鎖可変領域（ $V_L$ ）を含む抗体部分を含む抗CD93構築物であって、該抗体部分が、第二の重鎖可変領域（ $V_{H-2}$ ）および第二の軽鎖可変領域（ $V_{L-2}$ ）を含む抗体または抗体フラグメントとCD93の結合エピトープについて競合し、

a)  $V_{H-2}$ は、配列番号1のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号2のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号3のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、 $V_{L-2}$ は、配列番号4のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号5のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号6のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

b)  $V_{H-2}$ は、配列番号17のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号18のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号19のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、 $V_{L-2}$ は、配列番号20のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号21のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

c)  $V_{H-2}$ は、配列番号33のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号34のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号35のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、 $V_{L-2}$ は、配列番号36のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号37のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号38のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

d)  $V_{H-2}$ は、配列番号49のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号50のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号51のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、 $V_{L-2}$ は、配列番号52のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号53のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号54のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

e)  $V_{H-2}$ は、配列番号65のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号66のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号67のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、 $V_{L-2}$ は、配列番号68のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号69のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号70のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

f)  $V_{H-2}$ は、配列番号81のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号82のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号83のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、 $V_{L-2}$ は、配列番号84のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号85のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号86のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

g)  $V_{H-2}$ は、配列番号97のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号98のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号99のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、 $V_{L-2}$ は、配列番号100のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号101のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号102のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

h)  $V_{H-2}$ は、配列番号113のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号114のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号115のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み、 $V_{L-2}$ は、配列番号116のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号117のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号118のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む；

i)  $V_{H-2}$ は、配列番号129のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号130のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号131のアミノ酸配列を含むH

10

20

30

40

50

C-C D R 3を含み、V<sub>L</sub>-<sub>2</sub>は、配列番号132のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、配列番号133のアミノ酸配列を含むL C-C D R 2、および配列番号134のアミノ酸配列を含むL C-C D R 3を含む；

j) V<sub>H</sub>-<sub>2</sub>は、配列番号145のアミノ酸配列を含むH C-C D R 1、配列番号146のアミノ酸配列を含むH C-C D R 2、および配列番号147のアミノ酸配列を含むH C-C D R 3を含み、V<sub>L</sub>-<sub>2</sub>は、配列番号148、355、または358のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、配列番号149または356のアミノ酸配列を含むL C-C D R 2、および配列番号150、357または359のアミノ酸配列を含むL C-C D R 3を含む；

k) V<sub>H</sub>-<sub>2</sub>は、配列番号161のアミノ酸配列を含むH C-C D R 1、配列番号162のアミノ酸配列を含むH C-C D R 2、および配列番号163のアミノ酸配列を含むH C-C D R 3を含み、V<sub>L</sub>-<sub>2</sub>は、配列番号164のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、配列番号165のアミノ酸配列を含むL C-C D R 2、および配列番号166のアミノ酸配列を含むL C-C D R 3を含む；

l) V<sub>H</sub>-<sub>2</sub>は、配列番号177のアミノ酸配列を含むH C-C D R 1、配列番号178のアミノ酸配列を含むH C-C D R 2、および配列番号179のアミノ酸配列を含むH C-C D R 3を含み、V<sub>L</sub>-<sub>2</sub>は、配列番号180または353のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、配列番号181または354のアミノ酸配列を含むL C-C D R 2、および配列番号182のアミノ酸配列を含むL C-C D R 3を含む；

m) V<sub>H</sub>-<sub>2</sub>は、配列番号193のアミノ酸配列を含むH C-C D R 1、配列番号194のアミノ酸配列を含むH C-C D R 2、および配列番号195のアミノ酸配列を含むH C-C D R 3を含み、V<sub>L</sub>-<sub>2</sub>は、配列番号196のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、配列番号197のアミノ酸配列を含むL C-C D R 2、および配列番号198のアミノ酸配列を含むL C-C D R 3を含む；

n) V<sub>H</sub>-<sub>2</sub>は、配列番号209のアミノ酸配列を含むH C-C D R 1、配列番号210のアミノ酸配列を含むH C-C D R 2、および配列番号211のアミノ酸配列を含むH C-C D R 3を含み、V<sub>L</sub>-<sub>2</sub>は、配列番号212のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、配列番号213のアミノ酸配列を含むL C-C D R 2、および配列番号214のアミノ酸配列を含むL C-C D R 3を含む；

o) V<sub>H</sub>-<sub>2</sub>は、配列番号289のアミノ酸配列を含むH C-C D R 1、配列番号290のアミノ酸配列を含むH C-C D R 2、および配列番号291のアミノ酸配列を含むH C-C D R 3を含み、V<sub>L</sub>-<sub>2</sub>は、配列番号292のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、配列番号293のアミノ酸配列を含むL C-C D R 2、および配列番号294のアミノ酸配列を含むL C-C D R 3を含む；または

p) V<sub>H</sub>-<sub>2</sub>は、配列番号17または304のアミノ酸配列を含むH C-C D R 1、配列番号18または305のアミノ酸配列を含むH C-C D R 2、および配列番号19のアミノ酸配列を含むH C-C D R 3を含み、V<sub>L</sub>-<sub>2</sub>は、配列番号20、301、302、303、または306のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、配列番号21のアミノ酸配列を含むL C-C D R 2、および配列番号22のアミノ酸配列を含むL C-C D R 3を含む。

#### 【0552】

実施形態2．実施形態1に記載の抗CD93構築物であって、

a) V<sub>H</sub>は、i) 配列番号1のアミノ酸配列を含むH C-C D R 1、i i) 配列番号2のアミノ酸配列を含むH C-C D R 2、およびi i i) 配列番号3のアミノ酸配列を含むH C-C D R 3、またはH C-C D R中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；V<sub>L</sub>は、i) 配列番号4のアミノ酸配列を含むL C-C D R 1、i i) 配列番号5のアミノ酸配列を含むL C-C D R 2、およびi i i) 配列番号6のアミノ酸配列を含むL C-C D R 3、またはL C-C D R中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、

b) V<sub>H</sub>は、i) 配列番号17のアミノ酸配列を含むH C-C D R 1、i i) 配列番号

18のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号19のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；VLは、i)配列番号20のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号21のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号22のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、

c) VHは、i)配列番号33のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号34のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号35のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；VLは、i)配列番号36のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号37のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号38のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、

d) VHは、i)配列番号49のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号50のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号51のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；VLは、i)配列番号52のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号53のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号54のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、

e) VHは、i)配列番号65のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号66のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号67のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；VLは、i)配列番号68のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号69のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号70のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、

f) VHは、i)配列番号81のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号82のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号83のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；VLは、i)配列番号84のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号85のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号86のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、

g) VHは、i)配列番号97のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号98のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号99のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；VLは、i)配列番号100のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号101のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号102のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、

h) VHは、i)配列番号113のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号114のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号115のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；VLは、i)配列番号116のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii)配列番号117のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii)配列番号118のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、

i) VHは、i)配列番号129のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii)配列番号130のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii)配列番号131のアミノ

10

20

30

40

50

酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；VLは、i) 配列番号132のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号133のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号134のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、

j) VHは、i) 配列番号145のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号146のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号147のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；VLは、i) 配列番号148、355、または358のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号149または356のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号150、357または359のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、

k) VHは、i) 配列番号161のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号162のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号163のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；VLは、i) 配列番号164のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号165のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号166のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、

l) VHは、i) 配列番号177のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号178のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号179のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；VLは、i) 配列番号180または353のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号181または354のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号182のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、

m) VHは、i) 配列番号193のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号194のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号195のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；VLは、i) 配列番号196のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号197のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号198のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、

n) VHは、i) 配列番号209のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号210のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号211のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；VLは、i) 配列番号212のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号213のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号214のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、

o) VHは、i) 配列番号289のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、ii) 配列番号290のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、およびiii) 配列番号291のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；VLは、i) 配列番号292のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、ii) 配列番号293のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、およびiii) 配列番号294のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR中に最大5、4、3、2、または1個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、または

p) VHは、配列番号17または304のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番

10

20

30

40

50

号 18 または 305 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 19 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；V<sub>L</sub> は、配列番号 20、301、302、303、または 306 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、配列番号 21 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 22 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、抗 CD93 構築物。

【0553】

実施形態 3．V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、ii) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および iii) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、ii) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および iii) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、実施形態 2 に記載の抗 CD93 構築物。

10

【0554】

実施形態 4．V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 17 または 304 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、ii) 配列番号 18 または 305 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および iii) 配列番号 19 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 20、301、302、303、または 306 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、ii) 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および iii) 配列番号 22 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、実施形態 2 に記載の抗 CD93 構築物。

20

【0555】

実施形態 5．V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、ii) 配列番号 34 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および iii) 配列番号 35 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み；V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 36 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、ii) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および iii) 配列番号 38 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、実施形態 2 に記載の抗 CD93 構築物。

30

【0556】

実施形態 6．V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 49 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、ii) 配列番号 50 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および iii) 配列番号 51 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 52 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、ii) 配列番号 53 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および iii) 配列番号 54 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、実施形態 2 に記載の抗 CD93 構築物。

40

【0557】

実施形態 7．V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 65 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、ii) 配列番号 66 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および iii) 配列番号 67 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 68 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、ii) 配列番号 69 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および

50

i i i) 配列番号 70 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、実施形態 2 に記載の抗 CD93 構築物。

【0558】

実施形態 8. V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 81 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、i i) 配列番号 82 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および i i i) 配列番号 83 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 84 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、i i) 配列番号 85 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および i i i) 配列番号 86 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、実施形態 2 に記載の抗 CD93 構築物。

【0559】

実施形態 9. V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 97 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、i i) 配列番号 98 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および i i i) 配列番号 99 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 100 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、i i) 配列番号 101 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および i i i) 配列番号 102 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、実施形態 2 に記載の抗 CD93 構築物。

【0560】

実施形態 10. V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 113 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、i i) 配列番号 114 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および i i i) 配列番号 115 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 116 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、i i) 配列番号 117 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および i i i) 配列番号 118 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、実施形態 2 に記載の抗 CD93 構築物。

【0561】

実施形態 11. V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 129 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、i i) 配列番号 130 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および i i i) 配列番号 131 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 132 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、i i) 配列番号 133 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および i i i) 配列番号 134 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、実施形態 2 に記載の抗 CD93 構築物。

【0562】

実施形態 12. V<sub>H</sub> が、i) 配列番号 145 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、i i) 配列番号 146 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および i i i) 配列番号 147 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、V<sub>L</sub> が、i) 配列番号 148、355、または 358 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、i i) 配列番号 149 または 356 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および i i i) 配列番号 150、357 または 359 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、実施形態 2 に記載の抗 CD93 構築物。

【0563】

実施形態 13.  $V_H$  が、i) 配列番号 161 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、i i) 配列番号 162 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および i i i) 配列番号 163 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$  が、i) 配列番号 164 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、i i) 配列番号 165 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および i i i) 配列番号 166 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、実施形態 2 に記載の抗 CD93 構築物。

【0564】

実施形態 14.  $V_H$  が、i) 配列番号 177 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、i i) 配列番号 178 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および i i i) 配列番号 179 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$  が、i) 配列番号 180 または 353 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、i i) 配列番号 181 または 354 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および i i i) 配列番号 182 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、実施形態 2 に記載の抗 CD93 構築物。

【0565】

実施形態 15.  $V_H$  が、i) 配列番号 193 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、i i) 配列番号 194 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および i i i) 配列番号 195 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$  が、i) 配列番号 196 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、i i) 配列番号 197 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および i i i) 配列番号 198 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、実施形態 2 に記載の抗 CD93 構築物。

【0566】

実施形態 16.  $V_H$  が、i) 配列番号 209 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、i i) 配列番号 210 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および i i i) 配列番号 211 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$  が、i) 配列番号 212 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、i i) 配列番号 213 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および i i i) 配列番号 214 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、実施形態 2 に記載の抗 CD93 構築物。

【0567】

実施形態 17.  $V_H$  が、i) 配列番号 289 のアミノ酸配列を含む HC-CDR1、i i) 配列番号 290 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および i i i) 配列番号 291 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3、または HC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含み、 $V_L$  が、i) 配列番号 292 のアミノ酸配列を含む LC-CDR1、i i) 配列番号 293 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および i i i) 配列番号 294 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3、または LC-CDR 中に最大 5、4、3、2、または 1 個のアミノ酸置換を含むその改変体を含む、実施形態 2 に記載の抗 CD93 構築物

【0568】

実施形態 18. CD93 に特異的に結合する抗体部分を含む抗 CD93 構築物であって、

a) 配列番号 13 に示される配列を有する  $V_H$  鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2 および HC-CDR3、ならびに配列番号 14 に示される配列を有する  $V_L$  鎖領域内に CDR1、CDR2

および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2 および LC-CDR3；

b) 配列番号 29 および 307～312 のいずれかに示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2 および HC-CDR3、ならびに配列番号 30、および 313～318 のいずれかに示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2 および LC-CDR3；

c) 配列番号 45 に示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2 および HC-CDR3、ならびに配列番号 46 に示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2 および LC-CDR3；

d) 配列番号 61 に示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2 および HC-CDR3、ならびに配列番号 62 に示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2 および LC-CDR3；

e) 配列番号 77 に示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2 および HC-CDR3、ならびに配列番号 78 に示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2 および LC-CDR3；

f) 配列番号 93 に示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2 および HC-CDR3、ならびに配列番号 94 に示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2 および LC-CDR3；

g) 配列番号 109 に示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2 および HC-CDR3、ならびに配列番号 110 に示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2 および LC-CDR3；

h) 配列番号 125 に示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2 および HC-CDR3、ならびに配列番号 126 に示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2 および LC-CDR3；

i) 配列番号 141 に示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2 および HC-CDR3、ならびに配列番号 142 に示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2 および LC-CDR3；

j) 配列番号 157 および 360～362 のいずれかに示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2 および HC-CDR3、ならびに配列番号 158、および 363～365 のいずれかに示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む LC-CDR1、LC-CDR2 および LC-CDR3；

k) 配列番号 173 に示される配列を有する V<sub>H</sub> 鎖領域内に CDR1、CDR2 および CDR3 のアミノ酸配列をそれぞれ含む HC-CDR1、HC-CDR2 および HC-CDR3、ならびに配列番号 174 に示される配列を有する V<sub>L</sub> 鎖領域内に CDR1、CD

10

20

30

40

50

R2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

l) 配列番号189および347～349のいずれかに示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号190、および350～352のいずれかに示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

m) 配列番号205に示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号206に示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

n) 配列番号221に示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号222に示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

o) 配列番号287および319～321のいずれかに示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号288、および322～324のいずれかに示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；

p) 配列番号307～312のいずれかに示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号313～318のいずれかに示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3；または

q) 配列番号319～321のいずれかに示される配列を有するV<sub>H</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3、ならびに配列番号322～324のいずれかに示される配列を有するV<sub>L</sub>鎖領域内にCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含むLC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む、抗CD93構築物。

#### 【0569】

実施形態19．V<sub>H</sub>が、配列番号13、29、45、61、77、93、109、125、141、157、173、189、205、221、287、307～312および319～321のいずれか1つのアミノ酸配列、または少なくとも約80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；および／または、V<sub>L</sub>が、配列番号14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、288、313～318および322～324のいずれか1つのアミノ酸配列、または少なくとも約80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む、実施形態1～18のいずれか一つに記載の抗CD93構築物。

#### 【0570】

実施形態20．実施形態19に記載の抗CD93構築物であって、

a) V<sub>H</sub>は、配列番号13のアミノ酸配列、または少なくとも約80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号14のアミノ酸配列、または少なくとも約80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む、

b) V<sub>H</sub>は、配列番号29および307～312のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含み；V<sub>L</sub>は、配列番号30、および313～318のいずれかのアミノ酸配列、または少なくとも約80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む改変体を含む、



実施形態 21. 抗体部分が、全長抗体、二重特異性抗体、一本鎖 Fv (scFv) フラグメント、Fab フラグメント、Fab' フラグメント、F(ab')<sub>2</sub>、Fv フラグメント、ジスルフィド安定化 Fv フラグメント (dsFv)、(dsFv)<sub>2</sub>、Fv-Fc 融合物、scFv-Fc 融合物、scFv-Fv 融合物、ダイアボディ、トリボディ、およびテトラボディからなる群より選択される抗体またはその抗原結合フラグメントである、実施形態 1~20 のいずれか一つに記載の抗 CD93 構築物。

【0572】

実施形態 22. 抗体部分が全長抗体である、実施形態 21 に記載の抗 CD93 構築物。

【0573】

実施形態 23. 抗体部分が、IgG、IgA、IgD、IgE、IgM 由来の Fc フラグメント、ならびにそれらの組み合わせおよびハイブリッドからなる群より選択される Fc フラグメントを有する、実施形態 1~22 のいずれか一つに記載の抗 CD93 構築物。

10

【0574】

実施形態 24. Fc フラグメントが、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、およびそれらの組み合わせおよびハイブリッドからの Fc フラグメントからなる群より選択される、実施形態 23 に記載の抗 CD93 構築物。

【0575】

実施形態 25. Fc フラグメントが、対応する野生型 Fc フラグメントと比較して低下したエフェクター機能を有する、実施形態 23 または実施形態 24 に記載の抗 CD93 構築物。

20

【0576】

実施形態 26. Fc フラグメントが、対応する野生型 Fc フラグメントと比較して増強されたエフェクター機能を有する、実施形態 23 または実施形態 24 に記載の抗 CD93 構築物。

【0577】

実施形態 27. 抗体部分が、IGFBP7 への CD93 の結合を遮断する、実施形態 1~26 のいずれか一つに記載の抗 CD93 構築物。

【0578】

実施形態 28. 抗体部分が、MMRN2 への CD93 の結合を遮断する、実施形態 1~26 のいずれか一つに記載の抗 CD93 構築物。

30

【0579】

実施形態 29. CD93 がヒト CD93 である、実施形態 1~22 のいずれか一つに記載の抗 CD93 構築物。

【0580】

実施形態 30. 実施形態 1~29 のいずれか一つに記載の抗 CD93 構築物と、薬学的に許容され得る担体とを含む医薬組成物。

【0581】

実施形態 31. 実施形態 1~28 のいずれか一つに記載の抗 CD93 構築物またはその一部をコードする単離された核酸。

【0582】

実施形態 32. 実施形態 31 に記載の単離された核酸を含むベクター。

40

【0583】

実施形態 33. 実施形態 31 に記載の単離された核酸または実施形態 32 に記載のベクターを含む単離された宿主細胞。

【0584】

実施形態 34. 治療剤または標識に連結された実施形態 1~29 のいずれか一つに記載の抗 CD93 構築物を含む免疫コンジュゲート。

【0585】

実施形態 35. 抗 CD93 構築物を産生する方法であって、

a) 実施形態 33 に記載の単離された宿主細胞を、抗 CD93 構築物を発現するのに有効

50

な条件下で培養することと、

b) 発現された抗CD93構築物を宿主細胞から得ることを含む、方法。

【0586】

実施形態36. 個体における疾患または状態を処置する方法であって、個体に、有効量の実施形態1～29のいずれか一つに記載の抗CD93構築物、または実施形態30に記載の医薬組成物を投与することを含む、方法。

【0587】

実施形態37. 疾患または状態が異常な血管構造に関連する、実施形態36に記載の方法。

【0588】

実施形態38. 疾患または状態ががんである、実施形態36または実施形態37に記載の方法。

【0589】

実施形態39. がんが固形腫瘍である、実施形態38に記載の方法。

【0590】

実施形態40. がんがCD93+内皮細胞を含む、実施形態38または実施形態39に記載の方法。

【0591】

実施形態41. がんがIGFBP7+血管を含む、実施形態38～40のいずれか一つに記載の方法。

【0592】

実施形態42. がんがMMRN2+血管を含む、実施形態38～41のいずれか一つに記載の方法。

【0593】

実施形態43. がんが腫瘍低酸素を特徴とする、実施形態38～42のいずれか一つに記載の方法。

【0594】

実施形態44. がんが局所進行がんまたは転移がんである、実施形態38～43のいずれか一つに記載の方法。

【0595】

実施形態45. がんが、リンパ腫、結腸がん、脳腫瘍、乳がん、卵巣がん、子宮内膜がん、食道がん、前立腺がん、子宮頸がん、腎がん、膀胱がん、胃がん、非小細胞肺癌、黒色腫、および脾臓がんからなる群より選択される、実施形態38～44のいずれか一つに記載の方法。

【0596】

実施形態46. 抗CD93構築物を前記個体に非経口投与する、実施形態36～45のいずれか一つに記載の方法。

【0597】

実施形態47. 第二の治療を投与することをさらに含む、実施形態36～46のいずれか一つに記載の方法。

【0598】

実施形態48. 第二の治療が、手術、放射線、遺伝子治療、免疫療法、骨髄移植、幹細胞移植、ホルモン治療、標的化治療、寒冷療法、超音波治療、光ダイナミック療法、および化学療法からなる群より選択される、実施形態47に記載の方法。

【0599】

実施形態49. 第二の治療が免疫療法である、実施形態48に記載の方法。

【0600】

実施形態50. 免疫療法が、免疫調節剤を投与することを含む、実施形態49に記載の方法。

【0601】

10

20

30

40

50

実施形態 51. 免疫調節剤が免疫チェックポイント阻害剤である、実施形態 50 に記載の方法。

【0602】

実施形態 52. 免疫チェックポイント阻害剤が、抗 PD-L1 抗体または抗 PD-1 抗体を含む、実施形態 51 に記載の方法。

【0603】

実施形態 53. 個体がヒトである、実施形態 36～52 のいずれか一つに記載の方法。

【実施例】

【0604】

以下の実施例は、本出願の純粋に例示を意図しており、したがって、決して本出願を限定すると見なされるべきではない。以下の実施例および詳細な説明は、限定ではなく例示として提供される。

【0605】

実施例 1. マウス抗ヒト CD93 モノクローナル抗体の作製

4 匹の NZBWF1 マウスをヒト CD93 組換えタンパク質 (Sino Biologicals) で免疫した。マウスに、100  $\mu$ g の抗原と 100  $\mu$ L の完全フロイントアジュバントとの混合物による 1 回の初回免疫を腹腔内投与し、続いて 100  $\mu$ L の不完全フロイントアジュバントと混合した 100  $\mu$ g の抗原の 2 回の追加免疫を腹腔内投与した。血清力価を試験し、ELISA および FACS アッセイによって確認した。脾臓採取の 5 日前に、80  $\mu$ g の抗原による最終的な IP ブーストをマウスに送達した。免疫したマウス由来の脾臓細胞の単細胞懸濁物をマウス骨髓腫細胞株に融合した。融合ハイブリドーマ上清を、ELISA アッセイによってヒト CD93 タンパク質への特異的結合についてスクリーニングし、続いて CD93 を発現する CHO 細胞を用いた FACS スクリーニングを行った。簡潔には、FACS スクリーニングのために、ハイブリドーマ上清中の CD93 結合抗体の存在を、PE で標識したヤギ抗マウスポリクローナル抗体によって明らかにした。FACS 陽性 CD93 特異的ハイブリドーマをサブクロニングし、ELISA および FACS アッセイによってさらに確認した。精製モノクローナル抗体を、機能的 IGFBP 7 / CD93 遮断および HUV EC チューブ形成アッセイによって特徴づけた。得られたハイブリドーマ 16E4、17B10 および 7F3 を代表的な抗体クローンとして同定した。

【0606】

実施例 2. CD93 モノクローナル抗体のクローニングおよび配列決定

【0607】

試料調製

全 RNA をハイブリドーマ細胞株培養物 ( $2 \times 10^6$  細胞) から単離した。RNA を処理して異常な転写物を除去し、オリゴ (dT) プライマーを使用して逆転写した。得られた cDNA の試料を、フレームワーク 1 および重鎖または軽鎖のいずれかに特異的な定常領域プライマー対を使用して別々の PCR で増幅した。反応産物をアガロースゲルで分離し、サイズ評価し、回収した。場合によっては、第二のネステッド PCR を実施して、所望のフラグメント (複数可) の収量を増加させた。TA クローニング戦略を使用して、アンプリコンを pCR (登録商標) 4-TOPO ベクターにクローニングした。15 個のコロニーを選択し、ベクター DNA 配列に特異的なプライマーを使用してプラスミド DNA を増幅した。各クローニングされた挿入物の PCR 産物サイズをゲル電気泳動によって評価し、PCR クリーンアップキットを使用し、蛍光色素ターミネーターおよびキャピラリーベースの電気泳動を用いたサイクル配列決定を使用して、配列決定のために 6 つの反応物を調製した。PCR 産物および TA クローニング多重プラスミド DNA の両方をサンガー配列決定に供した。

【0608】

配列解析

【0609】

10

20

30

40

50

すべての構築物からのDNA配列データを分析し、重鎖および軽鎖のコンセンサス配列を決定した。Kabatナンバリングによる、またはVBASE2ツールに基づいて決定された、V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub> CDRのアラインメントについては、図7A～図7Bおよび図8A～図8Bを参照されたい。表3および4は、様々な抗体およびコンセンサス配列のV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub> CDRを列挙する。

【表3-1】

表3. 様々な抗体のV<sub>H</sub> CDRおよびコンセンサス配列。

|      | CDRH1                | CDRH2                               | CDRH3                     |
|------|----------------------|-------------------------------------|---------------------------|
| 10B1 | SFGVN<br>(配列番号 1)    | VIWSGGSTDYNVAFIS<br>(配列番号 2)        | NWRYDGYFYAMDY<br>(配列番号 3) |
| 19B5 | NYYSMS<br>(配列番号 193) | TISNNGDSTYYLDTV<br>KG<br>(配列番号 194) | VGTGFTY<br>(配列番号 195)     |

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

|                                  | CDRH1                                                                                           | CDRH2                                                                                                                                                     | CDRH3                                                                |
|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| 16G9                             | DYYMN<br>( 配列番号 49)                                                                             | RVNPNNGGKTYNQKF<br>KG<br>( 配列番号 50)                                                                                                                       | WRLRP-VDYGMDY<br>( 配列番号 51)                                          |
| 16A1                             | DHGIH<br>( 配列番号 145)                                                                            | NISPGNGDIKYNEKFK<br>G<br>( 配列番号 146)                                                                                                                      | YFVD<br>( 配列番号 147)                                                  |
| 20C7                             | AYVMH<br>( 配列番号 113)                                                                            | YIFPYNDGTEYNEKFK<br>G<br>( 配列番号 114)                                                                                                                      | RTDGNPYTMDY<br>( 配列番号 115)                                           |
| 17E6                             | SYVIH<br>( 配列番号 209)                                                                            | YINPYSDYTQYNEKF<br>KG<br>( 配列番号 210)                                                                                                                      | RADGNPYAMDY<br>( 配列番号 211)                                           |
| 16E4                             | SYWMH<br>( 配列番号 17)                                                                             | EIDPSASYTYYNQKFK<br>G<br>( 配列番号 18)                                                                                                                       | SVYYGKNKYFDV<br>( 配列番号 19)                                           |
| 12H4                             | DYYIH<br>( 配列番号 129)                                                                            | EIYPGSDDAYYNEKF<br>KG<br>( 配列番号 130)                                                                                                                      | ETTATAY<br>( 配列番号 131)                                               |
| 5H9                              | TYWMN<br>( 配列番号 33)                                                                             | RIFPGDGDANYNGKF<br>KG<br>( 配列番号 34)                                                                                                                       | TGAAYDFDPFPY<br>( 配列番号 35)                                           |
| 17A7                             | TYWMN<br>( 配列番号 161)                                                                            | RIFPGDGD TDYDGKF<br>KG<br>( 配列番号 162)                                                                                                                     | TGAAYEFDPFPY<br>( 配列番号 163)                                          |
| 16B6                             | RSWMN<br>( 配列番号 97)                                                                             | WIYPGDGDTNYNGKF<br>KG<br>( 配列番号 98)                                                                                                                       | SATLPYWYFDV<br>( 配列番号 99)                                            |
| 17B10                            | SYWLN<br>( 配列番号 177)                                                                            | RIYPGDGDTDYNQKF<br>KG<br>( 配列番号 178)                                                                                                                      | GDGYWAMDY<br>( 配列番号 179)                                             |
| 19E12                            | DYEMH<br>( 配列番号 65)                                                                             | GIDPETGGTAYNQKF<br>KG<br>( 配列番号 66)                                                                                                                       | GAWFAY<br>( 配列番号 67)                                                 |
| 17G11                            | SYWMH<br>( 配列番号 81)                                                                             | AIYPGNSDTSYNQKF<br>KG<br>( 配列番号 82)                                                                                                                       | GGFDYSNYWFAY<br>( 配列番号 83)                                           |
| 7F3                              | DYEMH<br>( 配列番号 289)                                                                            | GIDPETGDTAYNQNF<br>KG<br>( 配列番号 290)                                                                                                                      | YGNLYYYAMDY<br>( 配列番号 291)                                           |
| 5H9/17A7<br>に基づく<br>コンセンサス<br>配列 | TYWMN<br>( 配列番号 33)                                                                             | RIFPGDGD $X_1X_2YX_3$ GK<br>FKG<br>$X_1X_2 = \text{AN}$ または $\text{TD}$ , $X_3 = \text{N}$ または $\text{D}$<br>( 配列番号 233)                                  | TGAAY $X_1$ FDPFPY<br>$X_1 = \text{D}$ または $\text{E}$<br>( 配列番号 234) |
| 5H9/17A7/1<br>7B10<br>に基づく       | $X_1YWX_2N$<br>$X_1 = \text{S}$ または $\text{T}$ , $X_2 = \text{L}$ または $\text{M}$<br>( 配列番号 236) | RIX <sub>1</sub> PGDGD $X_2X_3YX_4$ G<br>KFKG<br>$X_1 = \text{Y}$ または $\text{F}$ , $X_2X_3 = \text{TD}$ または $\text{AN}$ , $X_4 = \text{N}$ または $\text{D}$ |                                                                      |

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

|                                   | CDRH1                                                                                                 | CDRH2                                                                                                                                                                                             | CDRH3                                                                                                    |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| コンセンサス配列                          |                                                                                                       | ( 配列番号 237)                                                                                                                                                                                       |                                                                                                          |
| 20C7/17E6<br>に基づく<br>コンセンサス<br>配列 | X <sub>1</sub> YVX <sub>2</sub> H<br>X <sub>1</sub> = AまたはS, X <sub>2</sub> =<br>MまたはI<br>( 配列番号 241) | YIX <sub>1</sub> PYX <sub>2</sub> DX <sub>3</sub> TX <sub>4</sub> YNE<br>KFKG<br>X <sub>1</sub> = FまたはN, X <sub>2</sub> = NまたはS,<br>X <sub>3</sub> = GまたはY, X <sub>4</sub> = EまたはQ<br>( 配列番号 242) | RX <sub>1</sub> DGNPYX <sub>2</sub> MDY<br>X <sub>1</sub> = TまたはA, X <sub>2</sub> = TまたはA<br>( 配列番号 243) |

10

【表 4 - 1】

表4. 様々な抗体のV<sub>L</sub> CDRおよびコンセンサス配列。

|                              | CDRL1                                                                                                                                                  | CDRL2                                           | CDRL3                                               |
|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 19E12                        | RSSTGAVTTSNSAN<br>( 配列番号 68)                                                                                                                           | GTNNRAP<br>( 配列番号 69)                           | ALWYNNHFV<br>( 配列番号 70)                             |
| 19B5                         | RASQSINNYLH<br>( 配列番号 196)                                                                                                                             | FASQSI<br>( 配列番号 197)                           | QQSNSWPLT<br>( 配列番号 198)                            |
| 5H9                          | SSSKSLLHSNGVTYLY<br>( 配列番号 36)                                                                                                                         | RMSNLAS<br>( 配列番号 37)                           | AQMLERPFT<br>( 配列番号 38)                             |
| 17A7                         | SSTKSLLHSSGITYLY<br>( 配列番号 164)                                                                                                                        | RMSNLAS<br>( 配列番号 165)                          | AQMLERPFT<br>( 配列番号 166)                            |
| 17B10                        | RFSKSLLHSNGITYLY<br>( 配列番号 180)                                                                                                                        | QMSNLAS<br>( 配列番号 181)                          | AQNLELPWT<br>( 配列番号 182)                            |
| 16A1                         | KSSQSLNSNNQKNCLA<br>( 配列番号 148)                                                                                                                        | FACTRES<br>( 配列番号 149)                          | QQHCNTPLT<br>( 配列番号 150)                            |
| 17G11                        | KASQSVSNDVA<br>( 配列番号 84)                                                                                                                              | YASNRYT<br>( 配列番号 85)                           | QQDYSSYT<br>( 配列番号 86)                              |
| 10B1                         | KASQNVGTNVA<br>( 配列番号 4)                                                                                                                               | SASYRFI<br>( 配列番号 5)                            | QQYNRNPI<br>( 配列番号 6)                               |
| 20C7                         | KASQDVSTAVA<br>( 配列番号 116)                                                                                                                             | SASYRYT<br>( 配列番号 117)                          | QQHYSTPFT<br>( 配列番号 118)                            |
| 17E6                         | KASQDVSTAVV<br>( 配列番号 212)                                                                                                                             | SASYRYT<br>( 配列番号 213)                          | QQHYSTPFT<br>( 配列番号 214)                            |
| 16B6                         | KASQDIKSYLS<br>( 配列番号 100)                                                                                                                             | YATNLAD<br>( 配列番号 101)                          | LQHVESPWT<br>( 配列番号 102)                            |
| 12H4                         | SASSSVSLIY<br>( 配列番号 132)                                                                                                                              | STSNLAS<br>( 配列番号 133)                          | QQRSGYPPT<br>( 配列番号 134)                            |
| 16E4                         | KASQSVDYAGDSYMN<br>( 配列番号 20)                                                                                                                          | AASNLES<br>( 配列番号 21)                           | QQTNEDPRT<br>( 配列番号 22)                             |
| 16G9                         | RASQSVSTSSYSYMH<br>( 配列番号 52)                                                                                                                          | YASNLES<br>( 配列番号 53)                           | QHSWEIPFT<br>( 配列番号 54)                             |
| 7F3                          | RASSSVSSSYLH<br>( 配列番号 292)                                                                                                                            | STSNLAF<br>( 配列番号 293)                          | QQYSGYPLT<br>( 配列番号 294)                            |
| 5H9/17A7<br>に基づく<br>コンセンサス配列 | SSX <sub>1</sub> KSLLHSX <sub>2</sub> GX <sub>3</sub> TYLY<br>X <sub>1</sub> = SまたはT, X <sub>2</sub> = NまたはS, X <sub>3</sub> =<br>VまたはI<br>( 配列番号 235) | RMSNLAS<br>( 配列番号 37)                           | AQMLERPFT<br>( 配列番号 38)                             |
| 5H9/17A7/1<br>7B10           | X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> KSLLHSX <sub>4</sub> GX <sub>5</sub> TYLY                                                                 | X <sub>1</sub> MSNLAS<br>X <sub>1</sub> = RまたはQ | AQX <sub>1</sub> LEX <sub>2</sub> PX <sub>3</sub> T |

