

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-503229
(P2025-503229A)

(43)公表日 令和7年1月30日(2025.1.30)

(51)国際特許分類			F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/28	(2006.01)	C 0 7 K	16/28	Z N A	4 B 0 6 4
C 0 7 K	16/32	(2006.01)	C 0 7 K	16/32		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 1 2 N	15/13	(2006.01)	C 1 2 N	15/13		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120頁)	最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-544781(P2024-544781)	(71)出願人	521213200
(86)(22)出願日	令和5年1月19日(2023.1.19)		バイオサイトジェン ファーマシューテ
(85)翻訳文提出日	令和6年7月26日(2024.7.26)		ィカルズ (ベイジン) カンパニー リ
(86)国際出願番号	PCT/CN2023/073039		ミテッド
(87)国際公開番号	WO2023/143343		中華人民共和国 1 0 2 6 0 0 ベイジン
(87)国際公開日	令和5年8月3日(2023.8.3)		、ダクシング ディストリクト、ダクシ
(31)優先権主張番号	PCT/CN2022/074078		ング バイオーメディスン インダストリ
(32)優先日	令和4年1月26日(2022.1.26)		ー パーク、パオシェン サウス ストリ
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)		ート、ナンバー 1 2
(31)優先権主張番号	PCT/CN2022/110153	(74)代理人	100099759
(32)優先日	令和4年8月4日(2022.8.4)		弁理士 青木 篤
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)	(74)代理人	100123582
			弁理士 三橋 真二
(31)優先権主張番号	PCT/CN2022/128951	(74)代理人	100117019
			弁理士 渡辺 陽一

最終頁に続く		最終頁に続く	
--------	--	--------	--

(54)【発明の名称】 抗HER2／TROP2抗体及びその使用

(57)【要約】
本開示は、抗HER2抗体又はその抗原結合断片、抗TROP2抗体又はその抗原結合断片、2つの異なる抗原（例えば、HER2及びTROP2）に特異的に結合する、抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体又はその抗原結合断片）、及び、抗体薬物コンジュゲートに関する。

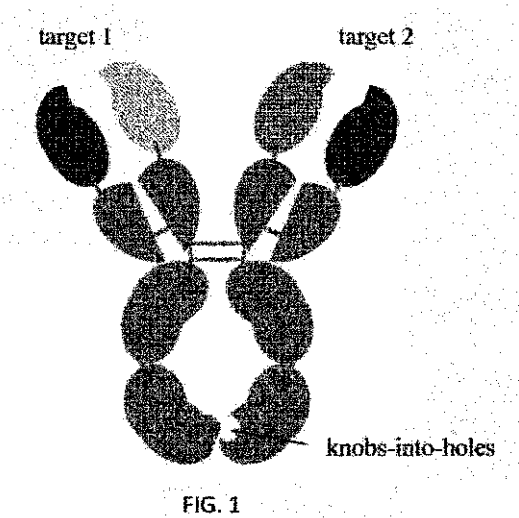


FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

相補性決定領域（CDR）1、2、及び3を含む重鎖可変領域（VH）であって、前記 VH CDR 1 領域は、選択された VH CDR 1 アミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を含み、前記 VH CDR 2 領域は、選択された VH CDR 2 アミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を含み、前記 VH CDR 3 領域は、選択された VH CDR 3 アミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を含む、前記重鎖可変領域と、

CDR 1、2、及び3を含む軽鎖可変領域（VL）であって、前記 VL CDR 1 領域は、選択された VL CDR 1 アミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を含み、前記 VL CDR 2 領域は、選択された VL CDR 2 アミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を含み、前記 VL CDR 3 領域は、選択された VL CDR 3 アミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を含む、前記軽鎖可変領域と、を含み、

前記選択された VH CDR 1、2、及び3 アミノ酸配列、並びに、前記選択された VL CDR 1、2、及び3 アミノ酸配列は、以下：

（1）前記選択された VH CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 7～9 に示され、前記選択された VL CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1～3 に示される；

（2）前記選択された VH CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 10～12 に示され、前記選択された VL CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1～3 に示される；

（3）前記選択された VH CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 13～15 に示され、前記選択された VL CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1～3 に示される；

（4）前記選択された VH CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 16～18 に示され、前記選択された VL CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1～3 に示される；

（5）前記選択された VH CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 19～21 に示され、前記選択された VL CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1～3 に示される；

（6）前記選択された VH CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 22～24 に示され、前記選択された VL CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4～6 に示される；

（7）前記選択された VH CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 25～27 に示され、前記選択された VL CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4～6 に示される；

（8）前記選択された VH CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 28～30 に示され、前記選択された VL CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4～6 に示される；

（9）前記選択された VH CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 31～33 に示され、前記選択された VL CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4～6 に示される；

（10）前記選択された VH CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 34～36 に示され、前記選択された VL CDR 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4～6 に示される；

のうちの1つである、HER2（ヒト上皮成長因子受容体2）に結合する抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 2】

Kabat の付番スキームに従い、前記 VH は、それぞれ、配列番号 7～9 に示される

アミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含み、前記VLは、それぞれ、配列番号1～3に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含