20

30

40

50

【表 4 - 2】

|                                        | CDRL1                                                                                                                                                                                                                                                                                            | CDRL2                                                                                                                                      | CDRL3                                                                                                                                                                                                                                   |
|----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| に基づく<br>コンセンサス配列                       | X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> =SSS、SST、またはRFS、<br>X <sub>4</sub> =NまたはS、X <sub>5</sub> =VまたはI<br>( 配列番号 238)                                                                                                                                                                      | ( 配列番号 239)                                                                                                                                | X <sub>1</sub> =MまたはN、X <sub>2</sub> =<br>RまたはL、X <sub>3</sub> =FまたはW<br>( 配列番号 240)                                                                                                                                                    |
| 20C7/17E6<br>に基づく<br>コンセンサス配列          | KASQDVSTAVX <sub>1</sub><br>X <sub>1</sub> = AまたはV<br>( 配列番号 244)                                                                                                                                                                                                                                | SASYRYT<br>( 配列番号 117)                                                                                                                     | QQHYSTPFT<br>( 配列番号 118)                                                                                                                                                                                                                |
| 10B1/20C7/1<br>7E6<br>に基づく<br>コンセンサス配列 | KASQX <sub>1</sub> VX <sub>2</sub> TX <sub>3</sub> VX <sub>4</sub><br>X <sub>1</sub> =NまたはD、X <sub>2</sub> =GまたはS、<br>X <sub>3</sub> = NまたはA、X <sub>4</sub> =AまたはV<br>( 配列番号 245)                                                                                                                | SASYRX <sub>1</sub> X <sub>2</sub><br>X <sub>1</sub> =FまたはY、X <sub>2</sub> =IまたはT<br>X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> =FIまたはYT<br>( 配列番号 246) | QQX <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> PX <sub>5</sub> T<br>X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> =YNRN<br>またはHYST、X <sub>5</sub> =IまたはF<br>( 配列番号 247)                                    |
| 16E4/16G9<br>に基づく<br>コンセンサス配列          | X <sub>1</sub> ASQSVX <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> SYM <sub>7</sub> X <sub>8</sub><br>X <sub>1</sub> = KまたはR、<br>X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> =DYAGD または<br>STSSY、X <sub>7</sub> =NまたはH<br>( 配列番号 248) | X <sub>1</sub> ASNLES<br>X <sub>1</sub> =AまたはY<br>( 配列番号 249)                                                                              | QX <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> PX <sub>6</sub> T<br>X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> =QTN<br>EDまたはHSWEI、<br>X <sub>6</sub> =RまたはF<br>( 配列番号 250) |

10

20

## 【0610】

コンセンサス配列は、アーチファクトおよび／またはプロセス汚染を排除するために既知の変領域配列と比較される。次いで、コンセンサス配列をオンラインツールを使用して分析して、配列が生産性免疫グロブリンをコードできることを検証する。

## 【0611】

実施例 3．バイオレイヤー干渉法 (BLI) アッセイによって測定されたヒトおよびカニクイザル CD93 に対する抗 CD93 抗体の結合親和性

Octet QKe (Fortebio) を使用したバイオレイヤー干渉法により、抗 CD93 抗体の結合親和性を決定した。ヒト CD93 組換えタンパク質 (Sino Biological Inc.、カタログ番号 12589-H08H) またはカニクイザル CD93 タンパク質 (社内で作製) を、EZ-LINK NHS-PEG4 ビオチン (Thermo Fisher Scientific) を用いてビオチン化した。ストレプトアビジンバイオセンサー (Fortebio) を使用してビオチン化 CD93 タンパク質をロードした (5 μg/ml で 300 秒)。ベースラインを 1 倍動態緩衝液 (kinetic buffer) (Fortebio) 中で 60 秒間安定化した後、段階希釈した抗 CD93 抗体を捕捉タンパク質と 300 秒間会合させた。センサーを 1 倍動態緩衝液中で 600 秒間解離させた。Fortebio Data Analysis HT 11.1 ソフトウェアでデータ分析を行った。

30

## 【0612】

図 1 および図 9 に示されるように、16E4、10B1、7F3 および参照抗体 MM01 はすべて、ヒト CD93 に効果的に結合する。16E4 および MM01 はカニクイザル CD93 にも結合する (図 1)。10B1 および 7F3 はカニクイザル CD93 にも結合する (データは示さず)。

40

## 【0613】

実施例 4．蛍光活性化細胞選別 (FACS) アッセイによって決定されたヒト CD93 を細胞表面発現する CHO 細胞への抗 CD93 抗体の結合

ヒト CD93 を発現する CHO 細胞を、細胞表面上の CD93 の完全性を維持する TrypLE 試薬 (Thermo Fisher) とのインキュベーションによって剥離した。次いで、細胞を抗 CD93 抗体および参照抗体 MM01 (Sino Biological Inc.、カタログ番号 12589-MM01) と共に 10 μg/ml で 4℃ に

50

て30分間インキュベートした。FACS緩衝液で洗浄した後、細胞をAlexa Fluor 488コンジュゲート抗ヒトIgGまたは抗マウスIgG抗体（Jackson ImmunoResearch）と共に4℃で30分間インキュベートした。FACS緩衝液を用いて2回洗浄した後、試料をNovoCyt Flow Cytometerで取得し、NovoExpressソフトウェアによって分析した。抗体16E4、10B1および7F3を、CHO-K1細胞への結合について同様に試験した。

【0614】

図2および図10に示されるように、15個すべてのハイブリドーマクローン、同様にまた、市販の抗体MM01は、（抗CD93 mAbおよびコントロールに対応するピークの分離によって証明されるように）hCD93を発現するCHO細胞に結合し、CHO-K1細胞と16E4、10B1または7F3との間には、（ピークの分離が存在しないことによって証明されるように）結合が存在しない。

10

【0615】

実施例5．抗CD93抗体処理によるヒトCD93を発現するCHO細胞におけるIGFBP7／CD93遮断アッセイ

ヒトCD93を発現するCHO細胞（ウェルあたり $1 \times 10^5$ 個）を、4℃で30分間、段階濃度の抗CD93抗体またはアイソタイプ対照で処理した。次いで、細胞をHisタグ付きヒトIGFBP7組換えタンパク質（ $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）と共に4℃でさらに30分間インキュベートした。次いで、細胞をFACS緩衝液で洗浄し、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ のウサギ抗IGFBP7抗体（Sino Biological Inc.、カタログ番号13100-R003）と共に4℃で30分間インキュベートした。インキュベーション後、細胞をFACS緩衝液で洗浄し、PEコンジュゲート抗ウサギIgG抗体（Biolegend）と共に4℃で30分間インキュベートした。FACS緩衝液で2回洗浄した後、試料を分析し、NovoCyt Flowでデータを取得した。

20

【0616】

図3A～図3Dに示すように、16E4 mAbは、 $0.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ の最低濃度を含む様々な濃度でCD93とIGFBP7との間の相互作用を効果的に遮断する（抗CD93 mAbと陰性対照に対応するピーク間の分離の減少によって証明される）。図14は、7F3が $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ でCD93とIGFBP7との間の相互作用を効果的に遮断することを示す（対照ピークの「肩」の消失によって証明される）。

30

【0617】

実施例6．抗CD93抗体処理によるヒトCD93を発現するCHO細胞におけるMMRN2／CD93遮断アッセイ

ヒトCD93を発現するCHO細胞（ウェルあたり $1 \times 10^5$ 個）を、4℃で30分間、 $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ の抗CD93抗体（16E4、10B1、および7F3）またはアイソタイプ対照で処理した。次いで、細胞をHisタグ付きMMRN2組換えタンパク質またはビオチン化MMRN2タンパク質（ $0.1 \sim 0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）と共に4℃でさらに30分間インキュベートした。インキュベーション後、細胞をFACS緩衝液で洗浄し、抗HisコンジュゲートAPCまたはストレプトアビジンコンジュゲートAPCと1：500の比で4℃で30分間インキュベートした。FACS緩衝液を用いて2回洗浄した後、試料を分析し、NovoCyt Flowでデータを取得した。

40

【0618】

図11A～図11Bに示されるように、7F3 mAbは、MMRN2とCD93との間の相互作用を効果的に遮断する（7F3 mAbと対照に対応するピーク間の分離の減少によって証明される；図11A： $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ のMMRN2；図11B： $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）。16E4および10B1は、MMRN2とCD93との間の相互作用の有意な遮断を示さない。

【0619】

7F3 mIgG1、5H9 mIgG2aおよび16E4 mIgG2aによるCD93／MMRN2の遮断を、IgG2aを陰性対照として用い、 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$  MM

50

R N 2 4 9 5 - 6 7 4 および  $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$  の高さの M M R N 2 4 9 5 - 6 7 4 ( 社 内 で 製造 ) で 上 記 の よう に さ ら に 試 験 し た。

【 0 6 2 0 】

図 1 2 に 示 す よう に、7 F 3 は、 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$  の M M R N 2 4 9 5 - 6 7 4 および  $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$  の M M R N 2 4 9 5 - 6 7 4 で C D 9 3 / M M R N 2 相 互 作 用 を 効 果 的 に 遮 断 す る ( 7 F 3 ピークの左へのシフトによって証明される)。図 1 3 に 示 す よう に、7 F 3 は 又 た、 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$  の M M R N 2 で C D 9 3 / M M R N 2 相 互 作 用 を 効 果 的 に 遮 断 す る ( 7 F 3 ピークの左へのシフトによって証明される)。

【 0 6 2 1 】

実施例 7. H U V E C チューブ形成阻害アッセイ

ヒト臍静脈内皮細胞 ( H U V E C , T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c , W a l t h a m , M A ) を、低血清成長サプリメント ( L S G S , T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c , W a l t h a m , M A ) を 補 充 し た 培 地 2 0 0 中、 $37^{\circ}\text{C}$ 、5 %  $\text{CO}_2$  で 培 養 し た。9 6 ウェルプレートに  $50 \mu\text{l}$  の G e l t r e x 低 成 長 因 子 基 底 膜 マ ト リ ッ ク ス ( T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c ) で コーティングし、 $37^{\circ}\text{C}$  で 3 0 分 間 インキュベートした。チューブ形成に対するハイブリドーマ抗体の効果を調べるために、 $2 \times 10^4$  個の H U V E C 細胞をマトリックス被覆プレートに播種し、精製ハイブリドーマ抗体の存在下または非存在下、 $37^{\circ}\text{C}$ 、5 %  $\text{CO}_2$  で 1 8 時 間 インキュベートした。アバスチン-I L 1 0 融 合 タ ン パ ク 質 を 対 照 と し て 使 用 し た。光学顕微鏡を用いて画像を得た。

【 0 6 2 2 】

図 4 A ~ 図 4 F および 図 1 5 A ~ 図 1 5 B に 示 さ れ る よう に、1 0 B 1、1 6 E 4、5 H 9、1 6 G 9、1 9 E 1 2 および 7 F 3 を 含 む ハイブリドーマ抗体は、 $4 \mu\text{g}/\text{ml}$  および / または  $8 \mu\text{g}/\text{ml}$  の 濃 度 で チューブ形成を効果的に阻害する。具体的には、1 0 B 1 または 1 6 E 4 で 処 理 し た H U V E C の 総 チューブ長は、陰性対照の総チューブ長と比較して 4 5 % および 6 1 . 5 % に 減 少 す る。 $8 \mu\text{g}/\text{ml}$  の 7 F 3 で 処 理 し た H U V E C の 総 チューブ長は、陰性対照と比較して 7 1 . 7 % に 減 少 し、 $4 \mu\text{g}/\text{ml}$  で 7 3 . 5 % に 減 少 す る。1 0 B 1 は、同じ用量でアバスチンと同等の阻害効果を達成した。

【 0 6 2 3 】

実施例 8. O c t e t 競合による抗 C D 9 3 抗体のエピトープビニングアッセイ

O c t e t Q K e ( F o r t e b i o ) を 使 用 し て 抗 C D 9 3 抗 体 エピトープのピンを決定した。ヒト C D 9 3 組換えタンパク質 ( S i n o B i o l o g i c a l I n c . 、カタログ番号 1 2 5 8 9 - H 0 8 H ) を、E Z - L I N K N H S - P E G 4 ビオチン ( T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c ) を 用 い て ビオチン化した。ストレプトアビジンバイオセンサーチップ ( F o r t e b i o ) を 使 用 し て ビオチン化ヒト C D 9 3 タンパク質を捕捉した ( $5 \mu\text{g}/\text{ml}$  で 3 0 0 秒)。ベースラインを 1 倍動態緩衝液 ( F o r t e b i o ) 中 で 6 0 秒 間 安 定 化 し た 後、一次抗 C D 9 3 抗体 ( $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) を 捕 捉 タ ン パ ク 質 と 3 0 0 秒 間 会 合 さ せ た。次いで、一連の二次抗 C D 9 3 抗体 ( $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) を 抗 原 お よ び 一 次 抗 体 複 合 体 と さ ら に 3 0 0 秒 間 会 合 さ せ た。各結合事象についてシグナルを記録し、F o r t e B i o D a t a A n a l y s i s H T 1 1 . 1 ソフトウェアでデータ分析を行った。

【 0 6 2 4 】

図 5 A ~ 図 5 B に 示 さ れ る よう に、5 H 9、1 0 B 1、1 6 E 4、1 6 G 9、1 9 E 1 2、1 6 B 6、および M M 0 1 は、それらの間で結合ペアとして働き、それらが C D 9 3 における異なるエピトープに結合することを示す。

【 0 6 2 5 】

実施例 9. バイオレイヤー干渉法 ( B L I ) アッセイによって測定された抗 C D 9 3 m A b のヒトおよびカニクイザル C D 9 3 抗原交差結合活性

O c t e t Q K e ( F o r t e b i o ) を 使 用 し た バイオレイヤー干渉法により、抗 C D 9 3 抗体の結合親和性を決定した。ヒト C D 9 3 組換えタンパク質 ( S i n o B i

10

20

30

40

50

ological Inc.、カタログ番号12589-H08H)またはカニクイザルCD93タンパク質(社内で作製)を、EZ-LINK NHS-PEG4ビオチン(Thermo Fisher Scientific)を用いてビオチン化した。ストレプトアビジンバイオセンサー(Fortebio)を使用してビオチン化CD93タンパク質をロードした(5 µg/mlで300秒)。ベースラインを1倍動態緩衝液(Fortebio)中で60秒間安定化した後、段階希釈での抗CD93抗体を捕捉タンパク質と300秒間会合させた。次いで、センサーを1倍動態緩衝液中で600秒間解離させた。ForteBio Data Analysis HT 11.1ソフトウェアでデータ分析を行った。

【0626】

図6A～6Bに示すように、5H9、12H4、16B6、16E4、16G9、17A7、17B10、17E6、19B5、19E12、20C7ならびにMM01はカニクイザルCD93と交差反応したが、7C10、16A1、および17G11はカニクイザルCD93と交差反応しなかった。

【0627】

表5は、様々な抗CD93抗体の特性の概要である。

【表5】

表5. 様々な抗CD93抗体の特性の概要。

| クローン名 | 結合  | CD93とIGFBP7の間の遮断(FACS) | CD93とMN2の間の遮断(FACS) | HUVECチューブ阻害 | Cyno 交差(ELISA) |
|-------|-----|------------------------|---------------------|-------------|----------------|
| 10B1  | +++ | +                      | -                   | +++         | +              |
| 16E4  | +++ | +++                    | -                   | +++         | +              |
| 5H9   | +++ | +                      | N.D.                | +           | +              |
| 19E12 | ++  | +                      | N.D.                | +           | +              |
| 16B6  | +++ | -                      | N.D.                | +           | +              |
| 17G11 | +++ | -                      | N.D.                | ++          | +              |
| 20C7  | +++ | -                      | N.D.                | ++          | +              |
| 16G9  | ++  | +                      | N.D.                | +           | +              |
| 12H4  | +++ | +                      | N.D.                | +           | +              |
| 16A1  | ++  | -                      | N.D.                | +           | +              |
| 17A7  | +++ | -                      | N.D.                | -           | +              |
| 17B10 | +++ | +                      | N.D.                | +           | +              |
| 17E6  | +++ | -                      | N.D.                | ++          | +              |
| 19B5  | ++  | -                      | N.D.                | -           | +              |
| 7F3   | +++ | +++                    | +++                 | +++         | +              |

【0628】

実施例10. 抗CD93抗体のヒト化およびVEGFを阻害する抗CD93構築物の作製  
例示的なヒト化抗CD93重鎖可変配列および軽鎖可変配列を生成した。配列表の配列番号307～324および347～365を参照されたい。16E4、17B10、16A1および7F3ヒト化重鎖可変領域配列および軽鎖可変領域配列のCDR配列を分析し、表6～7に示した。

【表 6 - 1】

表6. 抗CD93抗体およびヒト化配列の重鎖CDR。

|               | HC-CDR1                | HC-CDR2                         | HC-CDR3                   | HC<br>可変領域配列 |
|---------------|------------------------|---------------------------------|---------------------------|--------------|
| 16E4<br>( 親 ) | SYWMH<br>( 配列番号<br>17) | EIDPSASYTYYNQKFKG<br>( 配列番号 18) | SVYYGNKYFDV<br>( 配列番号 19) | 配列番号<br>29   |
| 16E4<br>VH1   | SYWMH<br>( 配列番号<br>17) | EIDPSASYTYYNQKFKG<br>( 配列番号 18) | SVYYGNKYFDV<br>( 配列番号 19) | 配列番号<br>307  |
| 16E4<br>VH2   | SYWMH<br>( 配列番号<br>17) | EIDPSASYTYYNQKFKG<br>( 配列番号 18) | SVYYGNKYFDV<br>( 配列番号 19) | 配列番号<br>308  |

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

|              | HC-CDR1                 | HC-CDR2                         | HC-CDR3                   | HC<br>可変領域配列 |
|--------------|-------------------------|---------------------------------|---------------------------|--------------|
| 16E4<br>VH3  | SYWMH<br>(配列番号<br>17)   | EIDPSASYTYYNQKFKG<br>(配列番号 18)  | SVYYGNKYFDV<br>(配列番号 19)  | 配列番号<br>309  |
| 16E4<br>VH4  | SYWMH<br>(配列番号<br>17)   | EIDPSASYTYYNQKFKG<br>(配列番号 18)  | SVYYGNKYFDV<br>(配列番号 19)  | 配列番号<br>310  |
| 16E4<br>VH5  | SYWIIH<br>(配列番号<br>304) | EIEPSASYTYYNQKFKG<br>(配列番号 305) | SVYYGNKYFDV<br>(配列番号 19)  | 配列番号<br>311  |
| 16E4<br>VH6  | SYWMH<br>(配列番号<br>17)   | EIDPSASYTYYNQKFKG<br>(配列番号 18)  | SVYYGNKYFDV<br>(配列番号 19)  | 配列番号<br>312  |
| 17B10<br>(親) | SYWLN<br>(配列番号<br>177)  | RIYPGDGDTDYNGKFKG<br>(配列番号 178) | GDGYWAMDY<br>(配列番号 179)   | 配列番号<br>189  |
| 17B10<br>VH1 | SYWLN<br>(配列番号<br>177)  | RIYPGDGDTDYNGKFKG<br>(配列番号 178) | GDGYWAMDY<br>(配列番号 179)   | 配列番号<br>347  |
| 17B10<br>VH2 | SYWLN<br>(配列番号<br>177)  | RIYPGDGDTDYNGKFKG<br>(配列番号 178) | GDGYWAMDY<br>(配列番号 179)   | 配列番号<br>348  |
| 17B10<br>VH3 | SYWLN<br>(配列番号<br>177)  | RIYPGDGDTDYNGKFKG<br>(配列番号 178) | GDGYWAMDY<br>(配列番号 179)   | 配列番号<br>349  |
| 16A1<br>(親)  | DHGIH<br>(配列番号<br>145)  | NISPGNGDIKYNEKFKG<br>(配列番号 146) | YFVD (配列番号<br>147)        | 配列番号<br>157  |
| 16A1<br>VH1  | DHGIH<br>(配列番号<br>145)  | NISPGNGDIKYNEKFKG<br>(配列番号 146) | YFVD (配列番号<br>147)        | 配列番号<br>360  |
| 16A1<br>VH2  | DHGIH<br>(配列番号<br>145)  | NISPGNGDIKYNEKFKG<br>(配列番号 146) | YFVD (配列番号<br>147)        | 配列番号<br>361  |
| 16A1<br>VH3  | DHGIH<br>(配列番号<br>145)  | NISPGNGDIKYNEKFKG<br>(配列番号 146) | YFVD (配列番号<br>147)        | 配列番号<br>362  |
| 7F3<br>(親)   | DYEMH<br>(配列番号<br>289)  | GIDPETGDTAYNQNFKG<br>(配列番号 290) | YGNLYYYAMDY<br>(配列番号 291) | 配列番号<br>287  |
| 7F3 VH1      | DYEMH<br>(配列番号<br>289)  | GIDPETGDTAYNQNFKG<br>(配列番号 290) | YGNLYYYAMDY<br>(配列番号 291) | 配列番号<br>319  |
| 7F3 VH2      | DYEMH<br>(配列番号<br>289)  | GIDPETGDTAYNQNFKG<br>(配列番号 290) | YGNLYYYAMDY<br>(配列番号 291) | 配列番号<br>320  |

【表 6 - 3】

|         | HC-CDR1                | HC-CDR2                         | HC-CDR3                   | HC<br>可変領域配列 |
|---------|------------------------|---------------------------------|---------------------------|--------------|
| 7F3 VH3 | DYEMH<br>(配列番号<br>289) | GIDPETGDTAYNQNFKG<br>(配列番号 290) | YGNLYYYAMDY<br>(配列番号 291) | 配列番号<br>321  |

10

20

30

40

50

【表 7 - 1】

表7. 抗CD93抗体およびヒト化配列の軽鎖CDR。

|                | LC-CDR1                           | LC-CDR2                 | LC-CDR3                     | LC<br>可変領域配列 |
|----------------|-----------------------------------|-------------------------|-----------------------------|--------------|
| 16E4           | KASQSVDYAGDSYMN<br>( 配列番号 20)     | AASNLES<br>( 配列番号 21)   | QQTNEDPRT<br>( 配列番号 22)     | 配列番号<br>30   |
| 16E4<br>VL1    | KASQSVDYAGDSYLN<br>( 配列番号 301)    | AASNLES<br>( 配列番号 21)   | QQTNEDPRT<br>( 配列番号 22)     | 配列番号<br>313  |
| 16E4<br>VL2    | RASQSVDYAGDSYMN<br>( 配列番号 302)    | AASNLES<br>( 配列番号 21)   | QQTNEDPRT<br>( 配列番号 22)     | 配列番号<br>314  |
| 16E4<br>VL3    | RASQSVDYAGDSYLA<br>( 配列番号 303)    | AASNLES<br>( 配列番号 21)   | QQTNEDPRT<br>( 配列番号 22)     | 配列番号<br>315  |
| 16E4<br>VL4    | RASQSVDYAGDSYMN<br>( 配列番号 302)    | AASNLES<br>( 配列番号 21)   | QQTNEDPRT<br>( 配列番号 22)     | 配列番号<br>316  |
| 16E4<br>VL5    | RASQSVDYAGDSYLN<br>( 配列番号 306)    | AASNLES<br>( 配列番号 21)   | QQTNEDPRT<br>( 配列番号 22)     | 配列番号<br>317  |
| 16E4<br>VL6    | KASQSVDYAGDSYMN<br>( 配列番号 20)     | AASNLES<br>( 配列番号 21)   | QQTNEDPRT<br>( 配列番号 22)     | 配列番号<br>318  |
| 17B10<br>( 親 ) | RFSKSLLHSNGITYLY<br>( 配列番号 180)   | QMSNLAS ( 配列<br>番号 181) | AQNLELPWT<br>( 配列番号<br>182) | 配列番号<br>190  |
| 17B10<br>VL1   | RFSQSLLHSNGITYLY<br>( 配列番号 353)   | QMSNLAS ( 配列<br>番号 181) | AQNLELPWT<br>( 配列番号<br>182) | 配列番号<br>350  |
| 17B10<br>VL2   | RFSQSLLHSNGITYLY<br>( 配列番号 353)   | TMSNLAS ( 配列<br>番号 354) | AQNLELPWT<br>( 配列番号<br>182) | 配列番号<br>351  |
| 17B10<br>VL3   | RFSKSLLHSNGITYLY<br>( 配列番号 180)   | QMSNLAS ( 配列<br>番号 181) | AQNLELPWT<br>( 配列番号<br>182) | 配列番号<br>352  |
| 16A1<br>( 親 )  | KSSQSLLNSNNQKNCL<br>A ( 配列番号 148) | FACTRES ( 配列<br>番号 149) | QQHCNTPLT<br>( 配列番号<br>150) | 配列番号<br>158  |
| 16A1<br>VL1    | KSSQSLLNSNNQKNYL<br>A ( 配列番号 355) | FASTRES ( 配列<br>番号 356) | QQHYNTPLT<br>( 配列番号<br>357) | 配列番号<br>363  |
| 16A1<br>VL2    | KSSQSLLNSNNQKNSL<br>A ( 配列番号 358) | FASTRES ( 配列<br>番号 356) | QQHSNTPLT<br>( 配列番号<br>359) | 配列番号<br>364  |

10

20

30

40

【表 7 - 2】

|              | LC-CDR1                           | LC-CDR2             | LC-CDR3                  | LC<br>可変領域配列 |
|--------------|-----------------------------------|---------------------|--------------------------|--------------|
| 16A1<br>VL3  | KSSQSLLNSNNQKNCL<br>A ( 配列番号 148) | FASTRES ( 配列番号 356) | QQHCNTPLT<br>( 配列番号 150) | 配列番号<br>365  |
| 7F3<br>( 親 ) | RASSSVSSSYLH ( 配列番号 292)          | STSNLAF ( 配列番号 293) | QQYSGYPLT<br>( 配列番号 294) | 配列番号<br>288  |
| 7F3 VL1      | RASSSVSSSYLH ( 配列番号 292)          | STSNLAF ( 配列番号 293) | QQYSGYPLT<br>( 配列番号 294) | 配列番号<br>322  |
| 7F3 VL2      | RASSSVSSSYLH ( 配列番号 292)          | STSNLAF ( 配列番号 293) | QQYSGYPLT<br>( 配列番号 294) | 配列番号<br>323  |
| 7F3 VL3      | RASSSVSSSYLH ( 配列番号 292)          | STSNLAF ( 配列番号 293) | QQYSGYPLT<br>( 配列番号 294) | 配列番号<br>324  |

10

20

## 【0629】

表 6 および 7 に示すヒト化重鎖可変領域配列の 1 つとヒト化軽鎖可変領域配列の 1 つとをペアリングすることによって、様々なヒト化 16E4、17B10、16A1 および 7F3 を作製した。

## 【0630】

ヒト化 16E4 および 7F3 の SDS-PAGE 安定性分析を図 29 に示す。還元条件下および非還元条件下で SDS-PAGE を実施して、ヒト化 16E4 および 7F3 抗体の安定性を評価した。ヒト化 16E4 および 7F3 抗体を暗所で 40℃ にて 2 週間および 4 週間インキュベートした。最終試料を SDS-PAGE で泳動し、クマシーブルーで染色して、インキュベーション中に起こり得る抗体の視覚的变化を評価した。親ハイブリドーマ 16E4 を陽性対照として泳動した。インキュベーションの 0 日後、2 週間後または 4 週間後にこの SDS-PAGE 分析によって観察された組換えヒト化 16E4 および 7F3 に有意な変化はなかった。

30

## 【0631】

VEGF も標的とする抗 CD93 構築物を設計し、生成した。図 16 を参照されたい。例えば、VEGF トラップ (アフィベルセプト、例えば配列番号 325) を、7F3 およびそのヒト化配列 (例えば、配列番号 287、288 および 319~324) のいずれかの重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む全長ヒト IgG1 抗体の 2 つの重鎖の C 末端に、リンカー GSDKTHH (配列番号 338) を介して融合した。例示的な重鎖および軽鎖配列については、配列番号 342 および 343 を参照されたい。いくつかの実施形態では、重鎖または軽鎖は、重鎖または軽鎖の N 末端に融合したシグナルペプチド (例えば、配列番号 344、345、または 346) をさらに有する。

40

## 【0632】

実施例 11. 17B10 抗体を使用した動物研究

## 1. 同系 B16F10 モデル

抗 CD93 17B10 抗体の抗腫瘍効果を、Biocytogen の B16F10 黒色腫の同系マウスモデルで評価した。17B10 抗体は、Octet および FACS 分析に基づいてマウス CD93 と強く交差反応しなかったが、CD93-HEK 細胞に対して高タンパク質濃度でいくらかの結合を示した。

## 【0633】

50

同系マウスモデルのために、雌 C 5 7 B L / 6 J マウスに、無血清培地中の B 1 6 F 1 0 腫瘍細胞 ( $0.2 \times 10^6$ ) のマウス細胞株を移植した。腫瘍が  $40 \sim 50 \text{ mm}^3$  に達したら、マウス (試験物品あたり  $n = 8$ ) を群に無作為に割り当てた。抗 C D 9 3 抗体 (およびアイソタイプ対照) を、0、3、7、および 10 日目に  $0.3 \text{ mg} / \text{マウス}$  で腹腔内投与した。有効性を、全体的な腫瘍体積に基づいて評価した。動物の全般的な健康が試験物品によって影響されないことを確実にするために、体重を測定した。この研究で使用した 1 7 B 1 0 をハイブリドーマ細胞で発現させ、プロテイン G カラムで精製した。1 6 G 9 および 1 6 A 1 を比較として使用した。各群の腫瘍体積を図 1 7 に示す。1 7 B 1 0 および 1 6 G 9 群のマウスは、1 6 A 1 群および I g G 1 対照群のマウスと比較してより小さい腫瘍体積を示し、より良好な抗腫瘍効果を示唆した。

10

【 0 6 3 4 】

## 2. ルイス肺癌

ルイス肺癌 (L L C) の同系マウスモデルにおいて、ヒト化抗 C D 9 3 1 7 B 1 0 抗体の抗腫瘍効果を評価した。マウス I g G 1 F c を含むヒト化 1 7 B 1 0 を E x p i H E K 細胞で組換え産生した。抗体をプロテイン G カラムを使用して精製し、次いで濃縮し、緩衝液を 1 倍 P B S へと交換した。ヒト化 1 7 B 1 0 抗体は、O c t e t および F A C S 分析に基づいてマウス C D 9 3 と強く交差反応しなかったが、高タンパク質濃度で結合を示した。

【 0 6 3 5 】

同系マウスモデルのために、雌 C 5 7 B L / 6 J マウスに、無血清培地中の L L C 腫瘍細胞 ( $0.2 \times 10^6$ ) のマウス細胞株を移植した。腫瘍が  $40 \sim 50 \text{ mm}^3$  に達したら、マウス (試験物品あたり  $n = 7$ ) を群に無作為に割り当てた。抗 C D 9 3 抗体 (およびアイソタイプ対照) を、0、3、7、および 10 日目に  $0.3 \text{ mg} / \text{マウス}$  で腹腔内投与した。有効性を、全体的な腫瘍体積に基づいて評価した。動物の全般的な健康が試験物品によって影響されないことを確実にするために、体重を測定した。

20

【 0 6 3 6 】

図 1 8 は、ベースラインからの腫瘍体積  $+ / - \text{SEM}$  を示す。図 1 8 は、1 7 B 1 0 群のマウスがアイソタイプ対照群のマウスと比較してより低い腫瘍体積を示したことを実証する。

【 0 6 3 7 】

## 3. ノックインマウスモデル開発

ノックインマウスモデルを 2 つの方法を用いて開発した。ノックインモデルは、マウス C D 9 3 タンパク質をヒト C D 9 3 タンパク質で置き換えるように設計された。

【 0 6 3 8 】

C R I S P R / C a s 9 を利用して、マウス C D 9 3 の 5 ' U T R の A T G 付近を標的とするガイド RNA # 1、および 3 ' U T R の開始付近を標的とするガイド RNA # 2 で 2 つの切断を行った。相同組換え修復は、ドナーを使用して、マウス 5 ' U T R を C D 9 3 ヒト c D N A とインフレームで融合し、内因性 C D 9 3 プロモーターからの発現を可能にした。S T O P コドンの下流の修復により、C D 9 3 ハイブリッド転写物がマウス 3 ' U T R を含むことが確実にになった。純粋な C 5 7 B L / 6 N マウスをノックインモデルのバックグラウンドとして使用した。胚性幹細胞クローンを作製し、ノックインヒト C D 9 3 遺伝子を用いて増殖させた。配列確認に続いて、胚盤胞注入を実施してキメラファウンダーを確立した。そこから、ヘテロ接合体およびホモ接合体仔を同定するための遺伝子型決定を用いて育種を進めた。

40

【 0 6 3 9 】

あるいは、C R I S P R / C a s 9 を利用して、C D 9 3 の細胞外ドメイン (S 2 5 - N 5 7 2) に対応する C D 9 3 のマウスエキソン 1 を除去した。相同組換え修復において、ドナー DNA は、T 2 6 - K 5 8 0 由来の C D 9 3 のヒト配列を含有した。得られた構築物は、マウス膜貫通ドメインおよび細胞内ドメインを有する C D 9 3 のヒト化細胞外ドメインを含むタンパク質を発現した。C 5 7 B L / 6 マウス胚性幹細胞を、配列確認後の

50

ノックインモデルのために利用した。O z g e n e は、その独自の G o - G e r m i l i n e 胚盤胞を注射に使用してキメラファウンダーを確立した。ヘテロ接合体マウスおよびホモ接合体マウスを確実にするために、遺伝子型決定および表現型決定を行った。

【0640】

実施例 12. フローサイトメトリーによって決定される C D 9 3 発現細胞に結合する抗 C D 9 3 抗体

組換え親抗 C D 9 3 抗体を、ヒト血清の存在下または非存在下で H U V E C 細胞に結合する能力について評価した。ハイブリドーマ細胞から得られた 1 6 E 4、7 F 3、1 6 A 1、および 1 7 B 1 0 配列を、ヒト C H 1 ドメインならびにマウス I g G 1 C H 2 および C H 3 F c ドメインと組換え発現させた。抗体を、プロテイン G セファロースを使用して精製した。得られた抗体を、C D 9 3 を発現する種々の細胞に対するその結合能について試験した。H U V E C 細胞を、細胞表面上の C D 9 3 の完全性を維持する T r y p L E 試薬 (G i b c o カタログ番号 1 2 6 0 4 - 0 1 3) とのインキュベーションによって剥離した。細胞を培地でクエンチし、次いで計数した。細胞を F A C S 緩衝液 (0.5 % B S A を含む氷冷 P B S) に再懸濁し、ヒト血清を 20 % (最終体積 10 %) まで添加し、氷上に約 20 分間置いた。ウェルあたり  $5 \times 10^4$  個の細胞を 100  $\mu$ L 培地に播種し、氷上で 100  $\mu$ L の段階希釈抗 C D 9 3 抗体と共に 2 時間インキュベートした。次いで、細胞を 1200 r p m で 5 分間スピンすることによって細胞を洗浄した。培地を廃棄し、細胞を 200  $\mu$ L の氷冷 F A C S 緩衝液に再懸濁した。洗浄工程を繰り返し、細胞を 100  $\mu$ L の二次抗体、A l e x a F l u o r 6 4 7 コンジュゲート抗ヒト I g G または抗マウス I g G 抗体 (J a c k s o n I m m u n o R e s e a r c h) に再懸濁し、F A C S 緩衝液で 1 : 500 に希釈した。プレートを遮光し、4  $^{\circ}$ C で 1 時間インキュベートした。次いで、細胞を再度洗浄し、次いで、200  $\mu$ L の氷冷 F A C S 緩衝液に再懸濁した。細胞を再度洗浄し、200  $\mu$ L の固定溶液 (1 % ホルムアルデヒドを含む P B S) に再懸濁した。試料を箔で覆い 4  $^{\circ}$ C で保存し、次いで、N o v o C y t e F l o w C y t o m e t e r で取得し、N o v o E x p r e s s ソフトウェアによって分析した。血清含有試料で得られた結果を図 19 に示す。無血清試料からの結果を図 20 に示す。

【0641】

図 19 および図 20 は、1 6 E 4、7 F 3、および 1 7 B 1 0 が実験条件下で H U V E C 細胞に首尾よく結合したことを示す。血清含有試料 (図 19) は、血清の存在なしで実施した試料 (図 20) と同様の結合能力を示し、H U V E C 細胞に対するこれらの抗体の F c 結合の影響がほとんどないことを示唆した。

【0642】

C D 9 3 を発現する C H O 細胞を、細胞表面上の C D 9 3 の完全性を維持する T r y p L E 試薬 (G i b c o カタログ番号 1 2 6 0 4 - 0 1 3) とのインキュベーションによって剥離した。細胞を培地でクエンチし、次いで計数した。細胞を F A C S 緩衝液 (0.5 % B S A を含む氷冷 P B S) に再懸濁し、ヒト血清を 20 % (最終体積 10 %) まで添加し、氷上に約 20 分間置いた。ウェルあたり  $5 \times 10^4$  個の細胞を 100  $\mu$ L で播種し、氷上で 100  $\mu$ L の段階希釈抗 C D 9 3 抗体と共に 2 時間インキュベートした。次いで、試料を 1200 r p m で 5 分間回転させることによって試料を洗浄した。培地を破棄し、細胞を 200  $\mu$ L の氷冷 F A C S 緩衝液に再懸濁した。細胞を再び洗浄し、100  $\mu$ L の二次抗体、A l e x a F l u o r 6 4 7 コンジュゲート抗ヒト I g G または抗マウス I g G 抗体 (J a c k s o n I m m u n o R e s e a r c h) に再懸濁し、F A C S 緩衝液で 1 : 500 に希釈した。プレートを箔で覆い、同様のものから保護し、氷上で 1 時間インキュベートした。細胞を再度洗浄し、200  $\mu$ L の氷冷 F A C S 緩衝液に再懸濁した。細胞を再度洗浄し、200  $\mu$ L の固定溶液 (1 % ホルムアルデヒドを含む P B S) に再懸濁した。試料を箔で覆い 4  $^{\circ}$ C で保存し、次いで、N o v o C y t e F l o w C y t o m e t e r で取得し、N o v o E x p r e s s ソフトウェアによって分析した。結果を図 21 に示す。

【0643】

図 2 1 は、1 6 E 4、7 F 3、1 6 A 1 および 1 7 B 1 0 が実験条件下でヒト C D 9 3 C H O 細胞に首尾よく結合したことを示す。1 6 E 4、7 F 3、および 1 7 B 1 0 は、h C D 9 3 C H O 細胞に対して同様の結合親和性を有し、一方、1 6 A 1 は、他の抗体と比較して、ヒト C D 9 3 に対する親和性が比較的低下していた。

【0 6 4 4】

U 9 3 7 細胞を、細胞表面上の C D 9 3 の完全性を維持する T r y p L E 試薬 ( G i b c o カタログ番号 1 2 6 0 4 - 0 1 3 ) とのインキュベーションによって剥離した。細胞を培地でクエンチし、次いで計数した。細胞を F A C S 緩衝液 ( 0 . 5 % B S A を含む氷冷 P B S ) に再懸濁し、約 2 0 分間氷上に置いた。ウェルあたり  $5 \times 10^4$  個の細胞を  $100 \mu\text{L}$  で播種し、氷上で  $100 \mu\text{L}$  の段階希釈抗 C D 9 3 抗体と共に 2 時間インキュベートした。次いで、試料を  $1200 \text{ rpm}$  で 5 分間回転させることによって試料を洗浄した。培地を破棄し、細胞を  $200 \mu\text{L}$  の氷冷 F A C S 緩衝液に再懸濁した。細胞を再び洗浄し、 $100 \mu\text{L}$  の二次抗体、A l e x a F l u o r 6 4 7 コンジュゲート抗ヒト I g G または抗マウス I g G 抗体 ( J a c k s o n I m m u n o R e s e a r c h ) に再懸濁し、F A C S 緩衝液で 1 : 5 0 0 に希釈した。プレートに光から保護するために箔で覆い、氷上で 1 時間インキュベートした。次いで、試料を再度洗浄し、 $200 \mu\text{L}$  の氷冷 F A C S 緩衝液に再懸濁した。細胞を再度洗浄し、 $200 \mu\text{L}$  の固定溶液 ( 1 % ホルムアルデヒドを含む P B S ) に再懸濁した。試料を箔で覆い  $4^\circ\text{C}$  で保存し、続いて N o v o C y t e F l o w C y t o m e t e r で取得し、N o v o E x p r e s s ソフトウェアによって分析した。

10

20

【0 6 4 5】

図 2 2 は、1 6 E 4、7 F 3、および 1 7 B 1 0 が実験条件下で U 9 3 7 細胞に首尾よく結合したことを示す。

【0 6 4 6】

実施例 1 3 . 1 7 B 1 0 抗体の細胞ベースのアッセイ分析

1 . ヒト C D 9 3 を過剰発現する C H O 細胞に対するヒト化 1 7 B 1 0 の結合

マウス I g G 1 C H 2 ドメインおよび C H 3 ドメインならびにヒト C H 1 ドメインを含有するキメラ F c を含む様々なヒト化 1 7 B 1 0 抗体を、E x p i H E K において、3 つのヒト化重鎖の 1 つと 3 つのヒト化軽鎖の 1 つとを組み合わせることによって作製した ( 実施例 1 0、表 6 ~ 7 を参照のこと ) 。得られた抗体を、F A C S 分析を使用して、ヒト C D 9 3 を過剰発現する C H O 細胞への結合について試験した。結果を図 2 5 A ~ 2 5 B に示す。示されるように、試験されたすべての抗体 ( すなわち、H 1 L 1、H 1 L 2、H 1 L 3、H 2 L 1、H 2 L 2、H 2 L 3、H 3 L 1、H 3 L 2、H 3 L 3 ) は、ヒト C D 9 3 を過剰発現する C H O 細胞に効果的に結合する。

30

【0 6 4 7】

2 . K G 1 a および U 9 3 7 細胞へのヒト化 1 7 B 1 0 の結合

ヒト化 1 7 B 1 0 ( V H 3 V L 3、すなわち H 3 L 3 ) の K G 1 a および U 9 3 7 細胞への結合を、実施例 1 2 に記載されるように試験した。2 バッチの 1 7 B 1 0 抗体を用いて実験を繰り返した。図 2 6 A ~ 図 2 6 B は、1 7 B 1 0 が K G 1 a および U 9 3 7 の両方に高い親和性で結合したことを示す。

40

【0 6 4 8】

3 . ヒト化 1 7 B 1 0 ( V H 3 V L 3 ) のマウス C H O 細胞への結合

親 1 7 B 1 0 抗体および配列番号 3 4 9 の V H 配列および配列番号 3 5 2 の V L 配列を有するヒト化 1 7 B 1 0、ならびに、マウス I g G 1 C H 2 および C H 3 ドメインとヒト C H 1 ドメインとを含有するキメラ F c を E x p i H E K において作製した。マウス C D 9 3 を発現する C H O 細胞を、細胞表面上の C D 9 3 の完全性を維持する T r y p L E 試薬 ( T h e r m o F i s h e r ) とのインキュベーションによって剥離した。次いで、細胞を親 1 7 B 1 0 抗体またはヒト化 1 7 B 1 0 抗 C D 9 3 抗体 (  $50 \mu\text{g}/\text{mL}$  ) と共に  $4^\circ\text{C}$  で 3 0 分間インキュベートした。F A C S 緩衝液で洗浄した後、細胞を A l e x a F l u o r 4 8 8 コンジュゲート抗ヒト I g G または抗マウス I g G 抗体 ( J a c

50

kson ImmunoResearch) と共に 4℃において 30 分間インキュベートした。FACS 緩衝液を用いて 2 回洗浄した後、試料を NovoCyt Flow Cytometer で取得し、NovoExpress ソフトウェアによって分析した。

【0649】

図 27 は、ヒト化 17B10 が 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  でマウス CD93 を発現する細胞に結合したことを示す。

【0650】

#### 4. ヒト化 17B10 (VH3VL3) の mCD93 HEK への結合

マウス CD93 発現 HEK 細胞を、細胞表面上の CD93 の完全性を維持する TrypLE 試薬 (Thermo Fisher) とのインキュベーションによって剥離した。次いで、細胞を段階希釈した親 17B10 およびヒト化 17B10 ((H3L3) 抗 CD93 抗体と共に 4℃で 30 分間インキュベートした。FACS 緩衝液で洗浄した後、細胞を Alexa Fluor 488 コンジュゲート抗ヒト IgG または抗マウス IgG 抗体 (Jackson ImmunoResearch) と共に 4℃において 30 分間インキュベートした。FACS 緩衝液を用いて 2 回洗浄した後、試料を NovoCyt Flow Cytometer で取得し、NovoExpress ソフトウェアによって分析した。

10

【0651】

図 28 は、親 17B10 およびヒト化 17B10 (H3L3) の両方が、50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  でマウス CD93 発現 HEK 細胞に結合したことを示す。

20

【0652】

#### 4. HUVEC チューブ形成アッセイ

ヒト化 17B10 抗 CD93 抗体 (H3L3) による血管新生の阻害を HUVEC チューブ形成アッセイで試験した。ヒト臍静脈内皮細胞 (HUVEC, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) を、低血清成長サプリメント (LSGS, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) を補充した培地 200 中、37℃、5%  $\text{CO}_2$  で培養した。96 ウェルプレートに 50  $\mu\text{l}$  の Geltrex 低成長因子基底膜マトリックス (Thermo Fisher Scientific) でコーティングし、37℃で 30 分間インキュベートした。チューブ形成に対するヒト化 17B10 抗体の効果を調べるために、 $1 \times 10^4$  個の HUVEC 細胞をマトリックス被覆プレートに播種し、様々な濃度の精製抗体の存在下または非存在下、37℃、5%  $\text{CO}_2$  で 18 時間インキュベートした。細胞をカルセイン AM で染色し、画像を収集した。図 23 ~ 図 24 は、ヒト化 17B10 が対照と比較して特定の濃度でチューブ形成を阻害したことを示す。

30

【0653】

#### 4. 17B10 抗体の遮断能力

17B10 抗体 (親およびヒト化) を細胞ベースのアッセイで試験した。

【0654】

親およびヒト化 17B10 抗体は、CD93 への IGFBP7 結合または CD93 への MMRN2 結合を有意に遮断しなかった (データは示さず)。

40

【0655】

#### 実施例 14. 抗 CD93 抗体の ELISA 結合分析

ハイブリドーマ産生親 16E4 および 7F3 を、抗体の組換えキメラバージョンと比較した。His タグ付きヒト CD93 を 96 ウェルプレートに 1 倍 PBS 中 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  で 4℃で一晩コーティングした。プレートを ELISA 洗浄緩衝液 (Boston Bio Product, Inc.) で洗浄し、ウェルを ELISA ブロッキング緩衝液で 37℃で 1 時間ブロッキングした。精製した抗体を ELISA ブロッキング緩衝液 (Boston Bio Product, Inc.) で段階希釈し、受容体上で 37℃で 1 時間インキュベートした。プレートを ELISA 洗浄緩衝液で洗浄した。HRP コンジュゲート抗マウス Fc を ELISA ブロッキング緩衝液で希釈し、ハイブリドーマ産生 16E4 および

50

7 F 3 (図 3 0 の 1 6 E 4 - H y b、7 F 3 - H y b) を含むウェルに加えた。ヒト化 1 6 E 4 および 7 F 3 抗体 (図 3 0 の 1 6 E 4 - h I g G 1 および 7 F 3 - h I g G 1) を含むウェルに、H R P コンジュゲート抗ヒト F c を 3 7 ° C で 1 時間添加した。プレートを E L I S A 洗浄緩衝液で洗浄した。C D 9 3 に結合する抗体の間接的検出のために、H R P 基質を添加した。図 3 0 は、組換えキメラ抗体が、この方法のもとでの親抗体よりも強い C D 9 3 に対する親和性を有したことを示す。

#### 【 0 6 5 6 】

ヒト化 7 F 3 抗体を暗所で 4 0 ° C にて 2 週間または 4 週間保存した。H i s タグ付きヒト C D 9 3 を 9 6 ウェルプレートに 1 倍 P B S 中 1 μ g / m L で 4 ° C で一晚コーティングした。プレートを E L I S A 洗浄緩衝液 (B o s t o n B i o P r o d u c t , I n c . ) で洗浄し、ウェルを E L I S A ブロッキング緩衝液で 3 7 ° C で 1 時間ブロッキングした。精製した 7 F 3 抗体を E L I S A ブロッキング緩衝液 (B o s t o n B i o P r o d u c t , I n c . ) で段階希釈し、受容体上で 3 7 ° C で 1 時間インキュベートした。プレートを E L I S A 洗浄緩衝液で洗浄した。H R P コンジュゲート抗ヒト F c 抗体を 3 7 ° C で 1 時間インキュベートした。プレートを E L I S A 洗浄緩衝液で洗浄した。C D 9 3 に結合する抗体の間接的検出のために、H R P 基質を添加した。図 3 1 は、E L I S A によって、処理試料または未処理試料のいずれについても差が観察されなかったことを示す。

10

#### 【 0 6 5 7 】

ヒト化 1 6 E 4 抗体を暗所で 4 0 ° C にて 2 週間または 4 週間保存した。H i s タグ付きヒト C D 9 3 を 9 6 ウェルプレートに 1 倍 P B S 中 1 μ g / m L で 4 ° C で一晚コーティングした。プレートを E L I S A 洗浄緩衝液 (B o s t o n B i o P r o d u c t , I n c . ) で洗浄し、ウェルを E L I S A ブロッキング緩衝液で 3 7 ° C で 1 時間ブロッキングした。精製した 1 6 E 4 抗体を E L I S A ブロッキング緩衝液 (B o s t o n B i o P r o d u c t , I n c . ) で段階希釈し、受容体上で 3 7 ° C で 1 時間インキュベートした。プレートを E L I S A 洗浄緩衝液で洗浄した。H R P コンジュゲート抗ヒト F c 抗体を 3 7 ° C で 1 時間インキュベートした。プレートを E L I S A 洗浄緩衝液で洗浄した。C D 9 3 に結合する抗体の間接的検出のために、H R P 基質を添加した。図 3 2 は、E L I S A によって、処理試料または未処理試料のいずれについても差が観察されなかったことを示す。

20

30

#### 【 0 6 5 8 】

ハイブリドーマ (図 3 3 の 1 7 B 1 0 - H y b) によって産生された 1 7 B 1 0 抗体を、組換え親 1 7 B 1 0 - h F c (図 3 3 の 1 7 B 1 0 - h I g G 1) およびヒト化 1 7 B 1 0 - m F c (図 3 3 の h 1 7 B 1 0 - H 3 L 3) と比較して、ヒト C D 9 3 への結合を決定した。H i s タグ付きヒト C D 9 3 を 9 6 ウェルプレートに 1 倍 P B S 中 1 μ g / m L で 4 ° C で一晚コーティングした。プレートを E L I S A 洗浄緩衝液 (B o s t o n B i o P r o d u c t , I n c . ) で洗浄し、ウェルを E L I S A ブロッキング緩衝液で 3 7 ° C で 1 時間ブロッキングした。精製した 1 7 B 1 0 抗体を E L I S A ブロッキング緩衝液 (B o s t o n B i o P r o d u c t , I n c . ) で段階希釈し、受容体上で 3 7 ° C で 1 時間インキュベートした。プレートを E L I S A 洗浄緩衝液で洗浄した。H R P コンジュゲート抗マウス F c を E L I S A ブロッキング緩衝液で希釈し、ハイブリドーマ産生 1 7 B 1 0 を含むウェルに加えた。組換え 1 7 B 1 0 抗体を含むウェルに、H R P コンジュゲート抗ヒト F c を 3 7 ° C で 1 時間添加した。プレートを E L I S A 洗浄緩衝液で洗浄した。C D 9 3 に結合する抗体の間接的検出のために、H R P 基質を添加した。図 3 3 は、マウス F c 含有分子が、ヒト F c を含む組換え親 1 7 B 1 0 よりもヒト C D 9 3 に対する結合が弱かったことを示す。

40

#### 【 0 6 5 9 】

キメラ 1 7 B 1 0 分子を、ヒト化 C D R およびヒト C H 1 ドメインを用いるが、マウス I g G 1 C H 2 および C H 3 ドメインを用いて作製した。この分子を、ヒト C D 9 3 に結合する能力についてマウス M M R N 2 - m F c と比較した。H i s タグ付きヒト C D 9

50

3を96ウェルプレートに1倍PBS中1 $\mu$ g/mLで4℃で一晩コーティングした。プレートをELISA洗浄緩衝液(Tweenを含むPBS; Boston Bioproductカタログ番号BB-171)で3回洗浄し、次いで、ウェルを室温で1時間、200 $\mu$ LのELISAブロッキング緩衝液(PBS中5% BSA(VWRカタログ番号0332))でブロッキングした。次いで、プレートをELISA洗浄緩衝液で3回洗浄し、次いで、精製した17B10抗体およびマウスMMRN2-mFcをELISAブロッキング緩衝液(PBS中5% BSA)で段階希釈し、100rpmのオービタルシェーカー上、室温で2時間受容体上でインキュベートした。プレートをELISA洗浄緩衝液で3回洗浄し、次いで、HRPコンジュゲート抗マウスFc抗体(Jackson ImmunoResearchカタログ番号115-035-164)を17B10およびマウスMMRN2-mFcに室温で100rpmのオービタルシェーカー上で1時間添加した。HRPコンジュゲート抗マウスFc抗体(Jackson ImmunoResearchカタログ番号115-035-164)を、ウェルに、室温で100rpmのオービタルシェーカー上で1時間添加した。プレートをELISA洗浄緩衝液で3回洗浄し、次いで、ウェルあたり100 $\mu$ LのTMB(SeraCareカタログ番号5120-0077)を添加し、1~5分間混合させ、次いで、100 $\mu$ Lの硫酸1.0 N(VWRカタログ番号BDH 7232-1)を添加することによって停止させた。吸光度を450 nmで測定した。二次HRP Abのみを含む対照ウェルから平均バックグラウンドシグナルを差し引くことによって吸光度シグナルを補正した。図34は、ELISAによって、17B10がマウスMMRN2-mFcよりも良好にヒトCD93-hisに結合したことを示す。

【0660】

#### 実施例15. 抗CD93抗体のFACS細胞ベースの結合分析

ヒトCD93を細胞表面で発現するCHO細胞への抗CD93抗体7F3および16E4の結合を、蛍光活性化細胞選別(FACS)アッセイによって決定した。ヒトCD93を発現するCHO細胞を、細胞表面上のCD93の完全性を維持するTrypLE試薬(Thermo Fisher)とのインキュベーションによって剥離した。次いで、細胞を段階希釈した抗CD93抗体と共に4℃で30分間インキュベートした。FACS緩衝液で洗浄した後、細胞をAlexa Fluor 647コンジュゲート抗ヒトIgG(Jackson ImmunoResearch)と共に4℃において30分間インキュベートした。FACS緩衝液で2回洗浄した後、試料をNovoCyt Flow Cytometerで取得し、NovoExpressソフトウェアによって分析した。組換え16E4は0.24 nMのEC50で細胞に結合し、組換え7F3抗体は0.4 nMのEC50で結合した(図35)。

【0661】

ヒトCD93を細胞表面で発現するCHO細胞へのヒト化7F3抗CD93抗体の結合を、蛍光活性化細胞選別(FACS)アッセイによって決定した。ヒト化7F3抗体を暗所で40℃にて2週間または4週間保存した。ヒトCD93を発現するCHO細胞を、細胞表面上のCD93の完全性を維持するTrypLE試薬(Thermo Fisher)とのインキュベーションによって剥離した。次いで、細胞を段階希釈抗CD93抗体と共に4℃で30分間インキュベートした。FACS緩衝液で洗浄した後、細胞をAlexa Fluor 647コンジュゲート抗ヒトIgG(Jackson ImmunoResearch)と共に4℃で30分間インキュベートした。FACS緩衝液で2回洗浄した後、試料をNovoCyt Flow Cytometerで取得し、NovoExpressソフトウェアによって分析した。高温処理によるCD93に対する7F3抗体の親和性の変化はなかった(図36)。

【0662】

ヒト化16E4抗体を暗所で40℃にて2週間または4週間保存した。ヒトCD93を発現するCHO細胞を、細胞表面上のCD93の完全性を維持するTrypLE試薬(Thermo Fisher)とのインキュベーションによって剥離した。次いで、細胞を

段階希釈抗CD93抗体と共に4℃で30分間インキュベートした。FACS緩衝液で洗浄した後、細胞をAlexa Fluor 647コンジュゲート抗ヒトIgG (Jackson ImmunoResearch)と共に4℃において30分間インキュベートした。FACS緩衝液で2回洗浄した後、試料をNovoCyt Flow Cytometerで取得し、NovoExpressソフトウェアによって分析した。ヒト化16E4を40℃でインキュベートしても、抗体のCD93発現細胞への結合は減少しなかった(図37)。

#### 【0663】

ヒト化7F3抗体を暗所で40℃にて2週間または4週間保存した。HUVEC細胞を、細胞表面上のCD93の完全性を維持するTrypLE試薬(Thermo Fisher)とのインキュベーションによって剥離した。次いで、細胞を段階希釈抗CD93抗体と共に4℃で30分間インキュベートした。FACS緩衝液で洗浄した後、細胞をAlexa Fluor 647コンジュゲート抗ヒトIgG (Jackson ImmunoResearch)と共に4℃において30分間インキュベートした。FACS緩衝液で2回洗浄した後、試料をNovoCyt Flow Cytometerで取得し、NovoExpressソフトウェアによって分析した。ヒト化7F3を40℃でインキュベートしても、抗体のHUVEC細胞への結合は減少しなかった(図38)。

#### 【0664】

KG1a細胞への7F3抗CD93抗体の結合を、蛍光活性化細胞選別(FACS)アッセイによって決定した。ヒト化7F3抗体を暗所で40℃にて2週間または4週間保存した。KG1a細胞を、細胞表面上のCD93の完全性を維持するTrypLE試薬(Thermo Fisher)とのインキュベーションによって剥離した。次いで、細胞を段階希釈抗CD93抗体と共に4℃で30分間インキュベートした。FACS緩衝液で洗浄した後、細胞をAlexa Fluor 647コンジュゲート抗ヒトIgG (Jackson ImmunoResearch)と共に4℃において30分間インキュベートした。FACS緩衝液で2回洗浄した後、試料をNovoCyt Flow Cytometerで取得し、NovoExpressソフトウェアによって分析した。7F3を40℃でインキュベートしても、抗体のKG1a細胞への結合は減少しなかった(図39)。

#### 【0665】

ヒト化16E4抗体を暗所で40℃にて2週間または4週間保存した。KG1a細胞を、細胞表面上のCD93の完全性を維持するTrypLE試薬(Thermo Fisher)とのインキュベーションによって剥離した。次いで、細胞を段階希釈抗CD93抗体と共に4℃で30分間インキュベートした。FACS緩衝液で洗浄した後、細胞をAlexa Fluor 647コンジュゲート抗ヒトIgG (Jackson ImmunoResearch)と共に4℃において30分間インキュベートした。FACS緩衝液で2回洗浄した後、試料をNovoCyt Flow Cytometerで取得し、NovoExpressソフトウェアによって分析した。16E4を40℃でインキュベートしても、抗体のKG1a細胞への結合は減少しなかった(図40)。

#### 【0666】

#### 実施例16. 抗CD93抗体Octet結合分析

Octet QKe (Fortebio)を使用したバイオレイヤー干渉法により、抗CD93抗体の結合親和性を決定した。ヒト化7F3抗体を暗所で40℃にて2週間または4週間保存した。ヒトCD93組換えタンパク質(Sino Biological Inc.、カタログ番号12589-H08H)を、EZ-LINK NHS-PEG4ビオチン(Thermo Fisher Scientific)を用いてビオチン化した。ストレプトアビジンバイオセンサー(Fortebio)を使用してビオチン化CD93タンパク質をロードした(5µg/mlで300秒)。ベースラインを1倍動態緩衝液(Fortebio)中で60秒間安定化した後、段階希釈での抗CD93抗体を捕捉タンパク質と300秒間会合させた。次いで、センサーを1倍動態緩衝液中で600秒間

10

20

30

40

50

解離させた。ForteBio Data Analysis HT 11.1ソフトウェアでデータ分析を行った。CD93に対するヒト化7F3抗体の結合親和性は、40℃でのインキュベーションによって影響されなかった（図41）。

【0667】

Octet QKe (ForteBio) を使用したバイオレイヤー干渉法により、抗CD93抗体の結合親和性を決定した。ヒト化16E4抗体を暗所で40℃にて2週間または4週間保存した。ヒトCD93組換えタンパク質 (Sino Biological Inc.、カタログ番号12589-H08H) を、EZ-LINK NHS-PEG4 ビオチン (Thermo Fisher Scientific) を用いてビオチン化した。ストレプトアビジンバイオセンサー (ForteBio) を使用してビオチン化CD93タンパク質をロードした (5 µg/ml で300秒)。ベースラインを1倍動態緩衝液 (ForteBio) 中で60秒間安定化した後、段階希釈での抗CD93抗体を捕捉タンパク質と300秒間会合させた。次いで、センサーを1倍動態緩衝液中で600秒間解離させた。ForteBio Data Analysis HT 11.1ソフトウェアでデータ分析を行った。CD93に対するヒト化16E4抗体の結合親和性は、40℃でのインキュベーションによって影響されなかった（図42）。

【0668】

16E4および7F3の結合親和性の概要を図43に示す。

【0669】

#### 実施例17. 抗CD93抗体遮断機能分析

7F3抗CD93抗体によるヒトCD93を細胞表面発現するCHO細胞へのMMRN2結合の遮断を、蛍光活性化細胞選別 (FACS) アッセイによって決定した。ヒト化7F3抗体を暗所で40℃にて2週間または4週間保存した。ヒトCD93を発現するCHO細胞 (ウェルあたり $1 \times 10^5$ 個) を、4℃で30分間、段階希釈した抗CD93 7F3抗体またはアイソタイプ対照で処理した。次いで、細胞を0.1 µg/ml のhMMRN2 495-674と共にインキュベートした。インキュベーション後、細胞をFACS緩衝液で洗浄し、APCコンジュゲート抗Hisタグ (BioLegend) と共に4℃で30分間インキュベートして、MMRN2結合を検出した。FACS緩衝液を用いて2回洗浄した後、試料を分析し、NovoCyt Flowでデータを取得した。組換えhisタグ付きhMMRN2 495-674を、日常的な手順に従ってE. Coli内で生成した。7F3の40℃でのインキュベーションは、ヒトCD93を発現するCHO細胞へのMMRN2結合を遮断する7F3の能力に影響を及ぼさなかった（図44）。

【0670】

また、ヒト化7F3および16E4抗CD93抗体によるヒトCD93を細胞表面発現するCHO細胞へのMMRN2結合の遮断も、蛍光活性化細胞選別 (FACS) アッセイによって決定した。ヒトCD93を発現するCHO細胞 (ウェルあたり $1 \times 10^5$ 個) を、4℃で30分間、段階希釈した抗CD93 7F3もしくは16E4抗体またはアイソタイプ対照で処理した。次いで、細胞を0.1 µg/ml のhMMRN2 495-674と共にインキュベートした。APCコンジュゲート抗Hisタグ (BioLegend) を使用して、MMRN2結合を検出した。次いで、細胞をFACS緩衝液で洗浄し、1 µg/ml のAPCコンジュゲート抗Hisタグ抗体と共に4℃で30分間インキュベートした。FACS緩衝液を用いて2回洗浄した後、試料を分析し、NovoCyt Flowでデータを取得した。組換えhisタグ付きhMMRN2 495-674を、日常的な手順に従ってExp i HEK内で生成した。ヒト化7F3は、ヒトCD93を発現するCHO細胞へのMMRN2結合を遮断することができたが、ヒト化16E4は遮断することができなかった（図45）。

【0671】

ヒト化7F3抗CD93抗体によるHUV EC細胞の細胞表面へのIGFBP7結合の遮断をFACSによって決定した。HUV EC細胞 (ウェルあたり $1 \times 10^5$ 個) を、4℃で30分間、段階希釈したヒト化抗CD93 7F3抗体またはアイソタイプ対照で処

理した。次いで、細胞をHisタグ付きヒトIGFBP7組換えタンパク質 ( $0.1 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) と共に  $4^{\circ}\text{C}$  でさらに30分間インキュベートした。インキュベーション後、細胞をFACS緩衝液で洗浄し、APCコンジュゲート抗Hisタグ (BioLegend) と共に  $4^{\circ}\text{C}$  で30分間インキュベートして、IGFBP7結合を検出した。FACS緩衝液を用いて2回洗浄した後、試料を分析し、NovoCyte Flowでデータを取得した。図46に示されるように、7F3抗体は、HUV EC細胞に対するIGFBP7の結合を遮断した。

#### 【0672】

7F3および16E4によるCD93へのIGFBP7結合の遮断を、バイオレイヤー干渉法 (BLI) を使用して決定した。抗CD93抗体7F3および16E4によるhCD93へのIGFBP7結合の遮断を、Octet QKe (Fortebio) を使用するバイオレイヤー干渉法で決定した。ヒトCD93組換えタンパク質 (Sino Biological Inc.、カタログ番号12589-H08H) を、EZ-LINK NHS-PEG4ビオチン (Thermo Fisher Scientific) を用いてビオチン化した。ストレプトアビジンバイオセンサー (Fortebio) を使用してビオチン化CD93タンパク質をロードした ( $5 \mu\text{g}/\text{mL}$  で300秒)。ベースラインを1倍動態緩衝液 (Fortebio) 中で60秒間安定化した後、抗CD93抗体および陰性対照抗体 (9F9) ( $90 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) を捕捉タンパク質と300秒間会合させた。IGFBP7を添加して300秒間会合させた。次いで、センサーを1倍動態緩衝液中で600秒間解離させた。ForteBio Data Analysis HT 11.1ソフトウェアでデータ分析を行った。ハイブリドーマならびにヒト化7F3および16E4抗体は、ヒトCD93へのIGFBP7会合を阻止することができた (図47および図48)。

#### 【0673】

##### 実施例18. 抗CD93抗体チューブ形成分析

ヒト化7F3および16E4抗CD93抗体による血管新生の阻害をHUV ECチューブ形成アッセイで試験した。ヒト臍静脈内皮細胞 (HUV EC, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) を、低血清成長サプリメント (L SGS, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) を補充した培地200中、 $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  で培養した。96ウェルプレートに  $50 \mu\text{L}$  のGeltrex低成長因子基底膜マトリックス (Thermo Fisher Scientific) でコーティングし、 $37^{\circ}\text{C}$  で30分間インキュベートした。チューブ形成に対するヒト化7F3および16E4抗体の効果を調べるために、 $2 \times 10^4$  個のHUV EC細胞をマトリックス被覆プレートに播種し、精製抗体 ( $40 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) の存在下または非存在下、 $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  で18時間インキュベートした。細胞をカルセインAMで染色し、画像を収集した。図49および図50は、対照と比較して、ヒト化16E4が92.5%のチューブ形成を示し、一方、ヒト化7F3は72.5%のチューブ形成を示したことを示す。

#### 【0674】

##### 実施例19. K IマウスモデルにおけるCD93抗体の抗腫瘍効果

抗CD93抗体の抗腫瘍効果を、当該技術分野における従来技術を使用してB16F10メラノーマ同系hCD93 K Iマウスモデルにおいて評価した。研究に使用したマウスは、マウスにおけるマウスCD93の半分がヒトCD93によって完全に置き換えられるような、ヘテロ接合ヒトCD93ノックインを有する。

#### 【0675】

同系マウスモデルのために、ヘテロ接合ヒトCD93 K I-C57BL/6Jマウスに、無血清培地中のB16F10腫瘍細胞 ( $0.2 \times 10^6$ ) のマウス細胞株を移植した。腫瘍が  $40 \sim 50 \text{ mm}^3$  に達したら、マウス (試験物品あたり  $n=8$ ) を群に無作為に割り当てた。h16E4 (ヒト化16E4、VH4+VL6)、h7F3 (ヒト化7F3、VH3+VL3)、17B10キメラ (m17B10-hIGG1) を含む抗CD93

抗体およびアイソタイプ対照抗体を、 $15\text{ mg/kg}$  マウスで、腹腔内に隔週で4週間投与した。腫瘍体積および体重を各マウスについて測定した。研究が完了したら、腫瘍を外科的に取り出し、秤量し、測定し、細胞分析のために急速凍結した。抗CD93抗体の抗腫瘍有効性を、全体的な腫瘍体積に基づいて評価し、動物の全体的な健康を確かめるために、研究全体を通して体重を測定した。

【表 8】

表8: 注射5日後でのヒト化CD93ノックインマウスモデルにおけるCD93抗体の、抗B16腫瘍効果

| 群平均 $\pm$ 平均の標準誤差、腫瘍体積( $\text{mm}^3$ ) |       |        |
|-----------------------------------------|-------|--------|
| 群                                       | 0 日   | 5 日    |
| 群 01: アイソタイプ対照                          | 50.96 | 405.55 |
| 標準誤差                                    | 1.75  | 69.44  |
| 群 02: h16E4                             | 50.94 | 183.21 |
| 標準誤差                                    | 1.75  | 24.30  |
| 群 03: h7F3                              | 50.93 | 173.51 |
| 標準誤差                                    | 1.63  | 25.35  |
| 群 04: 17B10 キメラ                         | 50.92 | 187.43 |
| 標準誤差                                    | 1.57  | 27.25  |

10

20

| 平均成長            |  | 研究日数  |         |
|-----------------|--|-------|---------|
| 群               |  | 0     | 5       |
| 群 01: アイソタイプ対照  |  | 0.00% | 687.41% |
| 群 02: h16E4     |  | 0.00% | 264.41% |
| 群 03: h7F3      |  | 0.00% | 244.59% |
| 群 04: 17B10 キメラ |  | 0.00% | 268.50% |

平均成長 = 平均  $(T/T_0) \times 100\%$

$T$  - 現在の値

$T_0$  - 最初の値

30

【0676】

表 8 から分かるように、試験されたすべてのCD93抗体は、注射5日後もの早さで腫瘍成長を有意に遮断し、腫瘍成長の2.6~2.8倍の減少をもたらした。試験された3種類のCD93抗体の抗腫瘍効果において、有意な差異は見出されなかった。

【0677】

本研究は、本開示のCD93抗体が、インビボで腫瘍を阻害することができることを確認するものである。

【0678】

16E4、7F3、16A1および17B10の特性の概要については、図51を参照されたい。

40

【0679】

実施例20. B16F10モデルを使用するヒトCD93 KIヘテロ接合マウスにおける動物研究

1. ヒトCD93ノックインマウスモデル開発

ノックインモデルは、マウスCD93タンパク質をヒトCD93タンパク質で置き換えるように設計した。ノックインマウスモデルは、下記のように2つの方法を用いて開発した。

【0680】

CRISPR/Cas9を利用して、マウスCD93の5'UTRのATG付近を標的

50

とするガイドRNA # 1、および3' UTRの開始付近を標的とするガイドRNA # 2で2つの切断を行った。相同組換え修復は、ドナーを使用して、マウス5' UTRをCD93ヒトcDNAとインフレームで融合し、内因性CD93プロモーターからの発現を可能にした。終止コドンの下流の修復により、CD93ハイブリッド転写物がマウス3' UTRを含むことを確実にした。純系C57BL/6Nマウスをノックインモデルのバックグラウンドとして使用した。胚性幹細胞クローンを作製し、ノックインヒトCD93遺伝子を用いて増殖させた。配列確認に続いて、胚盤胞注入を実施してキメラファウンダーを樹立した。そこから遺伝子型決定を用いて育種を進めて、ヘテロ接合体仔およびホモ接合体仔を同定した。

#### 【0681】

あるいは、CRISPR/Cas9を利用して、CD93の細胞外ドメイン(S25~N572)に対応するCD93のマウスエキソン1を除去した。相同組換え修復において、ドナーDNAは、T26~K580由来のCD93のヒト配列を含有した。得られた構築物は、CD93のヒト化細胞外ドメインをマウスの膜貫通ドメインおよび細胞内ドメインとともに含む、タンパク質を発現した。C57BL/6マウス胚性幹細胞を、配列確認後のノックインモデルのために利用した。Ozgeneは、その独自のGo-Germiline胚盤胞を注入のために使用してキメラファウンダーを樹立した。遺伝子型決定および表現型決定を行って、ヘテロ接合体マウスおよびホモ接合体マウスを確実に作製した。

#### 【0682】

##### 2. B16F10マウス黒色腫

B16F10(ATCC(登録商標)CCL-6475(商標))は、C57BL/6Jマウス由来のマウス黒色腫細胞株である。これは、B16腫瘍株のサブクローンである。マウスにB16腫瘍細胞を注入し、二次腫瘍成長物を収集および培養し、それらを新たなマウスに合計10回注入することによって、B16F10を作製した。それらの細胞は、接着性であり、上皮形態を有する。B16F10細胞は、高転移性であり、同系C57BL/6マウスへの移植後に腫瘍および転移を形成する。

#### 【0683】

B16F10細胞株を、GlutaMAX(商標)サプリメントと10%ウシ胎児血清(FBS)とを含むダルベッコ改変イーグル培地(DMEM)における単層培養として、加湿インキュベーター中で5% CO2を含む雰囲気中37℃にてインビトロで維持した。それらの腫瘍細胞を、成長速度および分割比に応じて1週間当たり2~3回、トリプシン-EDTA処理によって定期的に継代培養した。細胞接種のために、対数増殖期にあるその細胞を採集し、冷却遠心分離機において335gにて遠心分離し、その培地を吸引した。その細胞ペレットを10倍体積の無血清培地中に再懸濁し、計数した。その細胞懸濁物を上記のように再度遠心分離し、最終細胞濃度 $2.0 \times 10^6$ 細胞/mL(50%無血清培地および50% GelTrex)になるように無血清培地中に再懸濁し、各0.1 mLが、1回の接種に必要な細胞の数をもたらした。細胞懸濁物は、接種するまで氷上で維持した。

#### 【0684】

##### 3. 抗CD93抗体有効性評価のためのヒトCD93 KIヘテロ接合B16F10マウスモデル

ヒト化抗CD93 7F3抗体、ヒト化抗CD93 16E4抗体、およびヒト化抗CD93 17B10抗体の抗腫瘍効果を、B16F10黒色腫モデルにおいてヒトCD93 KIヘテロ接合マウスで評価した。実験設計は表9に示される。

10

20

30

40

50

【表 9】

表9: B16F10マウスモデルを使用した抗体有効性評価の実験設計

| 群 | 処置        | N | 用量<br>(mg/ マウス) | 投与体積<br>(mL) | ROA | 頻度             | 投与<br>スケジュール<br>(日目) | 生存採血<br>(日目) |
|---|-----------|---|-----------------|--------------|-----|----------------|----------------------|--------------|
| 1 | アイソタイプ対照  | 8 | 0.3             | 0.3          | IP  | 隔週<br>(BIW) x4 | 0, 5,<br>8, 11日目     | 5, 11        |
| 2 | 7F3       | 8 | 0.3             | 0.3          | IP  | BIW x4         | 0, 5, 8, 11          | 5, 11        |
| 3 | 16E4      | 8 | 0.3             | 0.3          | IP  | BIW x4         | 0, 5, 8, 11          | 5, 11        |
| 4 | 17B10 キメラ | 8 | 0.3             | 0.3          | IP  | BIW x4         | 0, 5, 8, 11          | 5, 11        |

10

## 【0685】

17B10抗体は、実施例11（17B10抗体を使用した動物研究）で使用したものと同一であった。

## 【0686】

腫瘍が50～60mm<sup>3</sup>に達したら、マウス（1群あたりn＝8匹のマウス）を群に無作為に割り当てた。抗CD93抗体（およびアイソタイプ対照）を、0日目、5日目、8日目、および11日目に0.3mg／マウスで腹腔内投与した。有効性を、全体的な腫瘍体積に基づいて評価した。体重を測定して、動物の全般的な健康がこの試験によって影響されないことを確実にした。

20

## 【0687】

図52Aは、7F3群のマウスおよび16E4群のマウスが17B10キメラ群のマウスと比較して小さい腫瘍体積を示したことを示す。7F3群および16E4群の平均腫瘍体積は、対照群の平均腫瘍体積の約50％であり、17B10キメラ群の平均腫瘍体積の約60％である。アイソタイプ対照群を含む試験したすべての抗体群のマウス体重は、試験物品によって影響されなかった。

## 【0688】

4. 抗CD93分子有効性評価のためのヒトCD93 KIホモ接合マウスB16F10モデル

ヒト化抗CD93 7F3抗体、ヒト化抗CD93 16E4抗体、およびヒト化抗CD93 17B10抗体の抗腫瘍効果を、B16F10黒色腫モデルにおいてヒトCD93 KIホモ接合マウスで評価した。

30

## 【表11】

表11: B16F10マウスモデルを使用した抗体融合タンパク質有効性評価の実験設計

| 群 | 処置          | N | 用量<br>(mg/ マウス) | 投与体積<br>(mL) | ROA | 頻度     | 投与<br>スケジュール | 生存採血  |
|---|-------------|---|-----------------|--------------|-----|--------|--------------|-------|
| 1 | アイソタイプ対照    | 6 | 0.3             | 0.3          | IP  | BIW x4 | 0, 3, 6, 11  | 3, 11 |
| 2 | 7F4         | 6 | 0.3             | 0.3          | IP  | BIW x4 | 0, 3, 6, 11  | 3, 11 |
| 3 | 16E4        | 6 | 0.3             | 0.3          | IP  | BIW x4 | 0, 3, 6, 11  | 3, 11 |
| 4 | 17B10       | 6 | 0.3             | 0.3          | IP  | BIW x4 | 0, 3, 6, 11  | 3, 11 |
| 4 | 7F3/VEGFRFc | 6 | 0.3             | 0.3          | IP  | BIW x4 | 0, 3, 6, 11  | 3, 11 |

40

17B10抗体は、ヒト化治療抗体である。

## 【0689】

腫瘍が50～60mm<sup>3</sup>に達したら、マウス（1試験物品あたりn＝8）を群に無作為に割り当てた。抗CD93抗体（およびアイソタイプ対照）を、0日目、3日目、6日目、11日目に0.3mg／マウスで腹腔内投与した。有効性を、全体的な腫瘍体積に基づいて評価した。体重を測定して、動物の全般的な健康がこの試験によって影響されないことを確実にした。

50

## 【0690】

アイソタイプ対照ベースラインからの腫瘍体積 $\pm$ 平均の標準誤差 (SEM) を示すことによって、図52Cは、7F3、16E4、17B10および7F3/VEGFRFcのマウスがIgG1アイソタイプ対照群のマウスと比較して腫瘍成長の有意な阻害 ( $p < 0.05$ ) を示したことを示し、優れた抗腫瘍効果を示唆する。アイソタイプ対照群を含む試験したすべての抗体群のマウス体重は、この試験によって影響されなかった。

## 【0691】

実施例21. 二重特異性抗CD93抗体およびVEGFR融合タンパク質の作製および評価

## 1. 二重特異性抗CD93抗体およびVEGFR融合タンパク質の設計

VEGFもまた標的にする抗CD93構築物を設計し、作製した。図53Aを参照のこと。例えば、VEGFトラップ (アフリベルセプト、例えば、配列番号325) を、7F3およびそのヒト化配列のいずれかの重鎖可変領域と軽鎖可変領域とを含む全長ヒトIgG1抗体の2つの重鎖のC末端に融合した。配列番号366の重鎖-アフリベルセプト融合物と配列番号367の軽鎖とを有するh7F3/VEGFRの例示的構築物を、h7F3/VEGFRFcと表し、さらなる特徴付けのために使用した。

## 【0692】

2. 蛍光活性化細胞選別 (FACS) アッセイによって決定されたヒトCD93を細胞表面発現するCHO細胞への、元のマウス7F3、ヒト化7F3およびヒト化7F3/VEGFRFcの結合

ヒトCD93を発現するCHO細胞を、細胞表面上のCD93の完全性を維持するTrypLE試薬 (Thermo Fisher) とのインキュベーションによって剥離した。次いで、それらの細胞を、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ の元のマウス7F3、ヒト化7F3、およびヒト化7F3/VEGFRFcと共に $4^\circ\text{C}$ にて30分間インキュベートした。FACS緩衝液で洗浄した後、それらの細胞をAlexa Fluor 488コンジュゲート抗ヒトIgG抗体またはAlexa Fluor 488コンジュゲート抗マウスIgG抗体 (Jackson ImmunoResearch) と共に $4^\circ\text{C}$ で30分間インキュベートした。FACS緩衝液で2回洗浄した後、試料をNovoCyt Flow Cytometerで取得し、NovoExpressソフトウェアによって分析した。

## 【0693】

図53Bに示されるように、元のマウス7F3、ヒト化7F3、およびヒト化7F3/VEGFRFc二重特異性融合タンパク質はすべて、hCD93発現CHO細胞への強い結合を示した。IgGアイソタイプ対照では何の結合も観察されなかった。

## 【0694】

3. 元のマウス7F3、ヒト化7F3およびヒト化7F3/VEGFRFcでの処理によるヒトCD93発現CHO細胞におけるIGFBP7/CD93遮断アッセイ

ヒトCD93を発現するCHO細胞 (1ウェルあたり $1 \times 10^5$ 個) を、 $4^\circ\text{C}$ で30分間、 $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ の、元のマウス7F3、ヒト化7F3、およびヒト化7F3/VEGFRFc二重特異性融合タンパク質またはアイソタイプ対照で処理した。その後、それらの細胞を、HISタグ付きヒトIGFBP7組換えタンパク質 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) と共に $4^\circ\text{C}$ でさらに30分間インキュベートした。次いで、それらの細胞をFACS緩衝液で洗浄し、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ のウサギ抗IGFBP7抗体 (Sino Biological Inc.、カタログ番号13100-R003) と共に $4^\circ\text{C}$ で30分間インキュベートした。インキュベーション後、それらの細胞をFACS緩衝液で洗浄し、PEコンジュゲート抗ウサギIgG抗体 (Biolegend) と共に $4^\circ\text{C}$ で30分間インキュベートした。FACS緩衝液で2回洗浄した後、試料を分析し、NovoCyt Flowでデータを取得した。

## 【0695】

図53Cに示すように、元のマウス7F3、ヒト化7F3、およびヒト化7F3/VEGFRFcは、CD93とIGFBP7との間の相互作用を遮断することができた。アイ

10

20

30

40

50

ソタイプ対照抗体は、CD93とIGFBP7との間の相互作用を遮断できなかった。

【0696】

4. 元のマウス7F3、ヒト化7F3およびヒト化7F3／VEGFRFcでの処理によるヒトCD93発現CHO細胞におけるMMRN2／CD93遮断アッセイ

ヒトCD93を発現するCHO細胞（1ウェルあたり $1 \times 10^5$ 個）を、4℃で30分間、 $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ の、元のマウス7F3、ヒト化7F3、およびヒト化7F3／VEGFRFc二重特異性融合タンパク質またはアイソタイプ対照で処理した。その後、それらの細胞を、ビオチン化MMRN2タンパク質（ $0.001 \mu\text{g}/\text{mL}$ ）と共に4℃でさらに30分間インキュベートした。インキュベーション後、それらの細胞をFACS緩衝液で洗浄し、ストレプトアビジンコンジュゲートAPCと1：1000の比で4℃にて30分間インキュベートした。FACS緩衝液で2回洗浄した後、試料を分析し、NovoCyt Flowでデータを取得した。

10

【0697】

図53Dに示すように、元のマウス7F3、ヒト化7F3、およびヒト化7F3／VEGFRFcは、MMRN2とCD93との間の相互作用を効果的に遮断したが、アイソタイプ対照抗体は、MMRN2とCD93との間の相互作用の遮断を示さなかった。

【0698】

5. 元のマウス7F3、ヒト化7F3、およびヒト化7F3／VEGFRFcのELISA結合分析

Hisタグ付きヒトCD93、rh VEGFA（組換えヒトVEGFA）、または無関係のHisタンパク質を、96ウェルプレートに1倍PBS中 $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ で4℃にて一晚コーティングした。そのプレートをELISA洗浄緩衝液（Boston BioProduct, Inc.）で洗浄し、そのウェルを3%のBSA／PBS ELISAブロッキング緩衝液で37℃にて1時間ブロッキングした。アバスチン、ヒト化7F3、およびヒト化7F3／VEGFRFcを氷上で1時間インキュベートした。そのプレートをELISA洗浄緩衝液で洗浄した。HRPコンジュゲート抗ヒトFcを添加し、37℃にて1時間インキュベートした。そのプレートをELISA洗浄緩衝液で洗浄し、マイクロプレートリーダーで405nmにて読み取った。

20

【0699】

図53Eに示される結果は、7F3／VEGFRFcおよびアバスチンがrh VEGFAに強く結合した一方で、キメラ7F3およびヒト化7F3／VEGFRFcがrh CD93に強く結合したことを示す。アバスチン、キメラ7F3、およびヒト化7F3／VEGFRFcのいずれも、無関係のHisタンパク質への結合を示さなかった。

30

【0700】

Hisタグ付きヒトCD93、カニクイザル（cyno）CD93、ヒトVEGFA、およびマウスVEGFAを、96ウェルプレートに1倍PBS中 $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ で4℃にて一晚コーティングした。そのプレートをELISA洗浄緩衝液（Boston BioProduct, Inc.）で洗浄し、そのウェルを3%のBSA／PBS ELISAブロッキング緩衝液で37℃にて1時間ブロッキングした。アバスチン、ヒト化7F3、キメラ7F3／VEGFRFcおよびヒト化7F3／VEGFRFcならびに対照ヒトIgG Fcを氷上で1時間インキュベートした。そのプレートをELISA洗浄緩衝液で洗浄した。HRPコンジュゲート抗ヒトFcを添加し、37℃にて1時間インキュベートした。そのプレートをELISA洗浄緩衝液で洗浄し、マイクロプレートリーダーで405nmにて読み取った。

40

【0701】

図53Fに示すように、キメラ7F3、キメラ7F3／VEGFRFcおよびヒト化7F3／VEGFRFcは、rh CD93（組換えヒトCD93）、カニクイザル（cyno）CD93、rh VEGFA（組換えヒトVEGFA）、およびrm VEGFA（組換えマウスVEGFA）に強く結合した。キメラ7F3はrh VEGFAへの結合を示さなかった。アバスチンは、rh CD93への結合もrm VEGFAへの結合も

50

示さなかった。アバスチン、キメラ7F3、キメラ7F3／VEGFRFcおよびヒト化7F3／VEGFRFcは、対照hIgG Fcへの結合活性を示さなかった。

【0702】

6. アバスチン、VEGFRFc、およびヒト化7F3／VEGFRFcのOctet結合親和性分析

rh VEGFAへのアバスチン、VEGFRFc、およびヒト化7F3／VEGFRFcの結合親和性を、Octet QKe (Fortebio)を使用したバイオレイヤー干渉法により、決定した。rh VEGFAを自組織内で作製し、EZ-LINK NHS-PEG4ビオチン (Thermo Fisher Scientific)を用いてビオチン化した。ストレプトアビジンバイオセンサー (Fortebio)を使用して、ビオチン化rh VEGFAタンパク質をロードした(5 µg/mlで300秒)。ベースラインを1倍動態緩衝液 (Fortebio) 中で60秒間安定化した後、段階希釈したアバスチン、VEGFRFc、およびヒト化7F3／VEGFRFcを捕捉タンパク質と300秒間会合させた。次いで、それらのセンサーを1倍動態緩衝液中で600秒間解離させた。ForteBio Data Analysis HT 11.1ソフトウェアでデータ分析を行った。

10

【0703】

図53Gは、rh VEGFAタンパク質とのVEGFRFcの結合親和性と、rh VEGFAタンパク質とのヒト化7F3／VEGFRFcの結合親和性が同様であること (VEGFRFcトラップが0.93 nMであり、7F3／VEGFRFcが2 nMである) ことを示す。

20

30

40

50

【表 1 2 - 1】

配列表

| 配列番号 | 説明                           | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                    |
|------|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.   | 10B1 HC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | SFGVN                                                                                                                              |
| 2.   | 10B1 HC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | VIWSGGSTDYNVAFIS                                                                                                                   |
| 3.   | 10B1 HC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | NWRYDGYFYAMDY                                                                                                                      |
| 4.   | 10B1 LC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | KASQNVGTNVA                                                                                                                        |
| 5.   | 10B1 LC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | SASYRFI                                                                                                                            |
| 6.   | 10B1 LC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | QQYNRNPIT                                                                                                                          |
| 7.   | 10B1 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | DFSLSSFG                                                                                                                           |
| 8.   | 10B1 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | IWSGGST                                                                                                                            |
| 9.   | 10B1 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | ARNWRYDGYFYAMDY                                                                                                                    |
| 10.  | 10B1 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | QNVGTN                                                                                                                             |
| 11.  | 10B1 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | SAS                                                                                                                                |
| 12.  | 10B1 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | QQYNRNPIT                                                                                                                          |
| 13.  | 10B1 VH<br>アミノ酸配列            | QVQLKQSGPGLVQPSSLSITCTVSDFLSSFGVNWV<br>RQPPGKGLEWLGVIWSGGSTDYNVAFISRLSISKDNS<br>KSQVFFKMNNLQADDTAIYYCARNWRYDGYFYAM<br>DYWGQGTSTVSS |
| 14.  | 10B1 VL<br>アミノ酸配列            | DIVMTQSQKFMSTSTGDRVSVTCKASQNVGTNVAW<br>YQQKPGQSPKALIYSASYRFIGVPDRFTGSGSGTDFTL<br>TITNVQSEDLAEYFCQQYNRNPITFGSGTKLEIK                |
| 15.  | 10B1 VH<br>DNA<br>配列         | CAGGTGCAGCTGAAGCAGTCAGGACCTGGCCTAGT<br>GCAGCCCTCACAGAGCCTGTCCATCACCTGCACAG<br>TCTCTGATTTCTCATTATCTAGCTTTGGTGTAACT                  |

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2】

| 配列番号 | 説明                           | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|------|------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      |                              | GGGTTTCGCCAGCCTCCAGGAAAGGGTCTGGAGTGG<br>CTGGGGGTGATATGGAGTGGTGGAAGTACAGACTA<br>TAATGTAGCTTTCATATCCAGACTGAGCATCAGCA<br>AGGACAACCTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTTAAAAATG<br>AACAACTCTGCAAGCTGATGACACAGCCATATACTA<br>CTGTGCCAGAAAATTGGAGGTATGATGGTTACTTCT<br>ATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTC<br>ACCGTCTCCTCAG                                                                       |
| 16.  | 10B1 VL<br>DNA<br>配列         | GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTC<br>CACATCAACAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCTGCA<br>AGGCCAGTCAGAATGTGGGTACTAATGTAGCCTGG<br>TATCAACAGAAACCAGGACAGTCTCCTAAAGCACT<br>GATTIACCTCGGCATCATAACCGATTTCATTGGAGTCCC<br>TGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATT<br>TCACTCTCACCATCACCAATGTGCAGTCTGAAGAC<br>TTGGCAGAGTATTTCTGTCAGCAATATAACAGAAA<br>TCCTATCACGTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAA<br>TAAAC |
| 17.  | 16E4 HC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | SYWMH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 18.  | 16E4 HC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | EIDPSASYTYYNQKFKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 19.  | 16E4 HC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | SVYYGNKYFDV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 20.  | 16E4 LC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | KASQSVDYAGDSYMN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 21.  | 16E4 LC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | AASNLES                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 22.  | 16E4 LC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | QQTNEPRT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 23.  | 16E4 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | GYTFTSYW                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 24.  | 16E4 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | IDPSASYT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 25.  | 16E4 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | ARSVYYGNKYFDV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 26.  | 16E4 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | QSVDYAGDSY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 3】

| 配列番号 | 説明                           | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|------|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 27.  | 16E4 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | AAS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 28.  | 16E4 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | QQTNEDPRT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 29.  | 16E4 VH<br>アミノ酸配列            | QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMH<br>WVKQRPGQGLEWIGEIDPSASYTYYNQKFKGKATLT<br>VDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSVYYGNKYF<br>DVWGAGTTVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 30.  | 16E4 VL<br>アミノ酸配列            | DIVLTQSPASLA VSLGQRATISCKASQSV DYAGDSYM<br>NWYQQKPGQP P KLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTD<br>FTLNHPVEEEDAATYYCQQTNEDPRTFGGGTKLEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 31.  | 16E4 VH<br>DNA<br>配列         | CAGGTCCAGCTTCAGCAGCCTGGGGCTGAACTGGT<br>GAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGCTGTCCTGCAAGG<br>CTTCTGGATACACCTTCACTAGCTACTGGATGCACT<br>GGGTGAAGCAGAGGCCCTGGACAAGGCCTTGAGTG<br>GATCGGAGAGATTGATCCTTCTGCTAGTTATACTTA<br>CTACAATCAAAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGA<br>CTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAA<br>CTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTA<br>TTACTGTGCAAGATCGGTCTACTATGGTAACAAGT<br>ATTTCGATGTCTGGGGCGCAGGGACCACGGTCACC<br>GTCTCCTCA |
| 32.  | 16E4 VL<br>DNA<br>配列         | GACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCT<br>GTGTCTCTAGGGCAGAGGGGCCACCATCTCCTGCAA<br>GGCCAGCCAAAGTGTGATTATGCCGGTGATAGTT<br>ATATGAACTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCC<br>ACCCAAACTCCTCATCTATGCTGCATCCAATCTAGA<br>ATCTGGGATCCCAGCCAGGTTTAGTGGCAGTGGGT<br>CTGGGACAGACTTCACCTCAACATCCATCCTGTG<br>GAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCA<br>AACTAATGAGGATCCTCGGACGTTCCGGTGGAGGCA<br>CCAAGCTGGAAATCAAAC                                 |
| 33.  | 5H9 HC-<br>CDR1<br>(Kabat)   | TYWMN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 34.  | 5H9 HC-<br>CDR2<br>(Kabat)   | RIFPGDGDANYNGKFKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 35.  | 5H9 HC-<br>CDR3<br>(Kabat)   | TGAAYDFDPPFY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 36.  | 5H9 LC-<br>CDR1<br>(Kabat)   | SSSKSLLHSNGVTYLY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 37.  | 5H9 LC-<br>CDR2              | RMSNLAS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 4】

| 配列番号 | 説明                          | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|------|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      | (Kabat)                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 38.  | 5H9 LC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | AQMLERPFT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 39.  | 5H9 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | GYAFSTYW                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 40.  | 5H9 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | IFPGDGDA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 41.  | 5H9 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | TRTGAAYDFDFPY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 42.  | 5H9 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | KSLLSHNGVTY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 43.  | 5H9 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | RMS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 44.  | 5H9 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | AQMLERPFT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 45.  | 5H9 VH<br>アミノ酸配列            | QVQLQQSGPDLVKPGASVKISCKASGYAFSTYWMN<br>WVKQRPGKGLEWIGRIIPGDDANNGKFKGKATL<br>TADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRTGAAYDFDP<br>FPYWGQGLTVSA                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 46.  | 5H9 VL<br>アミノ酸配列            | DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCSKSLLSHNGVTYL<br>YWYLQRPQGSPQLLIYRMSNLASGVDPDRFSGSGSGT<br>DFTLRISRVEAEDVGIYYCAQMLERPFTFGSGTKLEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 47.  | 5H9 VH<br>DNA<br>配列         | CAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGACCTGGT<br>GAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGATTTCCTGCAAAG<br>CTTCTGGCTACGCATTCAGTACCTACTGGATGAACT<br>GGGTGAAGCAGAGGCCTGGAAAGGGTCTTGAGTG<br>GATTGGACGGATTTTTCCTGGAGATGGAGATGCTA<br>ACTACAATGGGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTG<br>ACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCA<br>ACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCT<br>ACTTCTGTACAAGAACTGGGGCCGCCTATGATTTC<br>GACCCTTTTCCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTC<br>ACTGTCTCTGCAG |
| 48.  | 5H9 VL DNA<br>配列            | GATATTGTGATGACGCAGGCTGCATTCTCCAATCC<br>AGTCACTCTTGGAACATCAGCTTCCATCTCTTGCA<br>TTCTAGTAAGAGTCTCCTACATAGTAATGGCGTCA<br>CTTATTTGTATTGGTATCTGCAGAGGCCAGGCCAGT<br>CTCCTCAGCTCCTGATATATCGGATGTCCAACCTTG<br>CCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGG<br>TCAGGAAGTATTTCACTGAGAATCAGCAGAGT<br>GGAGGCTGAGGATGTGGGTATTTATTACTGTGCTC                                                                                                  |

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 5】

| 配列番号 | 説明                           | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                       |
|------|------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      |                              | AAATGCTAGAACGCCCATTCACGTTCCGGCTCGGGG<br>ACAAAGTTGGAAATAAAAC                                                                           |
| 49.  | 16G9 HC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | DYYMN                                                                                                                                 |
| 50.  | 16G9 HC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | RVNPNNGGKTYNQKFKG                                                                                                                     |
| 51.  | 16G9 HC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | WRLRPVDYGMDY                                                                                                                          |
| 52.  | 16G9 LC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | RASQSVSTSSYSYMH                                                                                                                       |
| 53.  | 16G9 LC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | YASNLES                                                                                                                               |
| 54.  | 16G9 LC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | QHSWEIPFT                                                                                                                             |
| 55.  | 16G9 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | GYTFTDYY                                                                                                                              |
| 56.  | 16G9 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | VNPNNGGK                                                                                                                              |
| 57.  | 16G9 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | ARWRLRPVDYGMDY                                                                                                                        |
| 58.  | 16G9 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | QSVSTSSYSY                                                                                                                            |
| 59.  | 16G9 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | YAS                                                                                                                                   |
| 60.  | 16G9 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | QHSWEIPFT                                                                                                                             |
| 61.  | 16G9 VH<br>アミノ酸配列            | EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYYMN<br>WVKQSHGKSLEWIGRVNPNNGGKTYNQKFKGKATL<br>TVDKSLSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARWRLRPVDY<br>GMDYWGQGTSVTVSS |
| 62.  | 16G9 VL<br>アミノ酸配列            | DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYMH<br>WYQQKPGQPPLLIK YASNLESGVPARFSGSGSGTDF<br>TLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPFTFGSGTKLEIK               |

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 6】

| 配列番号 | 説明                            | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|------|-------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 63.  | 16G9 VH<br>DNA<br>配列          | GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGT<br>GAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGTAAGG<br>CTTCTGGATACACATTCAGTACTACTACATGAACT<br>GGGTGAAGCAGAGTCATGGAAAGAGTCTTGAGTG<br>GATTGGACGTGTTAATCCTAACAAATGGTGGTAAAA<br>CCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTG<br>ACAGTAGACAAATCCCTCAGCACAGCCTACATGCA<br>GCTCAACAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCT<br>ATTACTGTGCAAGATGGAGGCTACGGCCCGTTGAC<br>TATGGTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGT<br>CACCGTCTCCTCAG |
| 64.  | 16G9 VL<br>DNA<br>配列          | GACATTGTGCTGACACAGTCTCCTGCTTCCTTGGCT<br>GTATCTCTGGGGCAGAGGGCCACCATCTCATGCAG<br>GGCCAGCCAAAGTGTCAAGTACATCTAGCTATAGTT<br>ATATGCACTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCA<br>CCCAAACCTCCTCATCAAGTATGCATCCAACCTAGA<br>ATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTCAAGTGGCAGTGGGT<br>CTGGGACAGACTTCACCCCTCAACATCCATCCTGTG<br>GAGGAGGAGGATACTGCAACATATTACTGTCAGCA<br>CAGTTGGGAGATTCCATTACGTTTCGGCTCGGGGA<br>CAAAGTTGGAAATAAAAC                               |
| 65.  | 19E12 HC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | DYEMH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 66.  | 19E12 HC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | GIDPETGGTAYNQKFKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 67.  | 19E12 HC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | GAWFAY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 68.  | 19E12 LC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | RSSTGAVTTSNSAN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 69.  | 19E12 LC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | GTNNRAP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 70.  | 19E12 LC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | ALWYNNHFV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 71.  | 19E12 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | GYTFTDYE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 72.  | 19E12 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | IDPETGGT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 73.  | 19E12 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | TRGAWFAY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 7】

| 配列番号 | 説明                            | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|------|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 74.  | 19E12 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | TGAVTTSNS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 75.  | 19E12 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | GTN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 76.  | 19E12 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | ALWYNNHFV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 77.  | 19E12 VH<br>アミノ酸配列            | QVQLQQSGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTDYEMH<br>WVRQTPVHGLEWIGGIDPETGGTAYNQKFKGKATLT<br>ADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTRGAWFAYWG<br>QGTLVTVSA                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 78.  | 19E12 VL<br>アミノ酸配列            | QAVVTQESALTTSPGETVTLTCSRSTGAVTTSNSANW<br>VQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGDKAA<br>LTITGAQTEDEAIYFCALWYNNHFVFGGGTKLTVL                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 79.  | 19E12 VH<br>DNA<br>配列         | CAGGTTCAATTGCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTGGT<br>GAGGCCTGGGGCTTCAGTGAAGCTGTCCTGCAAGG<br>CTTCGGGCTATACATTTACTGACTATGAAATGCACT<br>GGGTGAGGCAGACACCTGTGCATGGCCTGGAATGG<br>ATTGGAGGTATTGATCCTGAAACTGGTGGTACTGC<br>CTACAATCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGA<br>CTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAG<br>CTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCGTCTAT<br>TACTGTACACGAGGGGCTGGTTTGCTTACTGGGG<br>CCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCAG |
| 80.  | 19E12 VL<br>DNA<br>配列         | CAGGCTGTTGTGACTCAGGAATCTGCACTCACCAC<br>ATCACCTGGTGAAACAGTCACACTCACTTGTCGCT<br>CAAGTACTGGGGCTGTTACAAGTAACTCTGCC<br>AACTGGGTCCAAGAAAAACCAGATCATTATTCAC<br>TGGTCTAATCGGTGGTACCAACAACCGAGCTCCAG<br>GTGTTCCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGATTGGAG<br>ACAAGGCTGCCCTCACCATCACAGGGGCACAGACT<br>GAGGATGAGGCAATATATTTCTGTGCTCTATGGTA<br>CAACAACCATTTCGTGTTCTGGTGGAGGCACCAAAC<br>TGACTGTCCTAG                    |
| 81.  | 17G11 HC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | SYWMH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 82.  | 17G11 HC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | AIYPGNSDTSYNQKFKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 83.  | 17G11 HC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | GGFDYSNYWFAY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 84.  | 17G11 LC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | KASQSVSNDVA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

10

20

30

40

50

【表 12 - 8】

| 配列番号 | 説明                            | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|------|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 85.  | 17G11 LC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | YASNRYT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 86.  | 17G11 LC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | QQDYSSYT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 87.  | 17G11 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | GYTFTSYW                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 88.  | 17G11 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | IYPGNSDT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 89.  | 17G11 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | TRGGFDYSNYWFAY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 90.  | 17G11 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | QSVSND                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 91.  | 17G11 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | YAS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 92.  | 17G11 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | QQDYSSYT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 93.  | 17G11 VH<br>アミノ酸配列            | EVQLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYTFTSYWMH<br>WVKQRPGQGLEWIGAIYPGNSDTSYNQKFKGKAKLT<br>AVTSASTAYMELSSLTNEDSAVYYCTRGGFDYSNYW<br>FAYWGQGTLLTVSA                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 94.  | 17G11 VL<br>アミノ酸配列            | SIVMTQTPKFLLVSAGDRVITITCKASQSVSNDVAWY<br>QQKPGQSPKLLIYYASNRYTGVPDRFTGSGYGTDFTF<br>TISTVQAEDLAVYFCQQDYSSYTFGGGKLEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 95.  | 17G11 VH<br>DNA<br>配列         | GAGGTTGAGCTCCAGCAGTCTGGGACTGTGCTGGC<br>AAGGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGG<br>CTTCTGGCTACACCTTTACCAGCTACTGGATGCACT<br>GGGTAAAACAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATG<br>GATTGGCGCTATTTATCCTGGAAATAGTGATACTA<br>GCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCAACT<br>GACTGCAGTCACATCTGCCAGCACTGCCTACATGG<br>AGCTCAGCAGCCTGACAAATGAGGACTCTGCGGTC<br>TATTAAGTGTACAAGAGGAGGATTTGACTATAGTAA<br>CTACTGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGG<br>TCACTGTCTCTGCA |
| 96.  | 17G11 VL<br>DNA<br>配列         | AGTATTGTGATGACCCAGACTCCCAAATTCCTGCTT<br>GTATCAGCAGGAGACAGGGTTACCATAACCTGCAA<br>GGCCAGTCAGAGTGTGAGTAATGATGTAGCTTGGT<br>ACCAACAGAAGCCAGGGCAGTCTCCTAAACTGCTG<br>ATATACTATGCATCCAATCGCTACACTGGAGTCCCT<br>GATCGCTTCACTGGCAGTGGATATGGGACGGATT                                                                                                                                                                             |

10

20

30

40

50

【表 12 - 9】

| 配列番号 | 説明                           | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                     |
|------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      |                              | CACTTTTCACCATCAGCACTGTGCAGGCTGAAGACC<br>TGGCAGTTTATTTCTGTCAGCAGGATTATAGCTCGT<br>ACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAA<br>AC           |
| 97.  | 16B6 HC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | RSWMN                                                                                                                               |
| 98.  | 16B6 HC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | WIYPGDGDTNYNGKFKG                                                                                                                   |
| 99.  | 16B6 HC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | SATLPYWYFDV                                                                                                                         |
| 100. | 16B6 LC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | KASQDIKSYLS                                                                                                                         |
| 101. | 16B6 LC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | YATNLAD                                                                                                                             |
| 102. | 16B6 LC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | LQHVESPWT                                                                                                                           |
| 103. | 16B6 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | GYAFSRSW                                                                                                                            |
| 104. | 16B6 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | IYPGDGDT                                                                                                                            |
| 105. | 16B6 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | ARSATLPYWYFDV                                                                                                                       |
| 106. | 16B6 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | QDIKSY                                                                                                                              |
| 107. | 16B6 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | YAT                                                                                                                                 |
| 108. | 16B6 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | LQHVESPWT                                                                                                                           |
| 109. | 16B6 VH<br>アミノ酸配列            | QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFSRSWMNW<br>VKQRPKGLEWIGWIYPGDGDTNYNGKFKGKATLT<br>ADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAAAYFCARSATLPYWYF<br>DVWGAGTTVTSS |
| 110. | 16B6 VL<br>アミノ酸配列            | DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDIKSYLSWYQ<br>QKPWKSPKTLIYYATNLADGVPSRFSGSGSGQDYSLT<br>ISLGSDDTATYYCLQHVESPWTFGGGTKLEIK                  |

10

20

30

40

50

【表 12 - 10】

| 配列番号 | 説明                           | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|------|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 111. | 16B6 VH<br>DNA<br>配列         | CAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGT<br>GAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGATTCCTGCAAAG<br>CTTCTGGCTATGCATTCAGTCGCTCCTGGATGAACT<br>GGGTAAAGCAGAGGCCTGGAAAGGGTCTTGAGTG<br>GATTGGATGGATTATCCTGGAGATGGTGATACTA<br>ACTACAATGGAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTG<br>ACTGCAGACAAATCCTCAAGCACAGCCTACATGCA<br>GCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGCCT<br>ATTTCTGTGCAAGGTCGGCTACCTACCTTACTGGT<br>ACTTCGATGTCTGGGGCGCAGGGACCACGGTCACC<br>GTCTCCTCAG |
| 112. | 16B6 VL<br>DNA<br>配列         | GACATCAAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCATGTA<br>TGCATCGCTGGGAGAGAGAGTCACTATCACTTGCA<br>AGGCGAGTCAGGACATTAAAAGCTATTTAAGTTGG<br>TACCAGCAGAAACCATGGAAATCTCCTAAGACCCT<br>GATCTATTATGCAACAACTTGGCAGATGGGGTCC<br>CATCAAGATTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGCAGGAT<br>TATTCTTAACCATCAGCAGCCTGGGGTCTGACGA<br>TACAGCAACTTATTACTGTCTACAGCATGTTGAGA<br>GCCCCGTGGACGTTCTGGTGGAGGCACCAAGCTGGAA<br>ATCAAAC                                        |
| 113. | 20C7 HC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | AYVMH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 114. | 20C7 HC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | YIFPYNDGTEYNEKFKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 115. | 20C7 HC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | RTDGNPYTMDY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 116. | 20C7 LC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | KASQDVSTAVA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 117. | 20C7 LC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | SASYRYT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 118. | 20C7 LC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | QQHYSTPFT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 119. | 20C7 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | GYTFTAYV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 120. | 20C7 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | IFPYNDGT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 121. | 20C7 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | ARRTDGNPYTMDY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 1 1】

| 配列番号 | 説明                           | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 122. | 20C7 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | QDVSTA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 123. | 20C7 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | SAS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 124. | 20C7 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | QQHYSSPFT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 125. | 20C7 VH<br>アミノ酸配列            | EVQLQQSGPELVNPGASVKMSCKASGYTFTAYVMH<br>WVKQKPGQGLEWIGYIFPYNDGTEYNEKFKGKATLT<br>SDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARRTDGNPYTM<br>DYWGQGTSTVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 126. | 20C7 VL<br>アミノ酸配列            | DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWY<br>QQKPGQSPKLLIHSASYRYTGVPDRFTGRGSGTDFTF<br>TISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPFTFGSGTKLEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 127. | 20C7 VH<br>DNA<br>配列         | GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGTTGGT<br>AAATCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGG<br>CTTCTGGATACACATTCAGTGCCTATGTTATGCACT<br>GGGTGAAACAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTG<br>GATTGGATATATTTTTCCTTACAATGATGGTACTGA<br>GTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTG<br>ACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGA<br>GCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCT<br>ATTACTGTGCAAGGAGGACAGATGGTAACCCCTAT<br>ACTATGGACTATTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCAC<br>CGTCTCCTCAG |
| 128. | 20C7 VL<br>DNA<br>配列         | GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTC<br>CACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCATCACCTGCA<br>AGGCCAGTCAGGATGTGAGTACTGCTGTAGCCTGG<br>TATCAACAGAAACCAGGACAATCTCCTAAACTACT<br>GATTCATTTCGGCATCCTACCGGTACACTGGAGTCC<br>CTGATCGCTTCACTGGCAGAGGATCTGGGACGGAT<br>TTCACTTTCACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGA<br>CCTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAACATTATAGTAC<br>TCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAA<br>TAAAC                                            |
| 129. | 12H4 HC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | DYYIH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 130. | 12H4 HC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | EIYPGSDDAYYNEKFKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 131. | 12H4 HC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | ETTATAY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 132. | 12H4 LC-<br>CDR1             | SASSSVSLIY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

10

20

30

40

50

【表 12 - 12】

| 配列番号 | 説明                           | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|------|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      | (Kabat)                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 133. | 12H4 LC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | STSNLAS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 134. | 12H4 LC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | QQRSGYPPT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 135. | 12H4 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | GYTFTDYY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 136. | 12H4 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | IYPGSDDA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 137. | 12H4 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | TRETTATAY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 138. | 12H4 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | SSVSL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 139. | 12H4 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | STS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 140. | 12H4 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | QQRSGYPPT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 141. | 12H4 VH<br>アミノ酸配列            | EVQLQQSGPELVKPGASVKVSKASGYTFTDYYIHW<br>VKQRPQGGLWIGEIYPGSDDAYYNEKFKGKATLTA<br>DKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRETTATAYWGQ<br>GTLVTVSA                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 142. | 12H4 VL<br>アミノ酸配列            | QIVLTQSPAIMASPGGEKVTITCSASSSVSLIYWFQQKP<br>GTSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRM<br>EAEDAATYYCQQRSGYPPTFGGGTKLEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 143. | 12H4 VH<br>DNA<br>配列         | CTGAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTG<br>GTTAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGGTATCCTGCAA<br>GGCCTCTGGATACACATTCAGTACTACTATATAC<br>ACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGGCAGGGCCTTGA<br>GTGGATTGGAGAGATTTATCCTGGAAGTGATGATG<br>CTTACTACAATGAGAAATTCAAGGGCAAGGCCACA<br>CTGACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACAT<br>GCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAG<br>TCTATTTCTGTACAAGAGAGACTACGGCTACGGCT<br>TACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGC<br>AG |
| 144. | 12H4 VL<br>DNA<br>配列         | CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCT<br>GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACCATAACCTGCAG<br>TGCCAGCTCAAGTGTAAGTCTCATTACTGGTTCCA<br>GCAGAAGCCAGGCACTTCTCCCAAACTCTGGATT                                                                                                                                                                                                                                               |

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 1 3】

| 配列番号 | 説明                           | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                       |
|------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      |                              | ATAGCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTC<br>GCTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACCTCTTACTCTC<br>TCACAATCAGCCGAATGGAGGCTGAAGATGCTGCC<br>ACTTATTACTGCCAGCAAAGGAGTGGTTACCCACC<br>CACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA<br>C |
| 145. | 16A1 HC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | DHGIH                                                                                                                                                                                                 |
| 146. | 16A1 HC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | NISPGNGDIKYNEKFKG                                                                                                                                                                                     |
| 147. | 16A1 HC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | YFVD                                                                                                                                                                                                  |
| 148. | 16A1 LC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | KSSQSLNSNNQKNCLA                                                                                                                                                                                      |
| 149. | 16A1 LC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | FACTRES                                                                                                                                                                                               |
| 150. | 16A1 LC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | QQHCNTPLT                                                                                                                                                                                             |
| 151. | 16A1 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | GYTFTDHG                                                                                                                                                                                              |
| 152. | 16A1 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | ISPGNGDI                                                                                                                                                                                              |
| 153. | 16A1 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | TTYFVD                                                                                                                                                                                                |
| 154. | 16A1 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | QSLNSNNQKNC                                                                                                                                                                                           |
| 155. | 16A1 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | FAC                                                                                                                                                                                                   |
| 156. | 16A1 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | QQHCNTPLT                                                                                                                                                                                             |
| 157. | 16A1 VH<br>アミノ酸配列            | QVQLQQSDAELVKPGTSVKISCKASGYTFTDHGIHW<br>VKQRPERGLEWIGNISPGNGDIKYNEKFKGKATLTAD<br>KSSSTVYMQVNSLTSEDSAVYFCTTYFVDWGRGTLV<br>TVSA                                                                         |

10

20

30

40

50

【表 12-14】

| 配列番号 | 説明                           | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 158. | 16A1 VL<br>アミノ酸配列            | DIVMTQSPSSLAMSIGQRVTMSCKSSQSLNSNNQKN<br>CLAWYQQKPGQSPRLLIYFACTRESGVPDRFIGSGSG<br>TDFTLTISVQAEDLAYYFCQQHCNTPLTFGAGTKLE<br>LK                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 159. | 16A1 VH<br>DNA<br>配列         | CAGGTTTCAGCTGCAACAGTCTGACGCTGAGTTGGT<br>GAAACCTGGGACTTCAGTGAAGATATCCTGCAAGG<br>CTTCTGGCTACACCTTCACTGACCATGGTATTCACT<br>GGGTGAAACAGAGGCCTGAACGGGGCCTGGAATG<br>GATTGGAAATATTTCTCCCGGAAATGGTGATATTA<br>AGTATAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACGCTG<br>ACTGCAGACAAATCCTCCAGCACTGTCTACATGCA<br>GGTCAACAGCCTGACATCTGAGGATTCTGCAGTGT<br>ATTTCTGTACAACCTATTTTGTGACTGGGGCCGGG<br>GGACTCTGGTCACTGTCTCTGCAAG |
| 160. | 16A1 VL<br>DNA<br>配列         | GACATTGTGATGACACAGTCTCCATCCTCCCTGGCT<br>ATGTCAATTGGACAGAGGGTCACTATGAGCTGCAA<br>GTCCAGTCAGAGCCTTTTAAATAGTAACAATCAAA<br>AGAACTGTTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGA<br>CAGTCTCCTAGACTTCTGATTTACTTTGCATGTACT<br>AGGGAATCGGGGGTCCCTGATCGCTTCATTGGCAG<br>TGGATCTGGGACAGATTTACCCCTACCATCAGCA<br>GTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCATATTACTTCTGT<br>CAGCAACATTGTAACACTCCGCTCACGTTTCGGTGC<br>TGGGACCAAGCTGGAGCTGAAAC  |
| 161. | 17A7 HC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | TYWMN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 162. | 17A7 HC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | RIFPGDGD TDYDGKFKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 163. | 17A7 HC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | TGAAYEFDPPY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 164. | 17A7 LC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | SSTKSLHSSGITYLY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 165. | 17A7 LC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | RMSNLAS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 166. | 17A7 LC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | AQMLERPFT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 167. | 17A7 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | GYAFSTYW                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

10

20

30

40

50

【表 12 - 15】

| 配列番号 | 説明                           | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|------|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 168. | 17A7 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | IFPGDGD                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 169. | 17A7 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | ARTGAAYEFDPFPY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 170. | 17A7 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | KSLHSSGITY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 171. | 17A7 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | RMS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 172. | 17A7 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | AQMLERPFT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 173. | 17A7 VH<br>アミノ酸配列            | QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKGSGYAFSTYWMN<br>WVKQRPKGLEWIGRIFPGDGDYDYGKFKGKATLT<br>ADKSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARTGAAYEFDP<br>FPYWGQGTTLVTVSA                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 174. | 17A7 VL<br>アミノ酸配列            | DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCSSTKSLHSSGITYLY<br>WYLQRPQGSPQLLIYRMSNLASGVDPDRFSGSGSGTDF<br>TLRISRVEAEDVGVIYCAQMLERPFTFGSGTKLEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 175. | 17A7 VH<br>DNA<br>配列         | CAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGT<br>GAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGATTTCTGCAAAG<br>GTTCTGGCTACGCATTCAGTACCTACTGGATGAAGT<br>GGGTGAAGCAGAGGCCCTGGAAGGGTCTTGAGTG<br>GATTGGACGGATTTTCTGAGATGGAGATACAG<br>ATTACGATGGGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTG<br>ACTGCAGACAAATCCTCCAACACAGCCTACATGCA<br>ACTCAGCAGCCTGACATCTGAAGACTCTGCGGTCT<br>ACTTCTGTGCAAGAACTGGGGCCGCCTATGAATTC<br>GACCCCTTTCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTC<br>ACTGTCTCTGCAG |
| 176. | 17A7 VL<br>DNA<br>配列         | GATATTGTGATGACGCAGGCTGCATTCTCCAATCC<br>AGTCACTCTTGGAACATCAGCTTCCATCTCTTGCA<br>TTCTACTAAGAGTCTCCTACATAGTAGCGGCATCA<br>CTTATCTGTATTGGTATCTGCAGAGGCCAGGCCAG<br>TCTCCTCAGCTCCTGATATATCGGATGTCCAACCTT<br>GCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGG<br>GTCAGGAAGTATTTCACTGAGAATCAGCAGAG<br>TGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTGCT<br>CAAATGCTAGAACGCCCATTCACGTTCCGGCTCGGG<br>GACAAAGTTGGAAATAAAAC                              |
| 177. | 17B10 HC-<br>CDR1<br>(Kabat) | SYWLN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

10

20

30

40

50

【表 12 - 16】

| 配列番号 | 説明                            | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                          |
|------|-------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 178. | 17B10 HC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | RIYPGDGDDTDYNGKFKG                                                                                                                                                                                                                       |
| 179. | 17B10 HC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | GDGYWAMDY                                                                                                                                                                                                                                |
| 180. | 17B10 LC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | RFSKSLHNSNGITYLY                                                                                                                                                                                                                         |
| 181. | 17B10 LC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | QMSNLAS                                                                                                                                                                                                                                  |
| 182. | 17B10 LC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | AQNLELPWT                                                                                                                                                                                                                                |
| 183. | 17B10 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | GYAFSSYW                                                                                                                                                                                                                                 |
| 184. | 17B10 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | IYPGDGDT                                                                                                                                                                                                                                 |
| 185. | 17B10 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | VRGDGYWAMDY                                                                                                                                                                                                                              |
| 186. | 17B10 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | KSLHNSNGITY                                                                                                                                                                                                                              |
| 187. | 17B10 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | QMS                                                                                                                                                                                                                                      |
| 188. | 17B10 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | AQNLELPWT                                                                                                                                                                                                                                |
| 189. | 17B10 VH<br>アミノ酸配列            | QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSYWLNW<br>VKQRPKGLEWFGRIYPGDGDDTDYNGKFKGKATLT<br>ADKSSSTAYMQLRSLTSEDSAVYFCVRGDGYWAMD<br>YWGQGTSVTVSS                                                                                                       |
| 190. | 17B10 VL<br>アミノ酸配列            | DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRFSKSLHNSNGITYL<br>YWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDFSSSGSGTD<br>FTLRISRVEAEDVGVYYCAQNLELPWTFGGGTKLEIK                                                                                                                  |
| 191. | 17B10 VH<br>DNA<br>配列         | CAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGT<br>GAAGCCTGGGGCCTCGGTGAAGATTTCCTGCAAAG<br>CTTCTGGCTACGCATTTCAGTAGCTACTGGCTGAACT<br>GGGTGAAGCAGAGGCCTGGAAAGGGTCTTGAGTG<br>GTTTGGACGGATTTATCCTGGAGATGGAGATACTG<br>ACTACAATGGGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTG |

10

20

30

40

50

【表 12 - 17】

| 配列番号 | 説明                           | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|------|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      |                              | ACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCA<br>ACTCAGAAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCT<br>ACTTCTGTGTAAGAGGTGATGGTTACTGGGCTATG<br>GACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTC<br>CTCAG                                                                                                                                                                                                                        |
| 192. | 17B10 VL<br>DNA<br>配列        | GATATTGTGATGACGCAGGCTGCATTCTCCAATCC<br>AGTCACTCTTGGAACATCAGCTTCCATCTCCTGCAG<br>GTTTAGTAAGAGTCTCCTACATAGTAATGGCATCA<br>CTTATTTGTATTGGTATCTGCAGAAAGCCAGGCCAGT<br>CTCCTCAGCTCCTGATTTATCAGATGTCCAACCTTG<br>CCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTTCAGTAGCAGTGGG<br>TCAGGAACTGATTTCACACTGAGAATCAGCAGAGT<br>GGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTGCTC<br>AAAATCTAGAACTTCCGTGGACGTTTCGGTGGAGGC<br>ACCAAGCTGGAAATCAAAC |
| 193. | 19B5 HC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | NYYMS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 194. | 19B5 HC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | TISNNGDSTYYLDTVKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 195. | 19B5 HC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | VGTGFTY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 196. | 19B5 LC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | RASQSINNYLH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 197. | 19B5 LC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | FASQSIG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 198. | 19B5 LC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | QQSNSWPLT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 199. | 19B5 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | GFTFSNYY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 200. | 19B5 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | ISNNGDST                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 201. | 19B5 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | TRVGTGFTY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 202. | 19B5 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | QSINNY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 203. | 19B5 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | FAS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

10

20

30

40

50

【表 12 - 18】

| 配列番号 | 説明                           | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 204. | 19B5 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | QQSNSWPLT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 205. | 19B5 VH<br>アミノ酸配列            | DVNLVESGGGLVKLGSLKLSAASGFTFSNYYMSW<br>VRQSPEKRLEWVATISNNGDSTYYLDTVKGRTISR<br>SAENTLYLQMSSLISED AVYYCTRVGTGFTYWGQ<br>TLVTVSA                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 206. | 19B5 VL<br>アミノ酸配列            | DIVLTQSPATLSVTPGDSVLS CRASQSINNYLHWYQ<br>QRSHESPRLLIKFASQSIDIPSRFSGSGSGTDFLSIN<br>ETEDFGMYFCQQSNSWPLTFGAGTKLELK                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 207. | 19B5 VH<br>DNA<br>配列         | GACGTGAACCTCGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGT<br>GAAGCTTGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCAG<br>CCTCTGGATTCACTTTCAGTAACTACTACATGTCTT<br>GGGTTCGCCAGAGTCCGGAGAAGAGGCTGGAGTG<br>GGTCGCAACCATTAGTAATAATGGTGATAGCACCT<br>ACTATCTAGACACTGTGAAGGGCCGATTACCATC<br>TCCAGAGACAGTGCCGAGAACACCTGTACCTGCA<br>AATGAGCAGTCTGATTTCTGAGGACACAGCCGTGT<br>ATTACTGTACAAGAGTTGGGACGGGGTTTACTTAC<br>TGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCAG |
| 208. | 19B5 VL<br>DNA<br>配列         | GATATTGTGCTAACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCT<br>GTGACTCCAGGAGATAGCGTCAGTCTTTCCTGCAG<br>GGCCAGCCAAAGTATTAACAACCTACCTACACTGGT<br>ATCAACAAAGATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTC<br>ATCAAGTTTGCTTCCCAGTCCATCTCTGACATCCCC<br>TCCAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTT<br>CACTCTCAGTATCAACAGTATAGAGACTGAAGATT<br>TTGGAATGTATTTCTGTCAACAGAGTAACAGCTGG<br>CCGCTCACGTTCCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCT<br>GAAAC                        |
| 209. | 17E6 HC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | SYVIH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 210. | 17E6 HC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | YINPYSDYTQYNEKFKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 211. | 17E6 HC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | RADGNPYAMDY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 212. | 17E6 LC-<br>CDR1<br>(Kabat)  | KASQDVSTAVV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 213. | 17E6 LC-<br>CDR2<br>(Kabat)  | SASYRYT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 214. | 17E6 LC-<br>CDR3<br>(Kabat)  | QQHYSTPFT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

10

20

30

40

50

【表 12 - 19】

| 配列番号     | 説明                           | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|----------|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 215.     | 17E6 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | GYTFTSYV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 216.     | 17E6 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | INPYSDYT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 217.     | 17E6 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | ARRADGNPYAMDY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 218.     | 17E6 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | QDVSTA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 219.     | 17E6 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | SAS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 220.     | 17E6 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | QQHYSTPFT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 221.     | 17E6 VH<br>アミノ酸配列            | EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVIHW<br>VKQKPGQGLEWIGYINPYSDYTQYNEKFKGKATLTS<br>DKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYSCARRADGNPYAMD<br>YWGQGTSTVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 222.     | 17E6 VL<br>アミノ酸配列            | DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSTTCKASQDVSTAVVW<br>YQQKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPDRFTGSGSGTDFT<br>FTITSVQAEDLAVYYCQQHYSTPFTFGSGTKLEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 223.     | 17E6 VH<br>DNA<br>配列         | GAGGTCCAGCTACAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGT<br>AAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGG<br>CTTCTGGATACACATTCAGTCTAGCTATGTTATTCAGT<br>GGGTAAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTG<br>GATTGGATATATTAATCCTTACAGTGATTATACTCA<br>GTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTG<br>ACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGA<br>GCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCT<br>ATTCTGTGCAAGGAGGGCAGATGGTAACCCCTAT<br>GCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCAC<br>CGTCTCCTCAG |
| 224.     | 17E6 VL<br>DNA<br>配列         | GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTC<br>CACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCACCACCTGCA<br>AGGCCAGTCAGGATGTGAGTACTGCTGTAGTCTGG<br>TATCAACAGAAACCAGGACAATCTCCTAAACTACT<br>GATTTACTCGGCATCCTACCGGTACACTGGAGTCC<br>CTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACGGAT<br>TTCACTTTCACCATCACCAGTGTGCAGGCTGAAGA<br>CCTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAACATTATAGTAC<br>TCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAA<br>TAAAC                                              |
| 例示的なリンカー |                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

10

20

30

40

50

【表 12 - 20】

| 配列番号                 | 説明                            | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                      |
|----------------------|-------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 225.                 | リンカー                          | (G) <sub>n</sub> , n>=1                                                                                                                                                                              |
| 226.                 | リンカー                          | (GS) <sub>n</sub> , 8>=n>=1                                                                                                                                                                          |
| 227.                 | リンカー                          | (GSGGS) <sub>n</sub> , 8>=n>=1                                                                                                                                                                       |
| 228.                 | リンカー                          | (GGGS) <sub>n</sub> , 8>=n>=1                                                                                                                                                                        |
| 229.                 | リンカー                          | (GGGS) <sub>n</sub> , 8>=n>=1                                                                                                                                                                        |
| 230.                 | リンカー                          | (GGGS) <sub>3</sub>                                                                                                                                                                                  |
| 231.                 | リンカー                          | (GGGS) <sub>6</sub>                                                                                                                                                                                  |
| 232.                 | リンカー                          | (GSTSGSGKPGSGEGS) <sub>n</sub><br>3>=n>=1                                                                                                                                                            |
| 抗CD93抗体の例示的なコンセンサス配列 |                               |                                                                                                                                                                                                      |
| 233.                 | CDRH2<br>(5H9/17A7)           | RIFPGDGD <sub>X1</sub> X <sub>2</sub> YX <sub>3</sub> GKFKG<br>X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> = ANまたはTD, X <sub>3</sub> = NまたはD                                                                       |
| 234.                 | CDRH3<br>(5H9/17A7)           | TGAAYX <sub>1</sub> FDPFPY<br>X <sub>1</sub> = DまたはE                                                                                                                                                 |
| 235.                 | CDRL1<br>(5H9/17A7)           | SSX <sub>1</sub> KSLLSX <sub>2</sub> GX <sub>3</sub> TYLY<br>X <sub>1</sub> = SまたはT, X <sub>2</sub> = NまたはS, X <sub>3</sub> = VまたはI                                                                  |
| 236.                 | CDRH1<br>(5H9/17A7/1<br>7B10) | X <sub>1</sub> YWX <sub>2</sub> N<br>X <sub>1</sub> =SまたはT, X <sub>2</sub> =LまたはM                                                                                                                    |
| 237.                 | CDRH2<br>(5H9/17A7/1<br>7B10) | RIX <sub>1</sub> PGDGD <sub>X2</sub> X <sub>3</sub> YX <sub>4</sub> GKFKG<br>X <sub>1</sub> =YまたはF, X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> =TDまたはAN, X <sub>4</sub> =NまたはD                                    |
| 238.                 | CDRL1<br>(5H9/17A7/1<br>7B10) | X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> KSLLSX <sub>4</sub> GX <sub>5</sub> TYLY<br>X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> =SSS, SST,またはRFS, X <sub>4</sub> =NまたはS, X <sub>5</sub> =VまたはI |
| 239.                 | CDRL2<br>(5H9/17A7/1<br>7B10) | X <sub>1</sub> MSNLAS<br>X <sub>1</sub> =RまたはQ                                                                                                                                                       |
| 240.                 | CDRL3<br>(5H9/17A7/1<br>7B10) | AQX <sub>1</sub> LEX <sub>2</sub> PX <sub>3</sub> T<br>X <sub>1</sub> =MまたはN, X <sub>2</sub> =RまたはL, X <sub>3</sub> =FまたはW                                                                           |
| 241.                 | CDRH1<br>(20C7/17E6)          | X <sub>1</sub> YVX <sub>2</sub> H<br>X <sub>1</sub> = AまたはS, X <sub>2</sub> = MまたはI                                                                                                                  |
| 242.                 | CDRH2<br>(20C7/17E6)          | YIX <sub>1</sub> PYX <sub>2</sub> DX <sub>3</sub> TX <sub>4</sub> YNEKFKG<br>X <sub>1</sub> = FまたはN, X <sub>2</sub> = NまたはS, X <sub>3</sub> = GまたはY, X <sub>4</sub> = EまたはQ                          |
| 243.                 | CDRH3<br>(20C7/17E6)          | RX <sub>1</sub> DGNPYX <sub>2</sub> MDY<br>X <sub>1</sub> = TまたはA, X <sub>2</sub> = TまたはA                                                                                                            |
| 244.                 | CDRL1<br>(20C7/17E6)          | KASQDVSTAVX <sub>1</sub><br>X <sub>1</sub> = AまたはV                                                                                                                                                   |
| 245.                 | CDRL1<br>(10B1/20C7/1<br>7E6) | KASQX <sub>1</sub> VX <sub>2</sub> TX <sub>3</sub> VX <sub>4</sub><br>X <sub>1</sub> =NまたはD, X <sub>2</sub> =GまたはS, X <sub>3</sub> = NまたはA, X <sub>4</sub> =AまたはV                                    |
| 246.                 | CDRL2<br>(10B1/20C7/1<br>7E6) | SASYRX <sub>1</sub> X <sub>2</sub><br>X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> =FIまたはYT                                                                                                                         |
| 247.                 | CDRL3                         | QQX <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> PX <sub>5</sub> T                                                                                                                      |

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2 1】

| 配列番号             | 説明                          | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                             |
|------------------|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  | (10B1/20C7/17E6)            | X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> =YNRNまたはHYST, X <sub>5</sub> =IまたはF                                                                                                                                                             |
| 248.             | CDRL1<br>(16E4/16G9)        | X <sub>1</sub> ASQSVX <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> SYM <sub>7</sub><br>X <sub>1</sub> = KまたはR, X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> =DYAGDまたはSTSSY, X <sub>7</sub> =NまたはH |
| 249.             | CDRL2<br>(16E4/16G9)        | X <sub>1</sub> ASNLES<br>X <sub>1</sub> =AまたはY                                                                                                                                                                                                              |
| 250.             | CDRL3<br>(16E4/16G9)        | QX <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> PX <sub>6</sub> T<br>X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> =QTNEDまたはHSWEI, X <sub>6</sub> =RまたはF                                           |
| 例示的な抗PD-L1抗体部分配列 |                             |                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 251.             | HC-CDR1                     | DTYMY                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 252.             | HC-CDR2                     | RIDPANDNTKYAQKFQG                                                                                                                                                                                                                                           |
| 253.             | HC-CDR3                     | AKNLLNYFDY                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 254.             | LC-CDR1                     | RASQEISGYLS                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 255.             | LC-CDR2                     | ATSTLQS                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 256.             | LC-CDR3                     | LQYAIYPLT                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 例示的な抗PD-1抗体部分配列  |                             |                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 257.             | Ab1 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | GFTFSSYT                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 258.             | Ab1 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | ISHGGGDT                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 259.             | Ab1 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | ARHSGYERGYYYVMDY                                                                                                                                                                                                                                            |
| 260.             | Ab1 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | ESVDYYGFSF                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 261.             | Ab1 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | AAS                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 262.             | Ab1 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | QQSKEVPW                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 263.             | Ab2 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | GYTFTSYT                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 264.             | Ab2 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | INPTTGYT                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 265.             | Ab2 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | ARDDAYYSGY                                                                                                                                                                                                                                                  |

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2 2】

| 配列番号 | 説明                          | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                          |
|------|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 266. | Ab2 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | ENIYSNL                                                                                                                                                  |
| 267. | Ab2 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | AAK                                                                                                                                                      |
| 268. | Ab2 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | QHFWGTPWT                                                                                                                                                |
| 269. | Ab3 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | GFAFSSYD                                                                                                                                                 |
| 270. | Ab3 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | ITIGGGTT                                                                                                                                                 |
| 271. | Ab3 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | ARHRYDYFAMDN                                                                                                                                             |
| 272. | Ab3 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2) | ENV DNYGINF                                                                                                                                              |
| 273. | Ab3 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2) | VSS                                                                                                                                                      |
| 274. | Ab3 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2) | QQSKDVPW                                                                                                                                                 |
| 275. | マウス Ab1<br>VH               | SQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTSYTMH<br>WVKQRPQGQLEWIGYINPTTGYTNYNQKFKDKANPT<br>TGYTNYNQKFKDKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSED<br>SAVYYCARD DAYYSGYWGQGTTTLTVSS    |
| 276. | マウス Ab1<br>VL               | DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASENIYSNLAWYR<br>QKQKGKSPQLLVYAAKNLADGVPSRFSGSGSGTQYSL<br>KINSLQSEDFGSYYCQHFWGTPWTFGGGTKLEIKR                                    |
| 277. | マウス Ab2<br>VH               | VQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFAFSSYDMSWV<br>RQTPEKRLVWVAYITIGGGTTYSDTVKRLVWVAYI<br>TIGGGTTYSDTVKGRFTISRDN AKNTLYLQMSSLKS<br>EDTAMYYCARHRYDYFAMDN WGHGTSVTVSS |
| 278. | マウス Ab2<br>VL               | DIVLTQSPASLAVSLEHRATISCQASENV DNYGINFM<br>NWFQHKPAQPPQLLIYVSSNLGSGVPAKFSGSGSGTD<br>FSLNIHPMEEDDTAMYFCQQSKDVPWTFSGGTKLEIK<br>R                            |
| 279. | マウス Ab3<br>VH               | EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSSYTMSWI<br>RQTPEKRLEWVAYISHGGGDTYYPDTV KGRFTISR<br>NAKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYCARHSGYER GYYY<br>VMDYWGQGTSTVTVSS                |

10

20

30

40

50

【表 12-23】

| 配列番号                 | 説明                         | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                       |
|----------------------|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 280.                 | マウス Ab3 VL                 | DIVLTQFPSTSLAVSLGQRATISCRASESDYYGFSFIN<br>WFQKPGQPPKLLIYAASNQSGVGPARGGSGSGTD<br>FSLNIHPMEEDDTAMYFCQQSKEVPWTFGGGKLEIK                  |
| さらなる例示的な抗PD-L1抗体部分配列 |                            |                                                                                                                                       |
| 281.                 | ヒト化 VH 1                   | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYMY<br>WVRQAPGQGLEWMGRIDPANDNTKYAQKFQGRVTI<br>TADTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARAKNLLNYF<br>DYWGQGTLVTVSS   |
| 282.                 | ヒト化 VH 2                   | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYMY<br>WVRQAPGQGLEWIGRIDPANDNTKYAPKFQGRVTIT<br>ADTSTNTAYMELSSLRSEDVAVYYCARAKNLLNYFD<br>YWGQGTLVTVSS   |
| 283.                 | ヒト化 VH3                    | EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYMY<br>WVRQAPGQGLEWMGRIDPANDNTKYAQKFQGRVTI<br>TADTSTNTAYMELSSLRSEDVAVYYCARAKNLLNYF<br>DYWGQGTLVTVSS   |
| 284.                 | ヒト化 VL 1                   | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQEISGYLSWYQ<br>QKPGKAPKRLIYATSTLD SGVPSRFSGSGSGTDFTLT<br>SSLQPEDFATYYCLQYAIYPLTFGQGTKLEIKR                  |
| 285.                 | ヒト化 VL 2                   | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQEISGYLSWLQ<br>KPGKAPKRLIYATSTLQSGVPSRFSGSRSGTDYTLTIS<br>SLQPEDFATYYCLQYAIYPLTFGQGTKLEIKR                   |
| 286.                 | ヒト化 VL 3                   | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQEISGYLSWYQ<br>QKPGKAPKRLIYATSTLD SGVPSRFSGSRSGSDYTLT<br>SSLQPEDFATYYCLQYAIYPLTFGQGTKLEIKR                  |
| さらなる例示的な抗CD93抗体配列    |                            |                                                                                                                                       |
| 287.                 | 7F3 重鎖                     | QVQLQSGADLVPRPGASVKLSCKASGYTFTDYEMH<br>WVKQTPVYGLEWIGGIDPETGDTAYNQNFKGKATLT<br>ADKSSSAAYMELRSLTSEDSAVYYCTNYGNLYYYA<br>MDYWGQGTSTVTVSS |
| 288.                 | 7F3 軽鎖                     | ENVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCRASSSVSSSYLHWY<br>QQKSGASPKLWIYSTSNLAFGVPARFSGSGSGTSYSL<br>TISSVEAEDAATYYCQYSGYPLTFGSGTKLEIK                   |
| 289.                 | 7F3 HC-<br>CDR1<br>(Kabat) | DYEMH                                                                                                                                 |
| 290.                 | 7F3 HC-<br>CDR2<br>(Kabat) | GIDPETGDTAYNQNFKG                                                                                                                     |
| 291.                 | 7F3 HC-<br>CDR3<br>(Kabat) | YGNLYYYAMDY                                                                                                                           |
| 292.                 | 7F3 LC-<br>CDR1<br>(Kabat) | RASSSVSSSYLH                                                                                                                          |
| 293.                 | 7F3 LC-<br>CDR2            | STSNLAF                                                                                                                               |

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2 4】

| 配列番号 | 説明                                             | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                    |
|------|------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      | (Kabat)                                        |                                                                                                                                                    |
| 294. | 7F3 LC-<br>CDR3<br>(Kabat)                     | QQYSGYPLT                                                                                                                                          |
| 295. | 7F3 HC-<br>CDR1<br>(Vbase2)                    | GYTFTDYE                                                                                                                                           |
| 296. | 7F3 HC-<br>CDR2<br>(Vbase2)                    | IDPETGDT                                                                                                                                           |
| 297. | 7F3 HC-<br>CDR3<br>(Vbase2)                    | TNYGNLYYYAMDY                                                                                                                                      |
| 298. | 7F3 LC-<br>CDR1<br>(Vbase2)                    | SSVSSSY                                                                                                                                            |
| 299. | 7F3 LC-<br>CDR2<br>(Vbase2)                    | STS                                                                                                                                                |
| 300. | 7F3 LC-<br>CDR3<br>(Vbase2)                    | QQYSGYPLT                                                                                                                                          |
| 301. | 16E4 VL1<br>LC-CDR1<br>(Kabat)                 | KASQSVDYAGDSYLN                                                                                                                                    |
| 302. | 16E4<br>VL2/16E4<br>VL4 LC-<br>CDR1<br>(Kabat) | RASQSVDYAGDSYMN                                                                                                                                    |
| 303. | 16E4 VL3<br>LC-CDR1<br>(Kabat)                 | RASQSVDYAGDSYLA                                                                                                                                    |
| 304. | 16E4 VH5<br>HC-CDR1<br>(Kabat)                 | SYWIIH                                                                                                                                             |
| 305. | 16E4 VH5<br>HC-CDR2<br>(Kabat)                 | EIEPSASYTYYNQKFKG                                                                                                                                  |
| 306. | 16E4 VL5<br>LC-CDR1<br>(Kabat)                 | RASQSVDYAGDSYLN                                                                                                                                    |
| 307. | 16E4 VH-1                                      | QVQLVESGAIEVKKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMH<br>WVRQAPGQRLEWMGEIDPSASYTYYNOKFKGRVTIT<br>VDKSASTAYMELSSLRSED <del>TAVYYCARSVYYGNKYF</del><br>DVWGPGTTTVTVSS |

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2 5】

| 配列番号 | 説明        | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                       |
|------|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 308. | 16E4 VH-2 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMH<br>WVRQAPGQGLEWMGEIDPSASYTYYNQKFKGRVTM<br>TRDKSISTAYMELNSLTSDDSAVYYCARSVYYGNKY<br>FDVWGAGTTVTVSS  |
| 309. | 16E4 VH-3 | QVQLVQSGAEVRKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMH<br>WVRQAPGQGLEWVGEIDPSASYTYYNQKFKGRVTIT<br>ADKSTSTAYMELSSLRSEDTDVYYCARSVYYGNKYF<br>DVWGQGTITVTVSS |
| 310. | 16E4 VH-4 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMH<br>WVRQAPGQGLEWMGEIDPSASYTYYNQKFKGRVTM<br>TRDKSSSTVYMELSSLTSEDSAVYYCARSVYYGNKY<br>FDVWGAGTTVTVSS  |
| 311. | 16E4 VH-5 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCRASGYTFTSYWIH<br>WVRQAPGQGLEWIGEIEPSASYTYYNQKFKGRVTMT<br>RDKSSSTVYMELSSLTSEDSAVYYCARSVYYGNKYF<br>DVWGAGTTVTVSS  |
| 312. | 16E4 VH-6 | QVQLQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMH<br>WVRQAPGQGLEWIGEIDPSASYTYYNQKFKGRVTMT<br>RDKSTSTVYMQSSLTSEDTAVYYCARSVYYGNKYF<br>DVWGAGTTVTVSS    |
| 313. | 16E4 VL-1 | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVVDYAGDSYL<br>NWFYQQKPGQPPKLLIYAASNLESGVPDRFSGSGSGTD<br>FTLTISSLQAEDVAVYYCQQTNEDPRTFGGGTKVEIK             |
| 314. | 16E4 VL-2 | DIVLTQSPSSLSASVGQRVTITCRASQSVVDYAGDSYM<br>NWFYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGSGSGTD<br>FTLTVSSLEDEDFATYYCQQTNEDPRTFGGGTKVEIK             |
| 315. | 16E4 VL-3 | EIVLTQSPATLSLSPGQRATLSCRASQSVVDYAGDSYL<br>AWYQQKPGQAPRLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTD<br>FTLTIRPLEEEDAAYYYCQQTNEDPRTFGGGTKLEIK              |
| 316. | 16E4 VL-4 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVVDYAGDSYM<br>NWFYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGSGSGTD<br>FTLTISLEDEDFATYYCQQTNEDPRTFGGGTKLEIK              |
| 317. | 16E4 VL-5 | DIVLTQSPSSLSASVGQRVTITCRASQSVVDYAGDSYL<br>NWFYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGIPSRFSGSGSGTD<br>FTLTISLEDEDFATYYCQQTNEDPRTFGGGTKLEIK              |
| 318. | 16E4 VL-6 | DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCKASQSVVDYAGDSYM<br>NWFYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGSGSGTE<br>FTLTISLQPDDEFATYYCQQTNEDPRTFGGGTKLEIK             |
| 319. | 7F3 VH-1  | QVQLVQSGAEMVKPGASVKISCKASGYTFTDYEMH<br>WVRQTPVYGLEWIGIDPETGDTAYNQNFKGRVTM<br>TRDTSISTAYMELSRLTSDDTAVYYCTNYGNLYYYA<br>MDYWGQGTITVTVSS  |
| 320. | 7F3 VH-2  | QVQLQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMH<br>WVRQTPVYGLEWMGIDPETGDTAYNONFKGRVTI<br>TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTNYGNLYYYA<br>MDYWGQGTITVTVSS   |

10

20

30

40

【表 1 2 - 2 6】

| 配列番号        | 説明                            | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                |
|-------------|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 321.        | 7F3 VH-3                      | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYEMH<br>WVRQAPGQGLEWMGGIDPETGDTAYNQNFKGRVT<br>MTTDTSTSTAYMELRSLTSDDTAVYYCTNYGNLYYY<br>AMDYWGQGTSTVTVSS                                                                                          |
| 322.        | 7F3 VL-1                      | EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSSYLHWYQ<br>QKSGASPRLLIYSTSNLAFGIPARFSGSGSGTDYTLTIS<br>SLEAEDVAVYYCQOYSGYPLTFGGGTKVEIK                                                                                                           |
| 323.        | 7F3 VL-2                      | EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASSSVSSSYLHWY<br>QKSGASPRLLWIYSTSNLAFGIPARFSGSGSGTEYTLT<br>ISSLQSEDFAAYYCQOYSGYPLTFGGGTKVEIK                                                                                                           |
| 324.        | 7F3 VL-3                      | EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSSSYLHWYQ<br>QKPGKAPKLLIYSTSNLAFGVPSRFSGSGSGTSYFTIS<br>SLQPEDIATYYCQOYSGYPLTFGSGTKLEIK                                                                                                            |
| 例示的な抗VEGF配列 |                               |                                                                                                                                                                                                                                |
| 325.        | アフリベルセプト                      | SDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTGRELVIPCRVTSPNITV<br>TLKKFPLDTLIPDGKRRIWDSRKGFIIISNATYKEIGLLT<br>CEATVNGHLYKTNYLTHRQTNTIIDVVLSPSHGIELSV<br>GEKLVLNCTARTELVGIDFNWEYPSSKHQHKKLVN<br>RDLKTQSGSEMKKFLSTLTIDGVTRSDQGLYTCAASS<br>GLMTKKNSTFVRVH |
| 326.        | アバスタチン HC-<br>CDR1<br>(Kabat) | GYTFTNYGMN                                                                                                                                                                                                                     |
| 327.        | アバスタチン HC-<br>CDR2<br>(Kabat) | WINTYTGEPTYAADFKR                                                                                                                                                                                                              |
| 328.        | アバスタチン HC-<br>CDR3<br>(Kabat) | YPHYYGSSHWFYFDV                                                                                                                                                                                                                |
| 329.        | アバスタチン LC-<br>CDR1<br>(Kabat) | SASQDISNYLN                                                                                                                                                                                                                    |
| 330.        | アバスタチン LC-<br>CDR2<br>(Kabat) | FTSSLHS                                                                                                                                                                                                                        |
| 331.        | アバスタチン LC-<br>CDR3<br>(Kabat) | QQYSTVPWT                                                                                                                                                                                                                      |
| 332.        | ラムシルマブ<br>HC-CDR1<br>(Kabat)  | SYSMN                                                                                                                                                                                                                          |
| 333.        | ラムシルマブ<br>HC-CDR2<br>(Kabat)  | SISSSSSYIYYADSVKG                                                                                                                                                                                                              |
| 334.        | ラムシルマブ<br>HC-CDR3<br>(Kabat)  | VTDAFDI                                                                                                                                                                                                                        |

10

20

30

40

50

【表 12-27】

| 配列番号  | 説明                                             | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 335.  | ラムシルマブ<br>LC-CDR1<br>(Kabat)                   | RASQGIDNWLG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 336.  | ラムシルマブ<br>LC-CDR2<br>(Kabat)                   | DASNLDT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 337.  | ラムシルマブ<br>LC-CDR3<br>(Kabat)                   | QQAKAFPPT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 追加の配列 |                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 338.  | 例示的なリンカー                                       | GSDKTHT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 339.  | hIgG1 CH1                                      | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV<br>TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS<br>SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 340.  | hIgG1 Fc                                       | EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI<br>SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK<br>TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV<br>SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN<br>QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV<br>LSDSGSFLLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN<br>HYTQKSLSLSPGK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 341.  | ヒトカッパ<br>CL                                    | RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK<br>VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT<br>LTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 342.  | 7F3-HC-<br>アフリカルセプト<br>融合物<br>(シグナルペプチド<br>なし) | QVQLQQSGADLVKPGASVKLSCKASGYTFTDYEMH<br>WVKQTPVYGLEWIGGIDPETGDTAYNQNFKGKATLT<br>ADKSSSAAYMELRLTSEDSAVYYCTNYGNLYYYA<br>MDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA<br>ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS<br>SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK<br>KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL<br>MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN<br>AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC<br>KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL<br>TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP<br>VLDSGDSFLLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL<br>HNHYTQKSLSLSPGKGSDDKTHSTDTGRPFVEMYSEIP<br>EIIHMTGRELVIPCRVTSNITVTLKKFPLDTLIPDGK<br>RIIWDNRKGFIIISNATYKEIGLLTCEATVNGHLYKTNY<br>LTHRQNTNIDVVLSPSHGIELSVGEKLVNCTARTEL<br>NVGIDFNWEYPSSKHQHKLVNRDLKTQSGSEMCKF<br>LSTLTIDGVTRSDQGLYTCAASSGLMTKKNSTFVRVH |
| 343.  | 7F3 LC<br>(シグナルペプチド<br>なし)                     | ENVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCRASSSVSSSYLHWY<br>QQKSGASPKLWIYSTSNLAFGVPAFSGSGSGTSYSL<br>TISSVEAEDAATYYCQQYSGYPLTFGSGTKLEIKRTV<br>AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

10

20

30

40

50

【表 12 - 28】

| 配列番号             | 説明                                         | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                     |
|------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                                            | WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSK<br>ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC                                                             |
| 例示的なシグナリングペプチド   |                                            |                                                                                                                                     |
| 344.             | シグナリングペプチド                                 | MGWTLVFLFLLSVTAGVHS                                                                                                                 |
| 345.             | シグナリングペプチド                                 | MVSSAQFLGLLLLCFQGTRC                                                                                                                |
| 346.             | シグナリングペプチド                                 | MGWSCILFLVATATGVHS                                                                                                                  |
| さらなるヒト化抗CD93抗体配列 |                                            |                                                                                                                                     |
| 347.             | 17B10 VH1                                  | QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSSYWLN<br>WVRQAPGQGLEWFGRIYPGDGDTDYNGKFKGRVTL<br>TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCVRGDGYWAM<br>DYWGQGTITVTVSS |
| 348.             | 17B10 VH2                                  | QVQLVQSGAEVVKSGASVKVSCKASGYAFSSYWLN<br>WVRQAPGQGLEWFGRIYPGDGDTDYNGKFKGRVTLI<br>RDTSTSTVYMELTSLTSEDTAVYYCVRGDGYWAMD<br>YWGQGTITVTVSS |
| 349.             | 17B10 VH3                                  | QVQLVQSGPEVKKPGESLKISCKASGYAFSSYWLNW<br>VRQMPGKGLEWMGRIYPGDGDTDYNGKFKGQVTIS<br>ADKSSGTAYLQLSSLKASDTAVYFCVRGDGYWAMD<br>YWGQGTITVTVSS |
| 350.             | 17B10 VL1                                  | DIVMTQSPSLPVTGPGEPAISCRFSQSLLHSNGITYLY<br>WYLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVPDRFSGSGSGTDF<br>TLKISRVEAEDVGVYYCAQNLLELPWTFGGGTKLEIK             |
| 351.             | 17B10 VL2                                  | DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRFSQSLLHSNGITYLY<br>WYLQKPGQSPQLLIYTMSNLAGVPDRFSGSGSGTDF<br>TLKISRVEAEDVGVYYCAQNLLELPWTFGGGTKLEIK            |
| 352.             | 17B10 VL3                                  | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRFSKSLHSNGITYL<br>YWYQQKPGQPPLLIYQMSNLAGVPDRFSGSGSGT<br>DFTLTISLQAEDVAVYYCAQNLLELPWTFGGGTKLEI<br>K           |
| 353.             | 17B10 VL1<br>およびVL2 LC-<br>CDR1<br>(Kabat) | RFSQSLLHSNGITYLY                                                                                                                    |
| 354.             | 17B10 および<br>VL2 LC-<br>CDR2<br>(Kabat)    | TMSNLAG                                                                                                                             |
| 355.             | 16A1 VL1<br>LC-CDR1<br>(Kabat)             | KSSQSLLNSNNQKNYLA                                                                                                                   |
| 356.             | 16A1 VL1<br>LC-CDR2<br>(Kabat)             | FASTRES                                                                                                                             |

10

20

30

40

50

【表 12-29】

| 配列番号                    | 説明                                              | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 357.                    | 16A1 VL1<br>LC-CDR3<br>(Kabat)                  | QQHYNTPLT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 358.                    | 16A1 VL2<br>LC-CDR1<br>(Kabat)                  | KSSQSLLNSNNQKNSLA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 359.                    | 16A1 VL2<br>LC-CDR3<br>(Kabat)                  | QQHSNTPLT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 360.                    | 16A1_VH1                                        | EVQLVQSGAEVKKPGTTVKIACKVSGYTFTDHGIHW<br>VQQAPGKGLEWMGNISPGNGDIKYNEKFKGRVTLTA<br>DKSSDTAYMELNLTSLRSEDTAIFYCTTYFVDWGRGTL<br>VTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 361.                    | 16A1_VH2                                        | QVQLQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDHGIH<br>WVRQAPGRGLEWLNISPGNGDIKYNEKFKGRVTM<br>TRDTSSTVYMESSLTSEDTAIFYCTTYFVDWGRG<br>TLVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 362.                    | 16A1_VH3                                        | QVQLLESGAEAKKPGASVKLSCKASGYTFTDHGIHW<br>VHQAPGQRLEWIGNISPGNGDIKYNEKFKGRVTITVD<br>KSASTAYMEVSSLRSEDTAIFYCTTYFVDWGRGTLV<br>TVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 363.                    | 16A1_VL1                                        | DIVMTQSPSSSLAVSLGERATLNCKSSQSLLNSNNQKN<br><u>YLA</u> WYQQKPGQPPKLLIYFASTRESGVPDRFSGSGSG<br>TDFTLTISLVQAEDVAYYFCQQHYNTPLTFGGGTKLE<br>IK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 364.                    | 16A1_VL2                                        | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSNNQKN<br>SLAWYQQKPGQSPKLLIYFASTRESGVPDRFSGSGSG<br>TDFTLTISLQAEDVAYYFCQQHSNTPLTFGGGTKVEI<br>K                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 365.                    | 16A1_VL3                                        | EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKSSQSLLNSNNQKN<br>CLAWYQQKPGQAPRLLIYFASTRESGIPARFSGSGSG<br>TEFTLTISLQSEDFAYYFCQQHCNTPLTFGGGTKVEI<br>K                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| さらなるヒト化抗CD93抗体融合タンパク質配列 |                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 366.                    | h7F3-HC-<br>アフリベルセプト<br>融合物<br>(シグナルペプチド<br>なし) | <b>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYEM<br/>HWVRQAPGQGLEWMGGIDPETGDTAYNQNFKGR<br/>VTMTTDTSTSTAYMELRSLTSDDTAVYYCTNYGN<br/>LYYYAMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS<br/>TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF<br/>PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN<br/>TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP<br/>KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG<br/>VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG<br/>KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS<br/>RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN<br/>YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS<br/>VMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSDDKTHSTDTGRPFV<br/>EMYSEIPEIIHMTEGRELVIPCRVTSPNITVTLKKFPLD</b> |

10

20

30

40

50

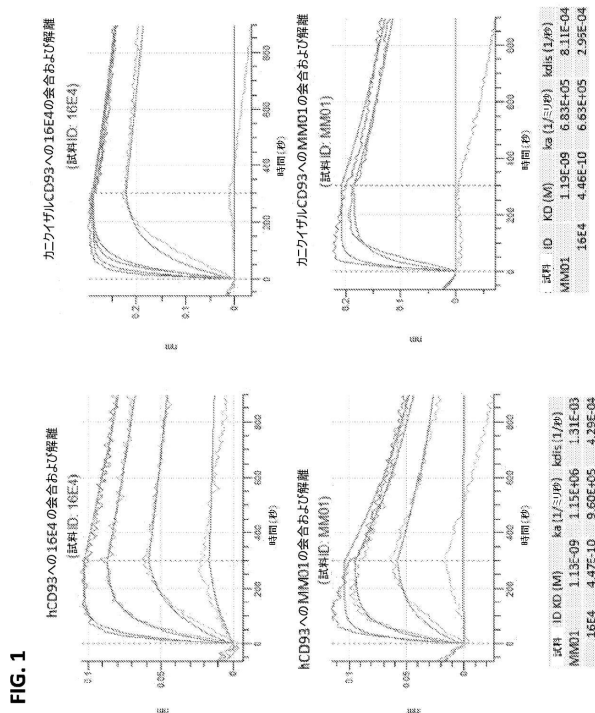
【表 1 2 - 3 0】

| 配列番号 | 説明                          | ヌクレオチドまたはアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                         |
|------|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      |                             | TLIPDGKRIIWDSRKGFIIISNATYKEIGLLTCEATVNGH<br>LYKTNYLTHRQTNTIIDVVLSPSHGIELSVGEKLVLC<br>TARTELVNGIDFNWEYPSSKHQHKKLVNRDLKTQSG<br>SEMKKFLSTLTIDGVTRSDQGLYTCAASSGLMTKKNS<br>TFVRVH                                                            |
| 367. | h7F3 LC<br>(シグナルペプチド<br>なし) | EIVLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASSSVSSSYLHWYQ<br>QKPGKAPKLLIYSTSNLAFGVPSRFSGSGSGTSYFTIS<br>SLQPEDIATYYCQQYSGYPLTFGSGTKLEIKRTVAAPS<br>VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD<br>NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEK<br>HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |

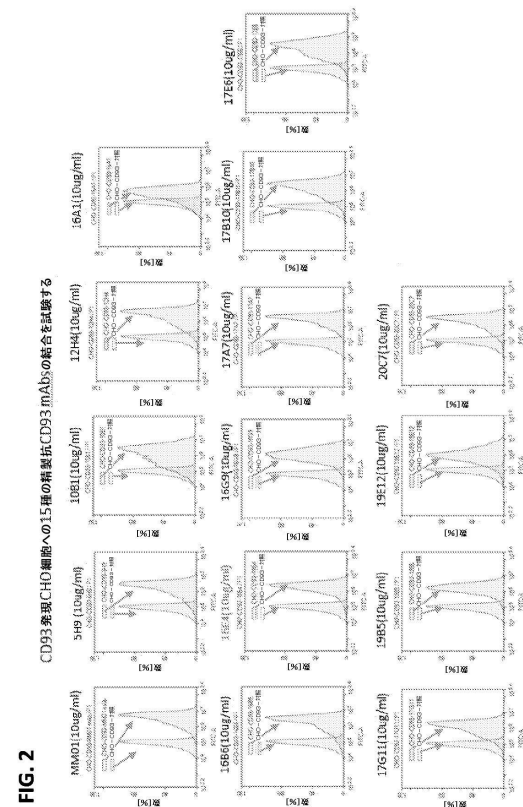
10

【図 面】

【図 1】



【図 2】



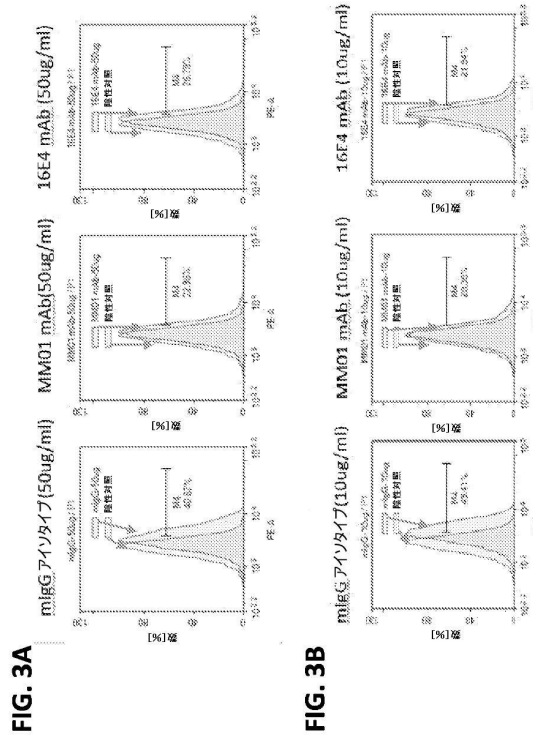
20

30

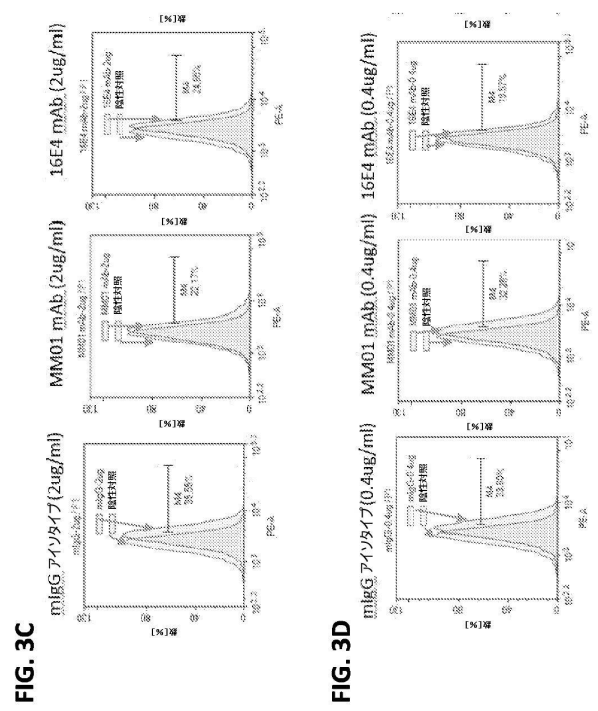
40

50

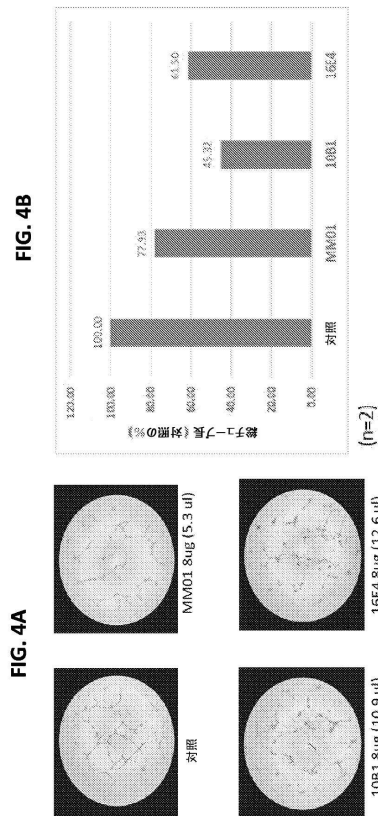
【図 3 - 1】



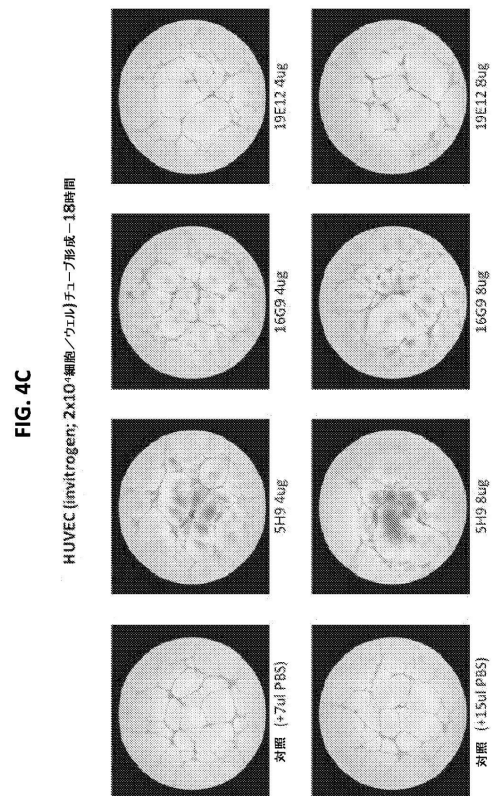
【図 3 - 2】



【図 4 - 1】



【図 4 - 2】



10

20

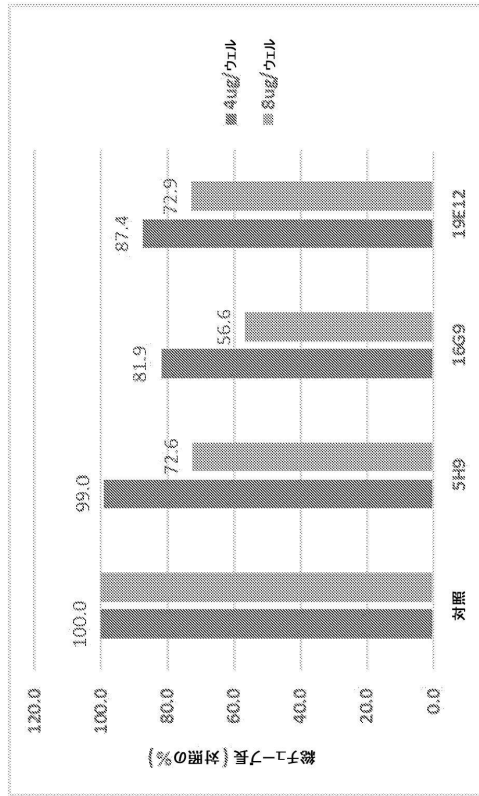
30

40

50

【図 4 - 3】

FIG. 4D



【図 4 - 4】

FIG. 4E HUVEC (invitrogen;  $2 \times 10^4$  細胞/ウェル) チューブ形成 - 18時間

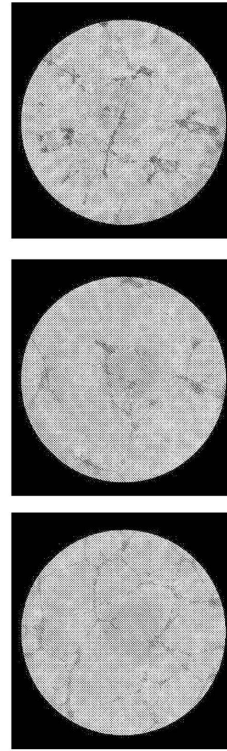
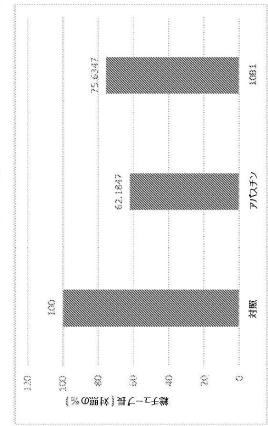


FIG. 4F



【図 5】

FIG. 5A

抗CD93抗体による細胞表面におけるヒトCD93の発現

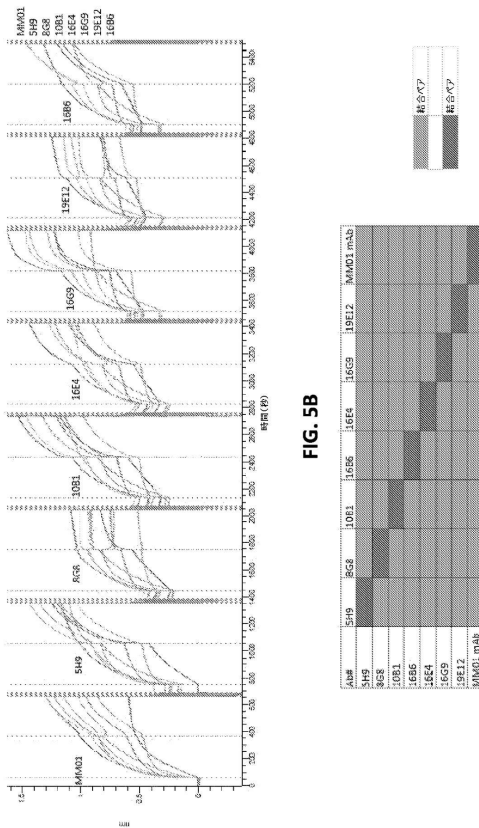
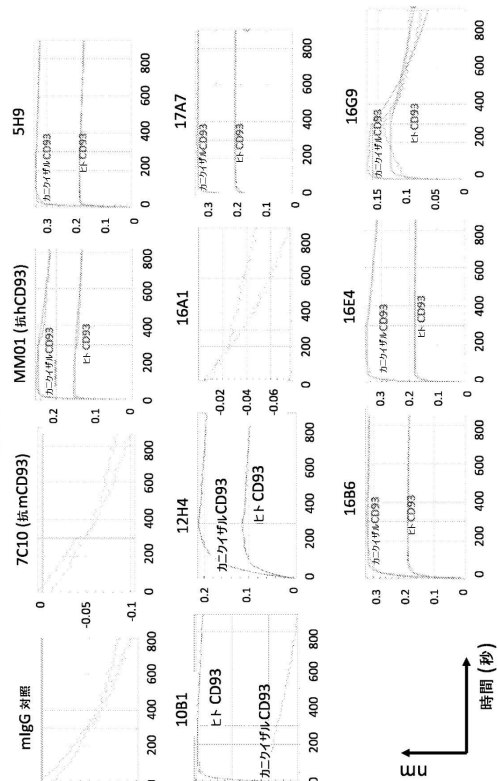


FIG. 5B

| Anti-CD93 | 5H9 | 16G9 | 19E12 | 10B1 | 10B6 |
|-----------|-----|------|-------|------|------|
| Anti-CD93 | +   | +    | +     | +    | +    |
| Isotype   | -   | -    | -     | -    | -    |

【図 6 A】

FIG. 6A





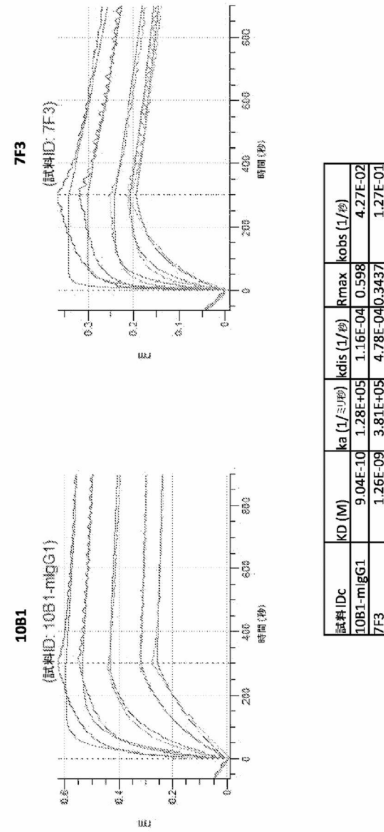
【図 8 B】

FIG. 8B

CDRL1 CDRL2  
19E12\_VL 1 QAVVTQ-ESALTTPGETVTLTCSRSTGAVTTS--NSANRVQEKPDHLETLGGTNR  
19B5\_VL 1 DVLVTSFATLSVTEGDSVSLCRASGSI-----NHILHRVQQRSHESPELLIKFAGGS  
5H9\_VL 1 DIVMTGAARFNPVTLTASISCSSEKILLHSH-GVTLYWYLGKQALSPQDLIRYRNL  
17A7\_VL 1 DIVMTGAARFNPVTLTASISCSSEKILLHSH-GVTLYWYLGKQALSPQDLIRYRNL  
17B10\_VL 1 DIVMTGAARFNPVTLTASISCSSEKILLHSH-GVTLYWYLGKQALSPQDLIRYRNL  
16A1\_VL 1 DIVMTGAARFNPVTLTASISCSSEKILLHSH-GVTLYWYLGKQALSPQDLIRYRNL  
17G11\_VL 1 DIVMTGAARFNPVTLTASISCSSEKILLHSH-GVTLYWYLGKQALSPQDLIRYRNL  
10B1\_VL 1 DIVMTGAARFNPVTLTASISCSSEKILLHSH-GVTLYWYLGKQALSPQDLIRYRNL  
20C7\_VL 1 DIVMTGAARFNPVTLTASISCSSEKILLHSH-GVTLYWYLGKQALSPQDLIRYRNL  
17E6\_VL 1 DIVMTGAARFNPVTLTASISCSSEKILLHSH-GVTLYWYLGKQALSPQDLIRYRNL  
16B6\_VL 1 DIVMTGAARFNPVTLTASISCSSEKILLHSH-GVTLYWYLGKQALSPQDLIRYRNL  
12H4\_VL 1 DIVMTGAARFNPVTLTASISCSSEKILLHSH-GVTLYWYLGKQALSPQDLIRYRNL  
16E4\_VL 1 DIVMTGAARFNPVTLTASISCSSEKILLHSH-GVTLYWYLGKQALSPQDLIRYRNL  
16G9\_VL 1 DIVMTGAARFNPVTLTASISCSSEKILLHSH-GVTLYWYLGKQALSPQDLIRYRNL  
  
CDRL3  
19E12\_VL 57 APOVPAFSSSLIGDKAALITGAQTEDEAIVFCALWYNNHFEVGGGKRLTVL  
19B5\_VL 55 ISDIPSRFSSGSGSTDFTLISNSITETDFPMYFCQSSNSHPLTFAGTHLEIK  
5H9\_VL 60 ASGVPPRFSSGSGSTDFTLISRVEAEQGVVYCAQMLERDPTFGSGTKLEIK  
17A7\_VL 60 ASGVPPRFSSGSGSTDFTLISRVEAEQGVVYCAQMLERDPTFGSGTKLEIK  
17B10\_VL 60 ASGVPPRFSSGSGSTDFTLISRVEAEQGVVYCAQMLERDPTFGSGTKLEIK  
16A1\_VL 61 BSGVPPRFSSGSGSTDFTLISRVEAEQGVVYCAQMLERDPTFGSGTKLEIK  
17G11\_VL 55 YTGVPDRFTSGSGSTDFTLISRVEAEQGVVYCAQMLERDPTFGSGTKLEIK  
10B1\_VL 55 YTGVPDRFTSGSGSTDFTLISRVEAEQGVVYCAQMLERDPTFGSGTKLEIK  
20C7\_VL 55 YTGVPDRFTSGSGSTDFTLISRVEAEQGVVYCAQMLERDPTFGSGTKLEIK  
17E6\_VL 55 YTGVPDRFTSGSGSTDFTLISRVEAEQGVVYCAQMLERDPTFGSGTKLEIK  
16B6\_VL 55 ADGVPPRFSSGSGSTDFTLISRVEAEQGVVYCAQMLERDPTFGSGTKLEIK  
12H4\_VL 54 ASGVPPRFSSGSGSTDFTLISRVEAEQGVVYCAQMLERDPTFGSGTKLEIK  
16E4\_VL 59 ESGVPPRFSSGSGSTDFTLISRVEAEQGVVYCAQMLERDPTFGSGTKLEIK  
16G9\_VL 59 ESGVPPRFSSGSGSTDFTLISRVEAEQGVVYCAQMLERDPTFGSGTKLEIK

【図 9】

抗CD93 mAbの結合親和性をOctetにより試験する



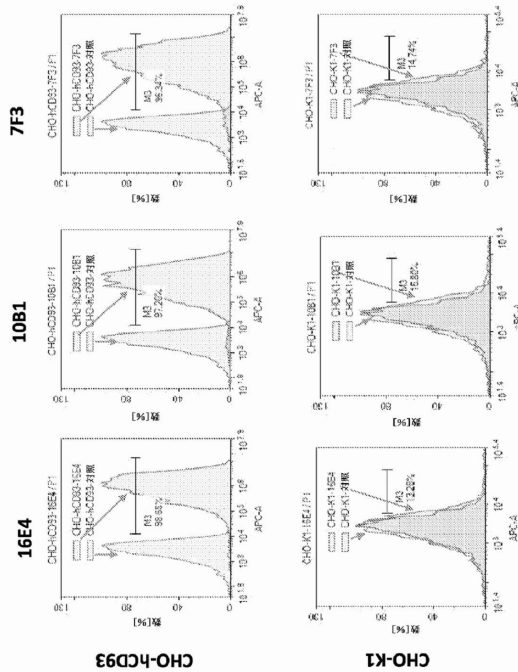
抗ペンタHIS(HIS1K)バイオセンサー

FIG. 9

【図 10】

ヒトCD93発現細胞への新規抗CD93 mAbの結合を試験する

FIG. 10



【図 11】

FIG. 11A

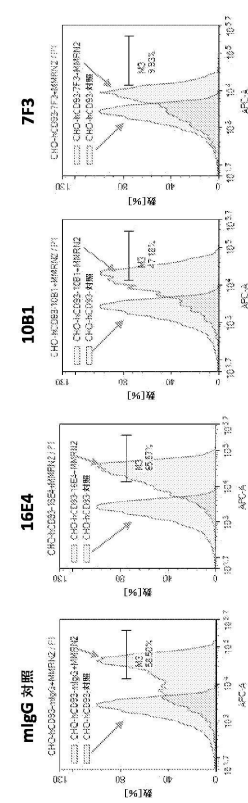
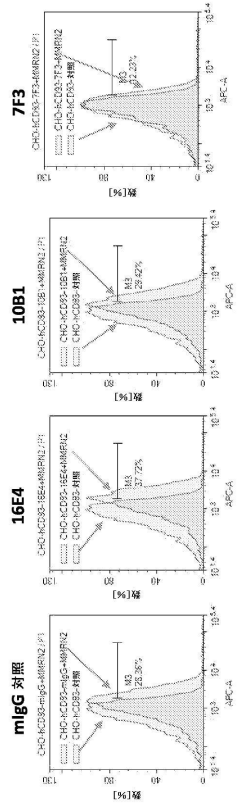


FIG. 11B



10

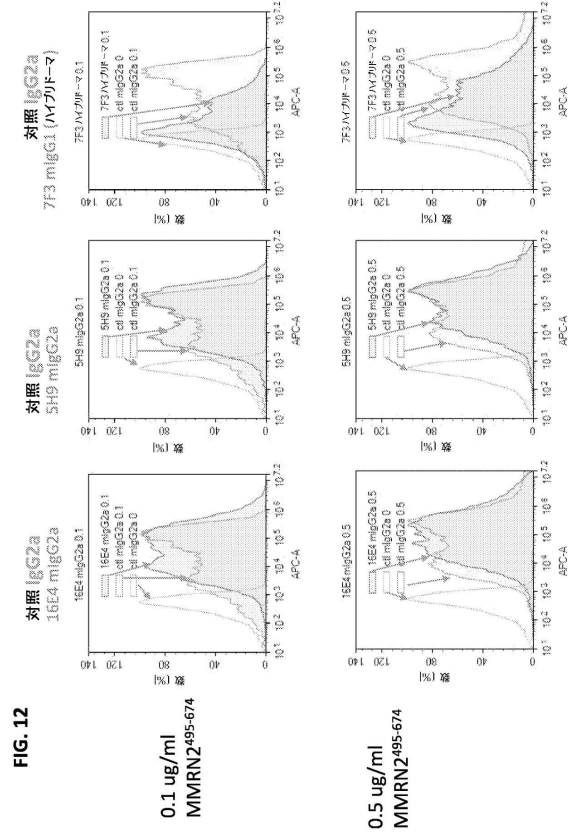
20

30

40

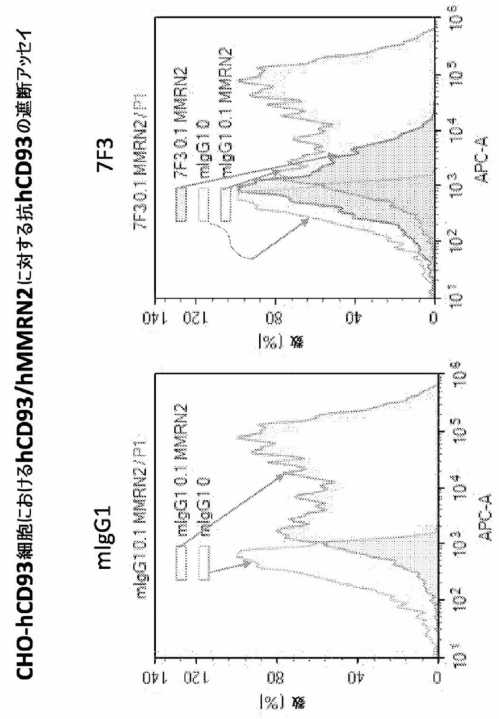
50

【図 1 2】



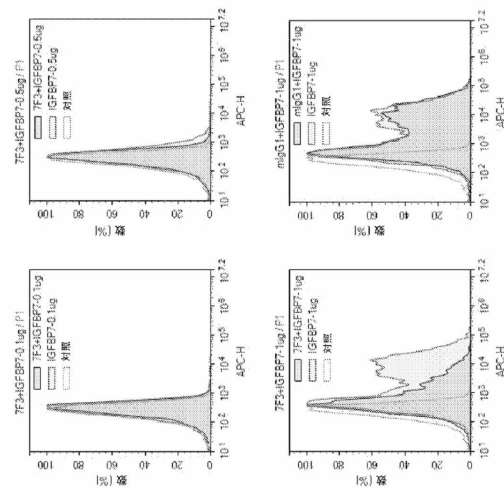
【図 1 3】

CHO-hCD93細胞におけるhCD93/hMMRN2に対する抗hCD93の遮断アッセイ

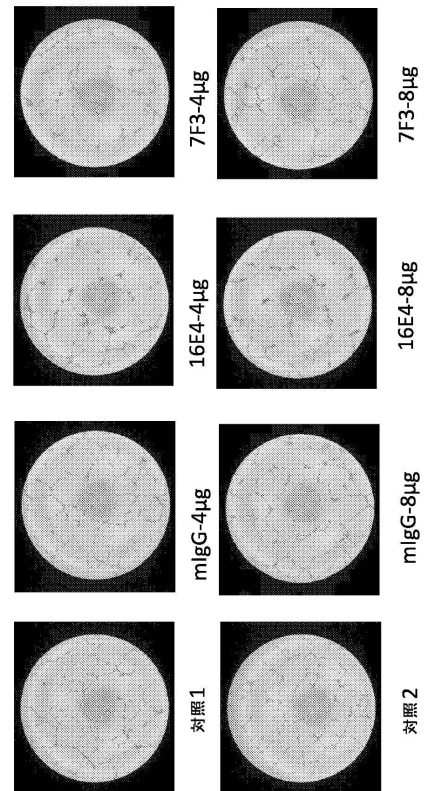


【図 1 4】

CHO-CD93細胞へのIGFBP7結合に対する7F3抗体の遮断効果のFACS分析



【図 1 5 A】



10

20

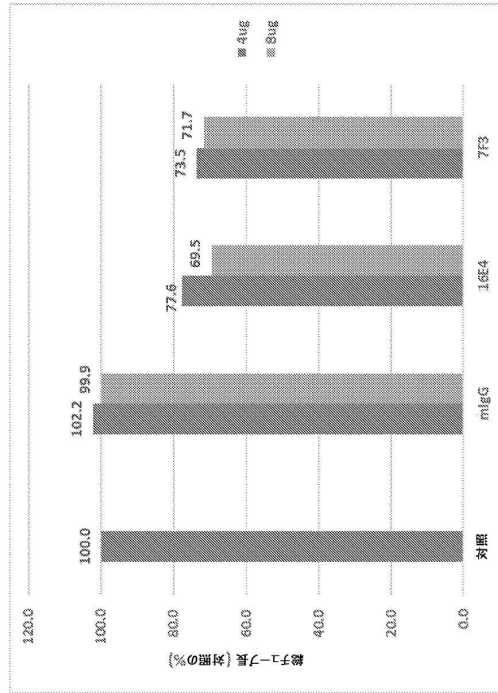
30

40

50

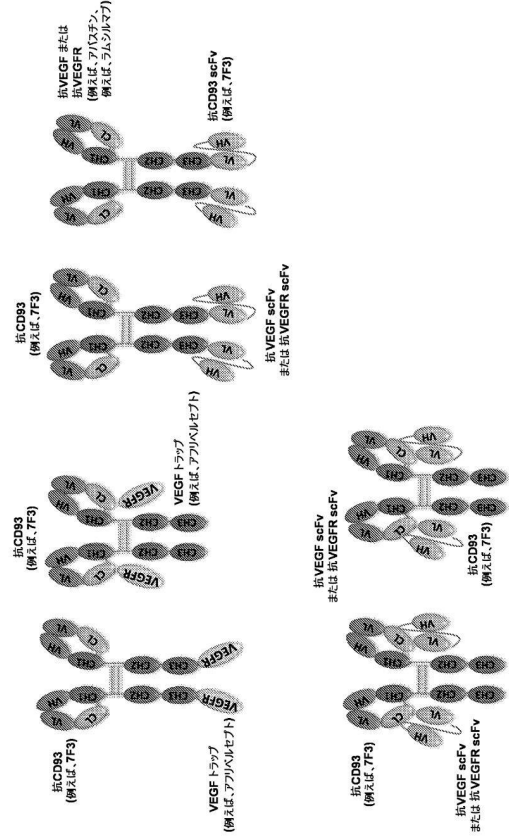
【図 15 B】

FIG. 15B



【図 16】

FIG. 16

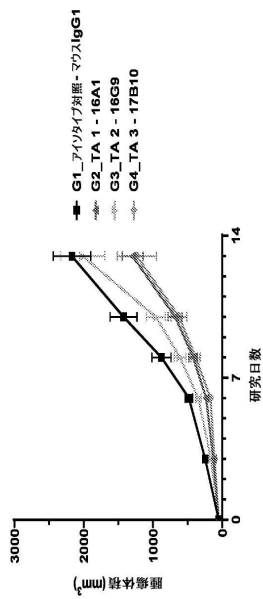


10

20

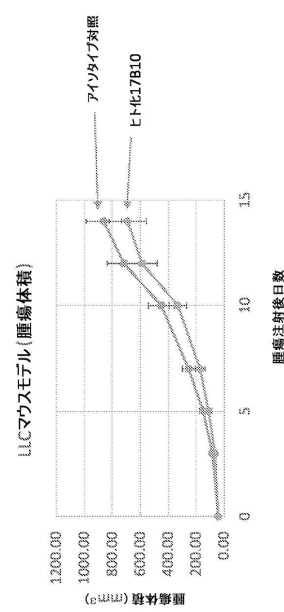
【図 17】

FIG. 17



【図 18】

FIG. 18



30

40

50

【図 19】

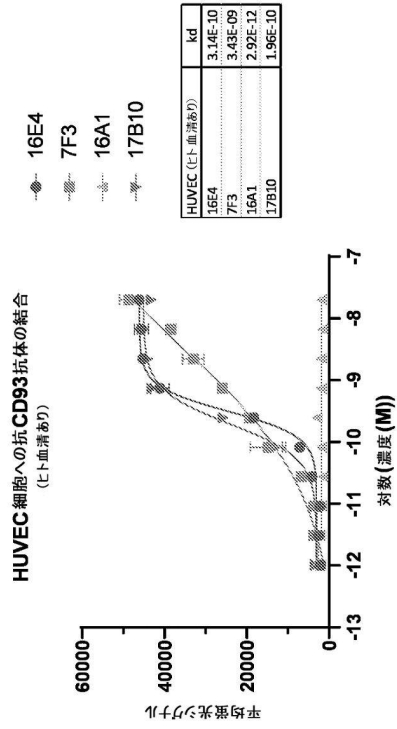


FIG. 19

【図 20】

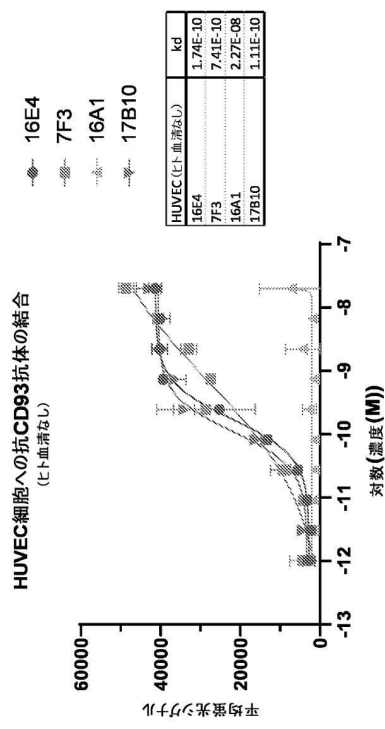


FIG. 20

【図 21】

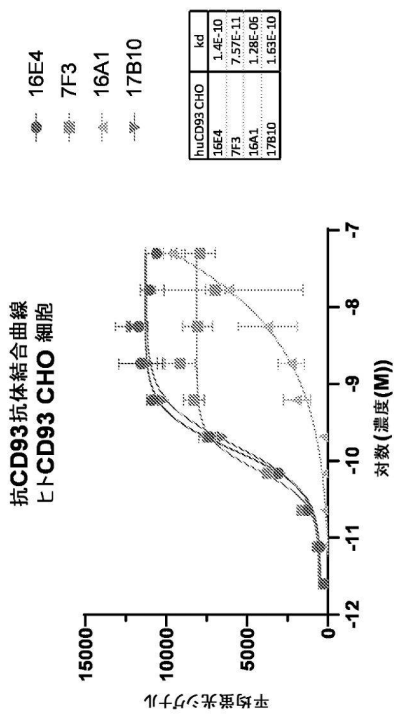


FIG. 21

【図 22】

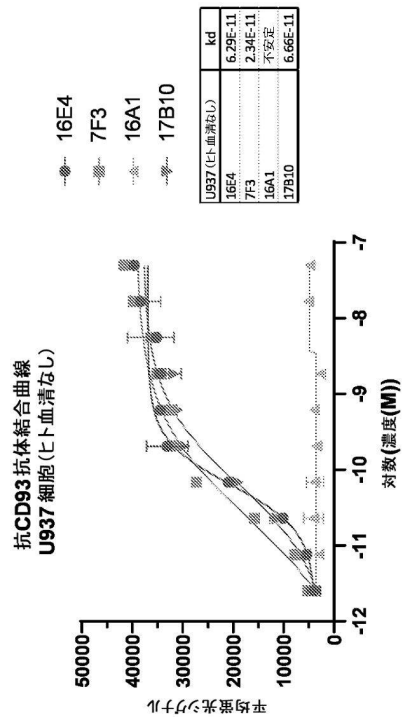


FIG. 22

10

20

30

40

50

10

20

30

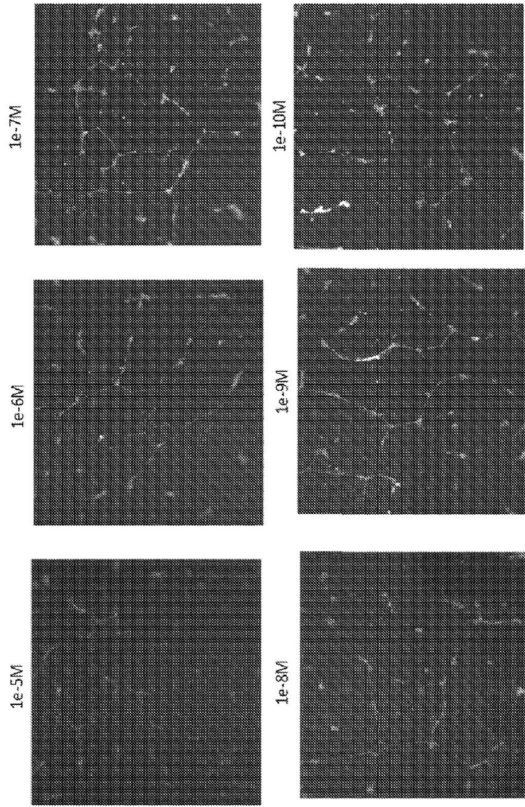
40

50

【図 2 3】

17B10 (ヒト化、マウスIgG1、H3L3)

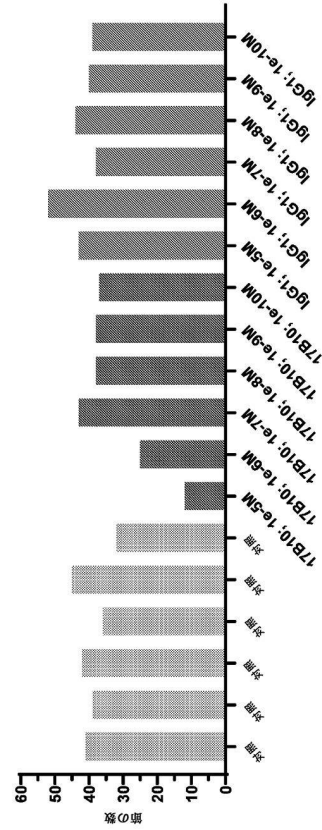
FIG. 23



【図 2 4】

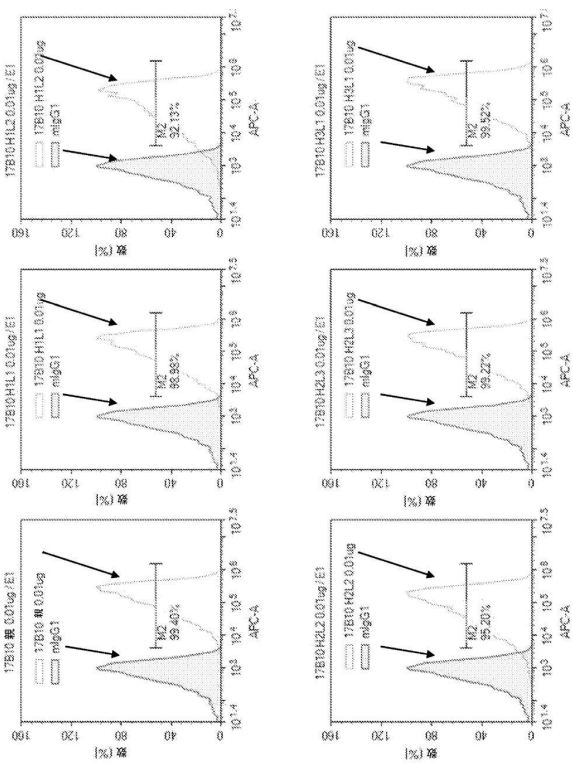
カルセインAMで30分間染色し  
目視で計数した  
HUVEC チューブアッセイ

FIG. 24



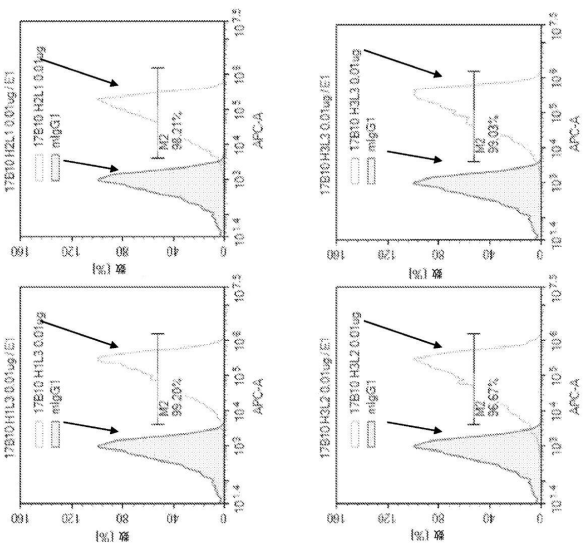
【図 2 5 A】

FIG. 25A

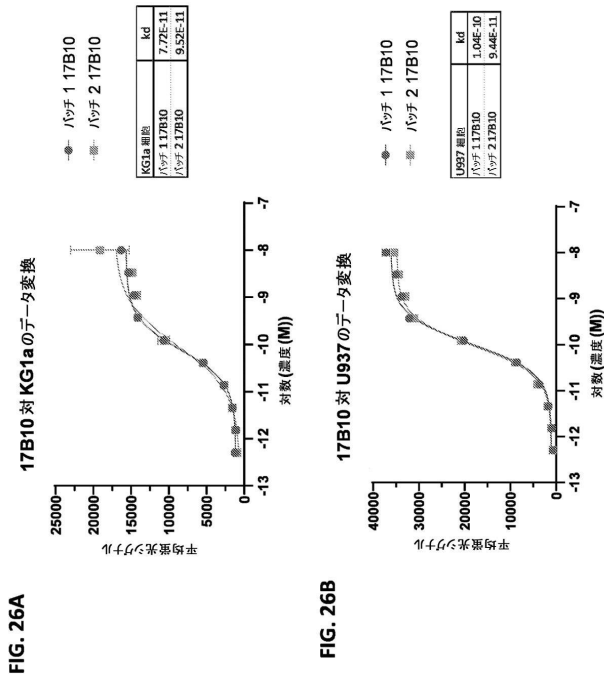


【図 2 5 B】

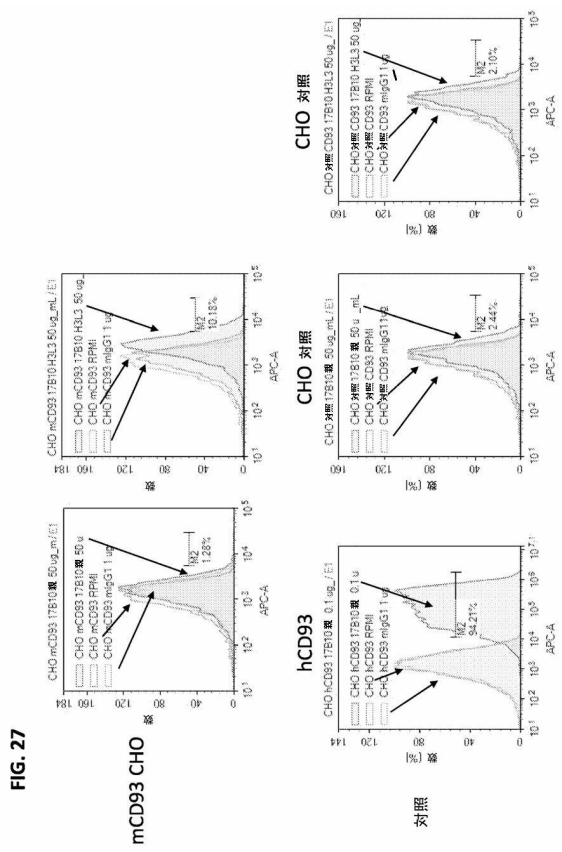
FIG. 25B



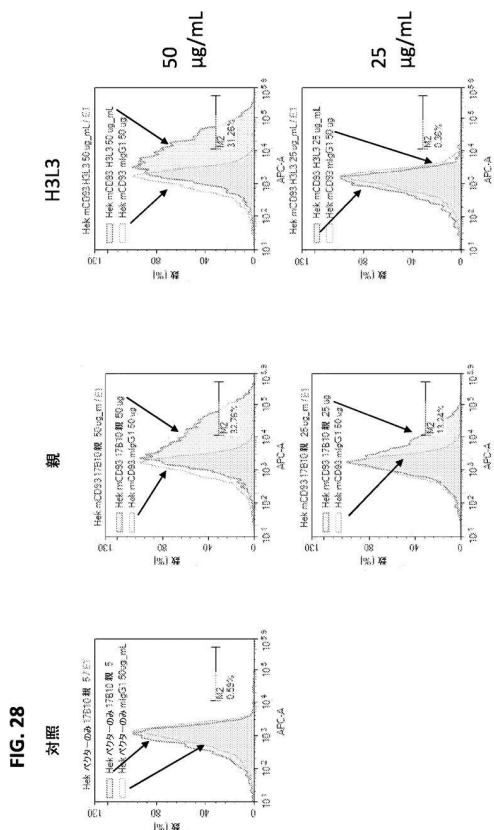
【図 26】



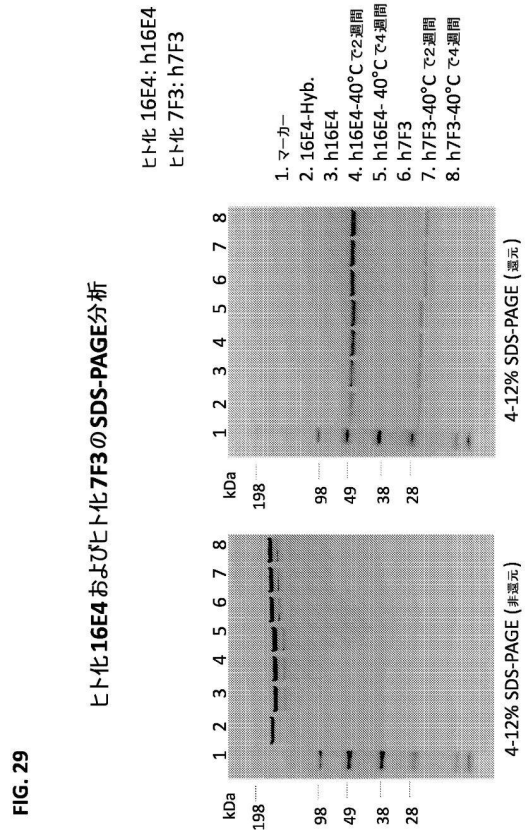
【図 27】



【図 28】



【図 29】



10

20

30

40

50

【図 3 0】

hCD93-Hisへの16E4および7F3の結合のELISA分析

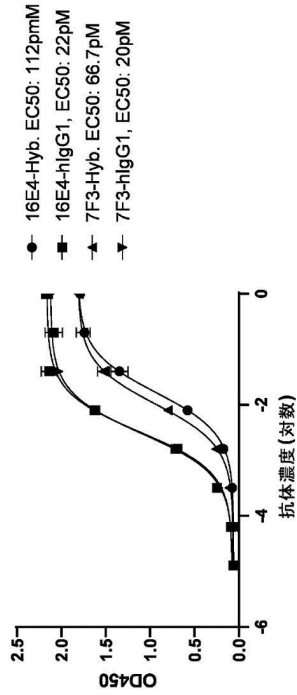


FIG. 30

【図 3 2】

hCD93へのh16E4の結合のELISA分析

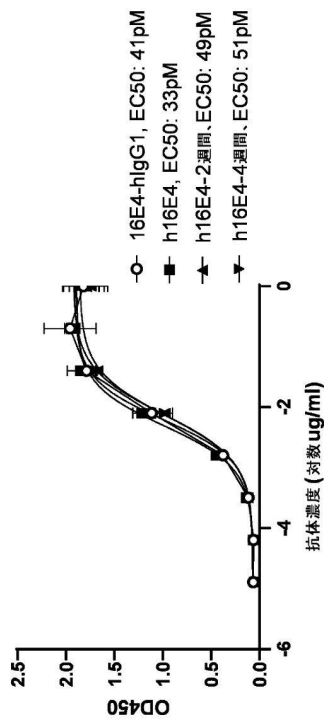


FIG. 32

【図 3 1】

hCD93へのh7F3の結合のELISA分析

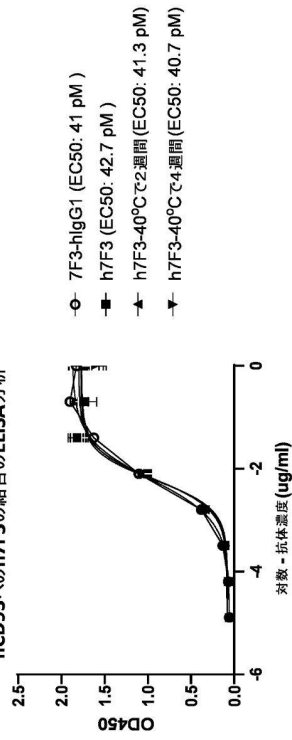


FIG. 31

【図 3 3】

hCD93への17B10の結合のELISA分析

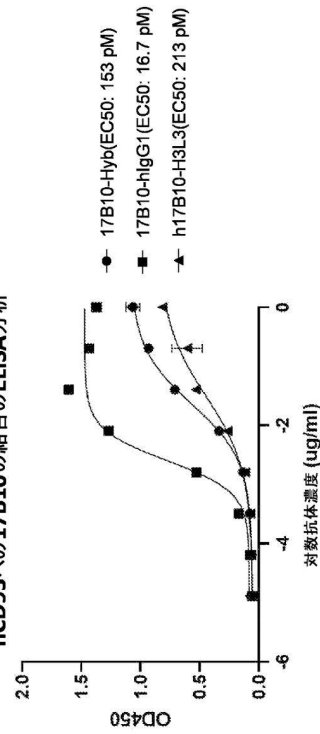


FIG. 33

10

20

30

40

50

【図 3 4】

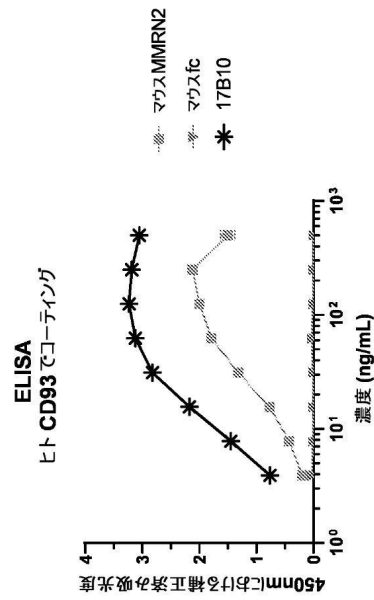


FIG. 34

【図 3 6】

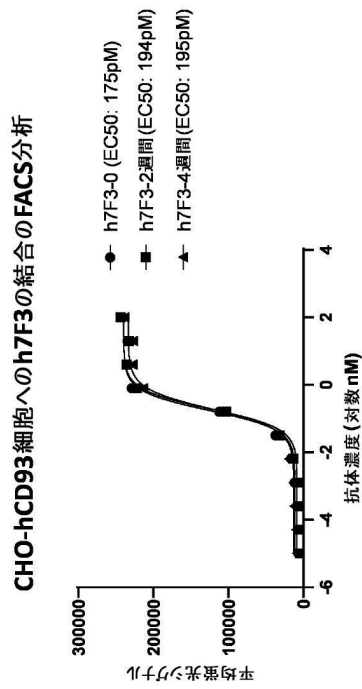


FIG. 36

【図 3 5】

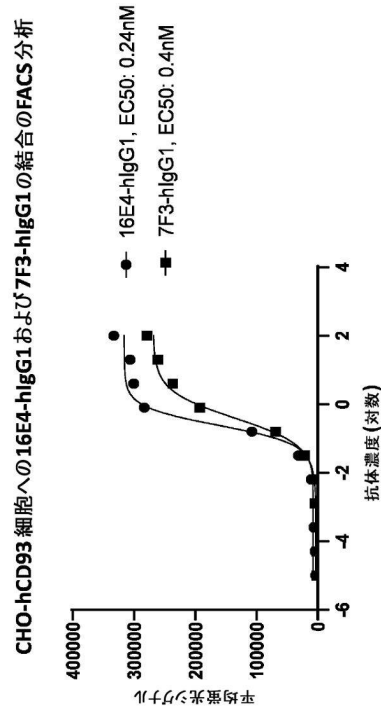


FIG. 35

【図 3 7】

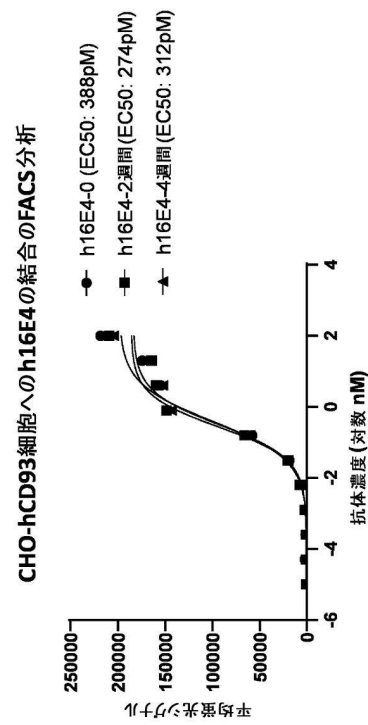


FIG. 37

10

20

30

40

50

【図 38】

HUVEC細胞へのh7F3の結合のFACS分析

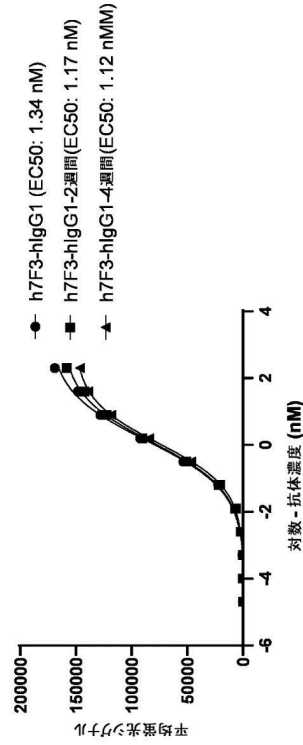


FIG. 38

【図 40】

KG1a細胞へのh16E4の結合のFACS分析

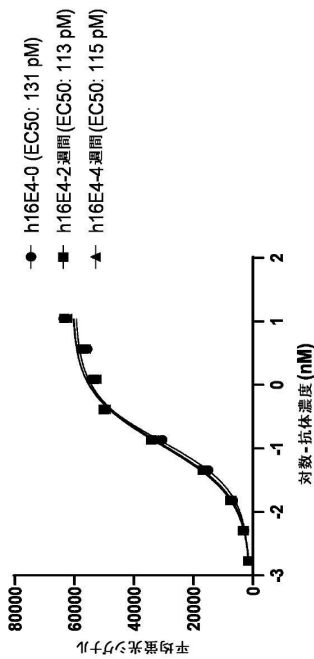


FIG. 40

【図 39】

KG1a細胞へのh7F3の結合のFACS分析

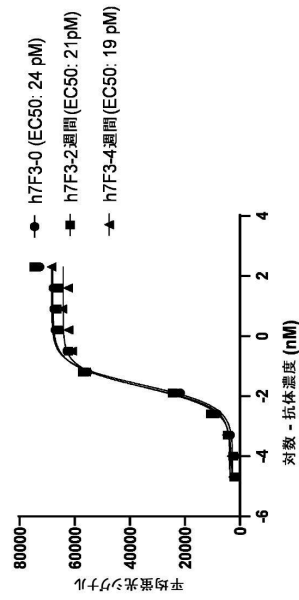
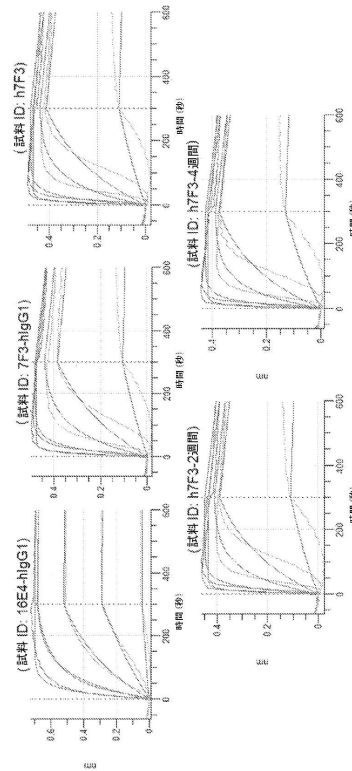


FIG. 39

【図 41】

FIG. 41 CD93への16E4および7F3の結合の動態の特徴付け



| 試料 ID             | KD (M)   | KD 誤差    | ka (1/ミル秒) | ka 誤差    | kdis (1/秒) | kdis 誤差  |
|-------------------|----------|----------|------------|----------|------------|----------|
| 16E4-hlgG1        | 1.35E-10 | 3.51E-11 | 2.17E+05   | 1.53E+03 | 2.93E-05   | 7.59E-06 |
| 7F3-hlgG1         | 5.88E-10 | 3.54E-11 | 5.70E+05   | 1.09E+04 | 3.35E-04   | 1.91E-05 |
| h7F3              | 4.72E-10 | 3.19E-11 | 6.81E+05   | 1.43E+04 | 3.21E-04   | 2.07E-05 |
| 40°Cで2週間→h7F3-2週間 | 4.95E-10 | 3.23E-11 | 7.20E+05   | 1.60E+04 | 3.56E-04   | 2.19E-05 |
| 40°Cで4週間→h7F3-4週間 | 4.87E-10 | 2.83E-11 | 7.93E+05   | 1.70E+04 | 3.86E-04   | 2.09E-05 |

10

20

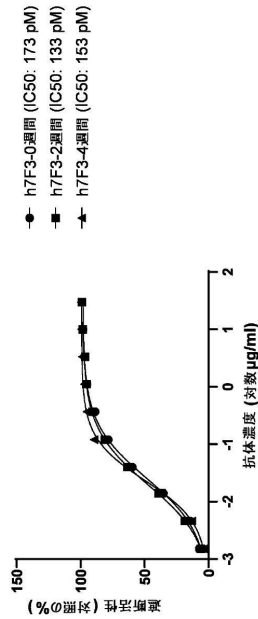
30

40

50

FIG. 44

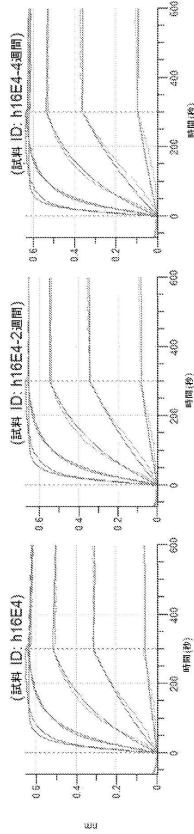
CHO-hCD93 細胞へのhMMRN2の結合を遮断するh7F3のFACS分析



【図 4 4】

FIG. 42

hCD93へのh16E4の結合の動態の特徴付け



【図 4 2】

| 試料 ID     | KD (M)   | KD 誤差    | ka (1/ミリ秒) | ka 誤差 | kdis (1/秒) | kdis 誤差  |
|-----------|----------|----------|------------|-------|------------|----------|
| h16E4     | 4.16E-10 | 2.55E-11 | 249400     | 1490  | 1.04E-04   | 6.34E-06 |
| h16E4-2週間 | 2.04E-11 | 2.66E-11 | 248600     | 1549  | 5.08E-06   | 6.62E-06 |
| h16E4-4週間 | 1.12E-10 | 2.47E-11 | 288600     | 1994  | 3.24E-05   | 7.13E-06 |

FIG. 45

CHO-hCD93 細胞におけるMMRN2 遮断アッセイ

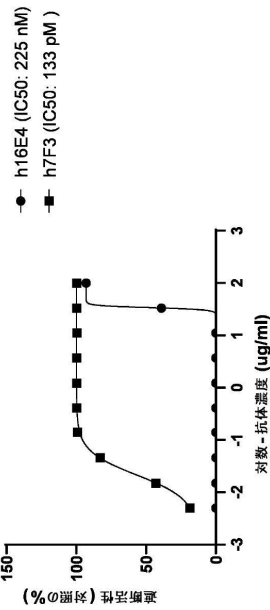


FIG. 43

Octetによる16E4および7F3の結合親和性の要約

| 抗体         | ELISA (hCD93) | Octet (hCD93) | FACS (CHO-hCD93 細胞) |
|------------|---------------|---------------|---------------------|
| 16E4-Hyb.  | 112 pM        | 334 pM        | 590 pM              |
| 16E4-hlgG1 | 41 pM         | 135 pM        | 240 pM              |
| h16E4      | 33 pM         | 416 pM        | 388 pM              |
| h16E4-2週間  | 49 pM         | 20.4 pM       | 274 pM              |
| h16E4-4週間  | 51 pM         | 112 pM        | 312 pM              |
| 7F3-Hyb.   | 66.7 pM       | 493 pM        | 210 pM              |
| 7F3-hlgG1  | 41 pM         | 588 pM        | 400 pM              |
| h7F3       | 42.7 pM       | 472 pM        | 175 pM              |
| h7F3-2週間   | 41.3 pM       | 495 pM        | 194 pM              |
| h7F3-4週間   | 40.7 pM       | 487 pM        | 195 pM              |

| 抗体         | FACS (HUVEC 細胞) | FACS (KG1a 細胞) |
|------------|-----------------|----------------|
| 16E4-Hyb.  | 200 pM          |                |
| 16E4-hlgG1 |                 |                |
| h16E4      |                 | 131 pM         |
| h16E4-2週間  |                 | 113 pM         |
| h16E4-4週間  |                 | 115 pM         |
| 7F3-Hyb.   | 2.94 nM         |                |
| 7F3-hlgG1  |                 |                |
| h7F3       | 1.34 nM         | 24 pM          |
| h7F3-2週間   | 1.17 nM         | 21 pM          |
| h7F3-4週間   | 1.12 nM         | 19 pM          |

【図 4 3】

【 図 4 6 】

HUVEC細胞へのhIGFBP7-Hisの結合を遮断するh7F3のFACS分析

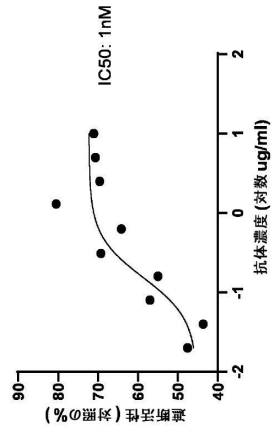


FIG. 46

【 図 4 8 】

hCD93へのhIGFBP7の結合を遮断する16E4のOctet分析

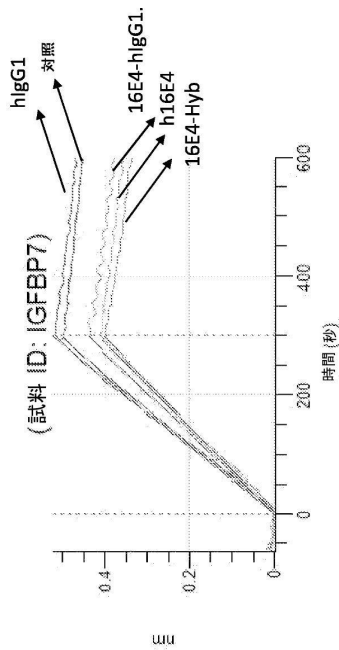


FIG. 48

【 図 4 7 】

hCD93へのhIGFBP7の結合を遮断する7F3のOctet分析

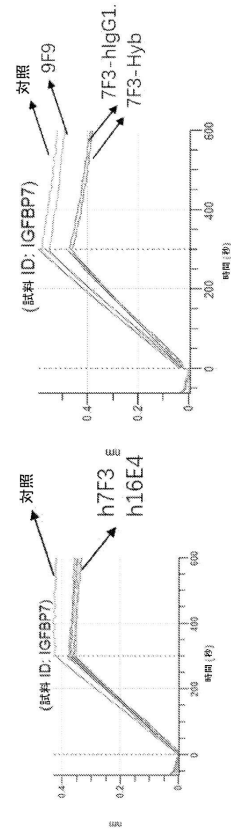


FIG. 47

【 図 4 9 】

HUVEC チューブ形成アッセイ

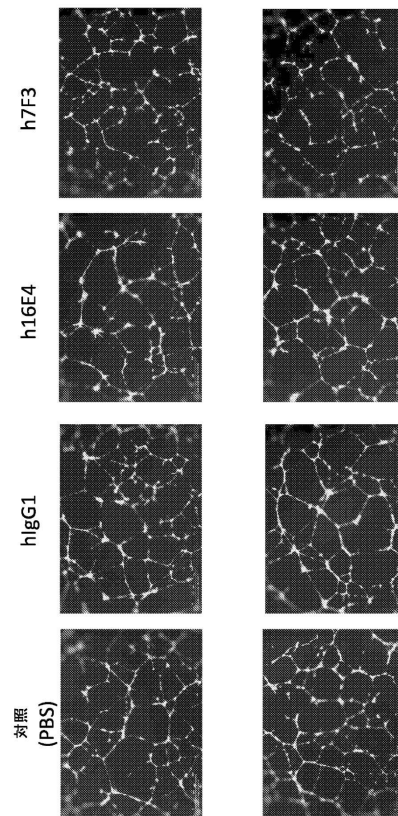


FIG. 49

10

20

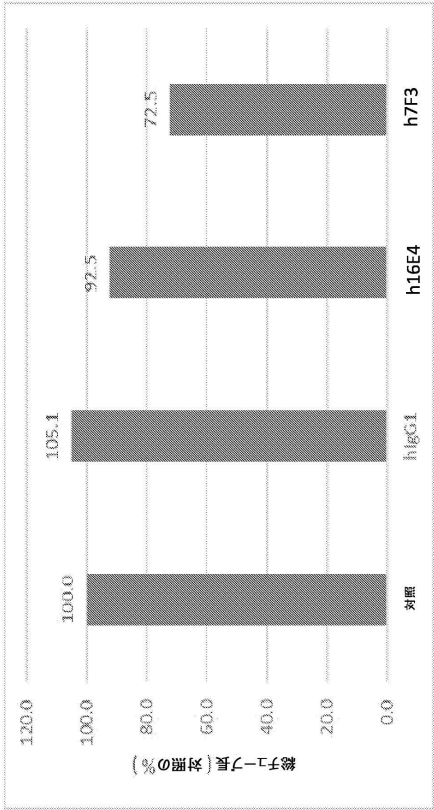
30

40

50

【図 5 0】

FIG. 50  
HUVET チューブ形成アッセイ



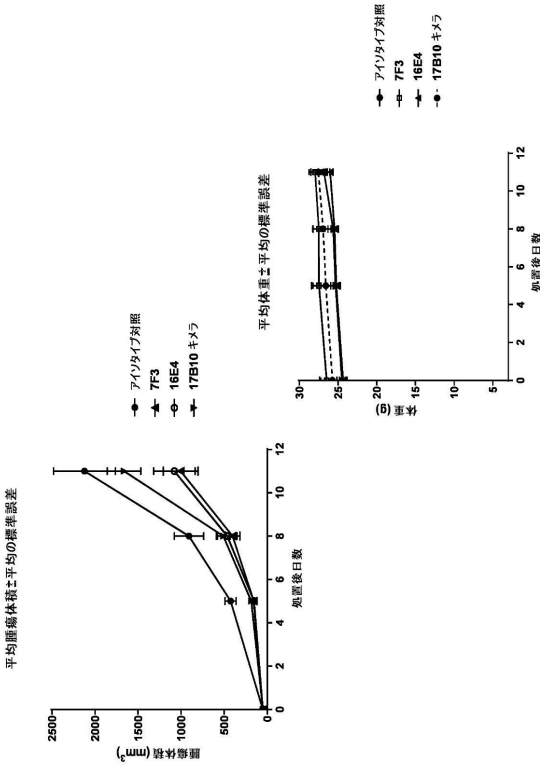
【図 5 1】

FIG. 51  
16E4、7F3、16A1および17B10の特性の概要

| クローン名 | アイソタイプ | hCD93 結合 | カニガイサル交差 | マウス交差 | 全細胞結合 (CHO-hCD93) | 全細胞結合 (HEK293-mCD93) | IGFBP7 発現 (FACS) | MMRN2 発現 (FACS) | HUVEC チューブ阻害 | 腫瘍動物モデル      |
|-------|--------|----------|----------|-------|-------------------|----------------------|------------------|-----------------|--------------|--------------|
| 16E4  | IgG1   | +++      | +++      | -     | +++               | -                    | +                | -               | +            | + (B16)      |
| 7F3   | IgG1   | +++      | +++      | -     | +++               | -                    | +                | +               | +            | + (B16)      |
| 16A1  | IgG1   | +++      | +++      | +++   | ++                | +                    | -                | -               | +            | + (B16, KPC) |
| 17B10 | IgG1   | +++      | +++      | +++   | +++               | +                    | -                | -               | +            | + (B16)      |

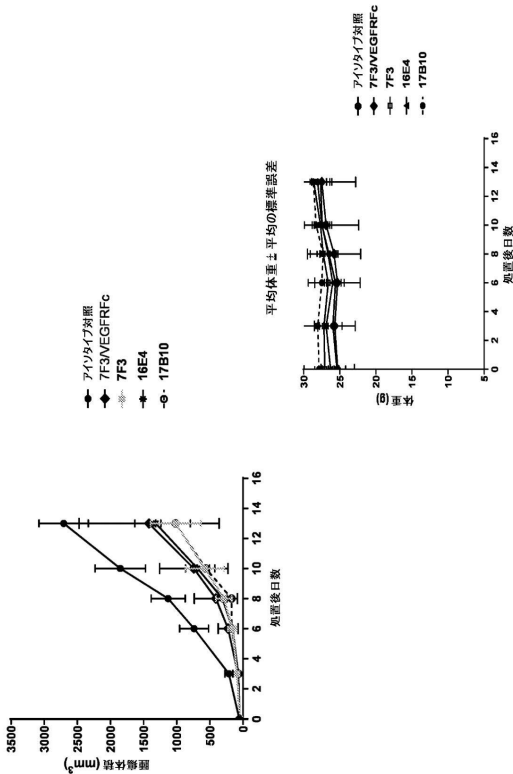
【図 5 2 A】

FIG. 52A



【図 5 2 C】

FIG. 52C



【図 5 3 A】

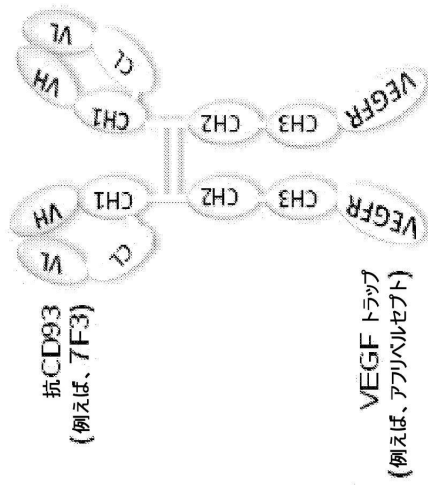


FIG. 53A

【図 5 3 B】

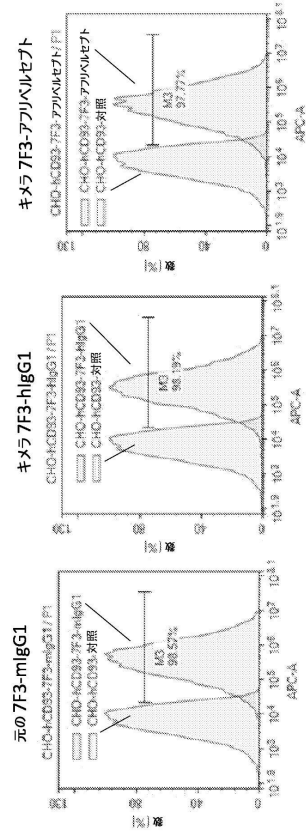


FIG. 53B

【図 5 3 C】

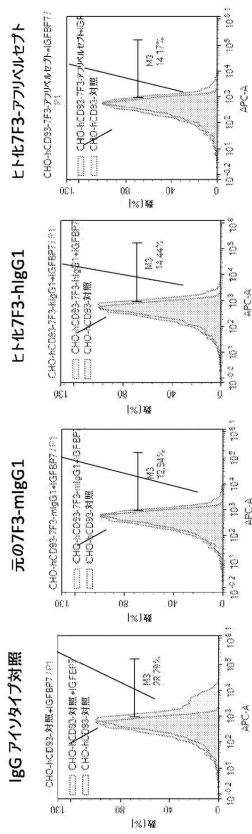


FIG. 53C

【図 5 3 D】

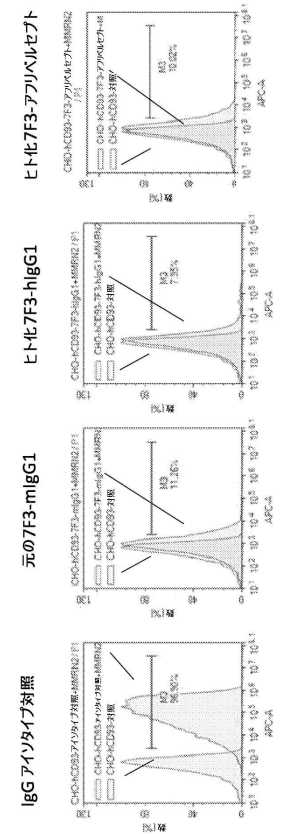


FIG. 53D

10

20

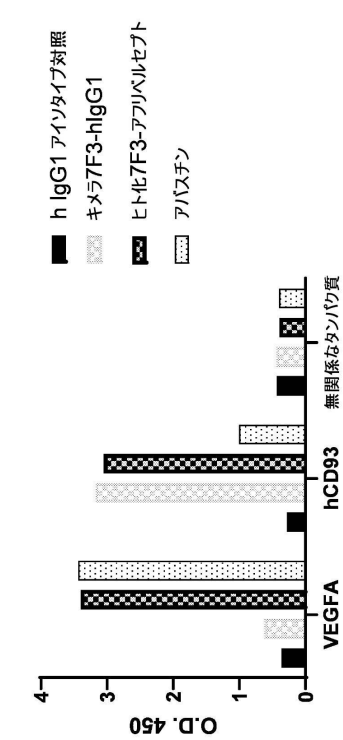
30

40

50

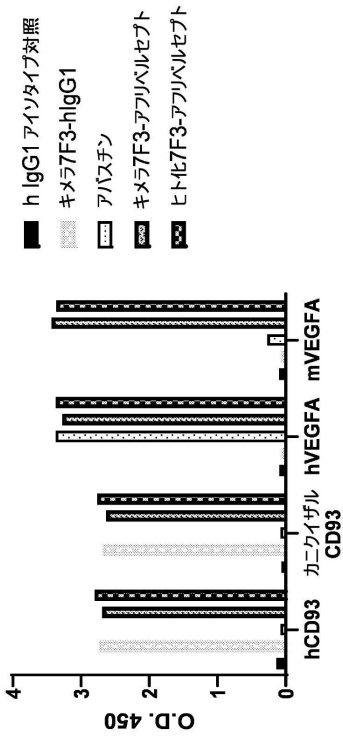
【図 5 3 E】

FIG. 53E



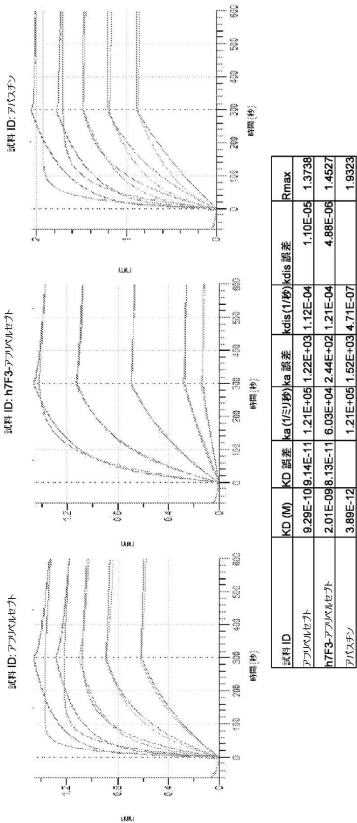
【図 5 3 F】

FIG. 53F



【図 5 3 G】

FIG. 53G



10

20

30

40

50

【手続補正書】

【提出日】令和5年5月31日(2023.5.31)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2023543031000001.app

10

20

30

40

50

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2021/052446

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61P35/00 C07K16/28 A61K39/00  
ADD.

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)

A61P A61K C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data, EMBASE

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                          | Relevant to claim No. |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| A         | US 2012/039911 A1 (PARK YOUNG WOO [KR] ET AL) 16 February 2012 (2012-02-16)<br>figure 15; example 6<br>-----                                                                                                                                                                                                | 1, 2, 14,<br>18-57    |
| A         | WO 2018/020222 A2 (UNIV BIRMINGHAM [GB])<br>1 February 2018 (2018-02-01)<br>page 15 - page 18<br>-----                                                                                                                                                                                                      | 1, 2, 14,<br>18-57    |
| X         | MAURIZIO ORLANDINI ET AL: "The<br>characterization of a novel monoclonal<br>antibody against CD93 unveils a new<br>antiangiogenic target",<br>ONCOTARGET,<br>vol. 5, no. 9, 15 May 2014 (2014-05-15),<br>pages 2750-2760, XP055735360,<br>DOI: 10.18632/oncotarget.1887<br>figure all; example all<br>----- | 1, 2, 14,<br>18-57    |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 February 2022

Date of mailing of the international search report

03/03/2022

Name and mailing address of the ISA/  
European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Fellows, Edward

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2021/052446

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3. Additional comments:

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
**PCT/US2021/052446****Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.: **3-13, 15-17 (completely); 1, 2, 14, 18-57 (partially)**  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:  
**see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210**
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

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

International Application No. PCT/US2021/052446

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 3-13, 15-17(completely); 1, 2, 14, 18-57(partially)

In response to the PCT invitation to provide informal clarification dated 17.01.22, the Applicant filed the letter dated 03.02.2022 wherein it is requested that the anti-CD93 antibody specifically containing the six CDRs defined by SEQ ID Nos. 177 (HCDR1), 178 (HCDR2), 179 (HCDR3), 180 or 353 (LCDR1), 181 or 354 (LCDR2) and 182 (LCDR3) as detailed in claim 1(1) be searched in more detail.

The Applicant here has requested that

two anti-CD93 antibody be searched i.e. those comprising the 6 CDR sequences defined by 1) SEQ ID Nos. 177-182 and 2) SEQ ID Nos. 177-179, 353, 354 and 182.

In this regard, since the requirements of Rule 13 PCT are not met in that no common linking inventive concept can be found that unifies the aforementioned antibodies i.e. the listed CDRs differ by two different LCDR sequences, namely LCDR 1 and 2, solely the antibody first mentioned by the Applicant i.e. that composed by CDRs 177-182 shall be searched.

The present claim set is comprised by claims 1-57. In view of the Applicant's response to the PCT-CLAR, said claim-set will this be partially searched in so far as the claims relate specifically to the aforementioned antibody i.e. an anti-CD93 antibody comprising the 6 specific CDRs defined by SEQ ID Nos. 177-182.

Claims that do not teach

said specific combination of said 6 CDRs shall not be searched. In addition, antibodies that compete with the antibody of claim 1(1) having the 6 CDRs of SEQ ID Nos 177-182 shall also not be searched in view of the Applicant's request to specifically search antibodies having the 6 CDRs defined by SEQ ID Nos. 177-182. Therefore, the "compete for binding" language must be removed from claim 1 and the claim restricted to the 6 CDRs of claim 1(1) namely those defined by SEQ ID Nos. 177-182.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guidelines C-IV, 7.2), should the problems which led to the Article 17(2) PCT declaration be overcome.

10

20

30

40

50

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2021/052446

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------|---------------------|
| US 2012039911 A1                          | 16-02-2012          | EP 2392352 A2              | 07-12-2011          |
|                                           |                     | JP 5752052 B2              | 22-07-2015          |
|                                           |                     | JP 2012516322 A            | 19-07-2012          |
|                                           |                     | US 2012039911 A1           | 16-02-2012          |
|                                           |                     | WO 2010087594 A2           | 05-08-2010          |
| -----                                     |                     |                            |                     |
| WO 2018020222 A2                          | 01-02-2018          | EP 3487879 A2              | 29-05-2019          |
|                                           |                     | US 2019185532 A1           | 20-06-2019          |
|                                           |                     | WO 2018020222 A2           | 01-02-2018          |
| -----                                     |                     |                            |                     |

## 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    | 15/63 (2006.01)  | C 1 2 N | 15/63       | Z     |
| C 1 2 N    | 1/15 (2006.01)   | C 1 2 N | 1/15        |       |
| C 1 2 N    | 1/19 (2006.01)   | C 1 2 N | 1/19        |       |
| C 1 2 N    | 1/21 (2006.01)   | C 1 2 N | 1/21        |       |
| C 1 2 N    | 5/10 (2006.01)   | C 1 2 N | 5/10        |       |
| C 1 2 P    | 21/08 (2006.01)  | C 1 2 P | 21/08       |       |
| A 6 1 K    | 39/395 (2006.01) | A 6 1 K | 39/395      | N     |
| A 6 1 K    | 47/68 (2017.01)  | A 6 1 K | 47/68       |       |
| A 6 1 K    | 45/00 (2006.01)  | A 6 1 K | 45/00       |       |
| A 6 1 P    | 35/00 (2006.01)  | A 6 1 P | 35/00       |       |
| A 6 1 P    | 35/04 (2006.01)  | A 6 1 P | 35/04       |       |
| A 6 1 P    | 43/00 (2006.01)  | A 6 1 P | 43/00       | 1 2 1 |

(32)優先日 令和3年7月29日(2021.7.29)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(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,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,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,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,TH,TJ,TM,TN,TR,T,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁護士 山本 健策

(72)発明者 チェン, ジロン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2, ケンブリッジ, ワン ブロードウェイ 1 4 フロア, ダイナミキュア バイオテクノロジー エルエルシー 気付

(72)発明者 ゲレット, ロクサン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2, ケンブリッジ, ワン ブロードウェイ 1 4 フロア, ダイナミキュア バイオテクノロジー エルエルシー 気付

(72)発明者 ジョーンズ, グレゴリー

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2, ケンブリッジ, ワン ブロードウェイ 1 4 フロア, ダイナミキュア バイオテクノロジー エルエルシー 気付

(72)発明者 駒場 繁

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2, ケンブリッジ, ワン ブロードウェイ 1 4 フロア, ダイナミキュア バイオテクノロジー エルエルシー 気付

(72)発明者 リー, ジアン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2, ケンブリッジ, ワン ブロードウェイ 1 4 フロア, ダイナミキュア バイオテクノロジー エルエルシー 気付

(72)発明者 ノートン, アンジェラ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2, ケンブリッジ, ワン ブロードウェイ 1 4 フロア, ダイナミキュア バイオテクノロジー エルエルシー 気付

(72)発明者 ウー, リファ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2, ケンブリッジ, ワン ブロードウェイ 1 4 フロア, ダイナミキュア バイオテクノロジー エルエルシー 気付

(72)発明者 シャ, ジナン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2, ケンブリッジ, ワン ブロードウェイ 1 4 フロア, ダイナミキュア バイオテクノロジー エルエルシー 気付

F ターム (参考) 4B064 AG27 CA02 CA05 CA06 CA08 CA10 CA19 CC24 DA01

4B065 AA01X AA01Y AA57X AA57Y AA72X AA72Y AA83X AA83Y AA90X AA90Y

---

F ターム (参考)

AB01 AC14 BA02 CA44  
4C076 AA95 CC27 CC41 EE41 EE59  
4C084 AA19 MA02 NA05 NA14 ZB261 ZB262 ZC75  
4C085 AA14 BB11 BB33 BB34 BB35 BB36 BB37 BB41 BB42 BB43  
CC23 EE01  
4H045 AA10 AA20 AA30 BA09 BA41 CA40 DA76 EA20 FA74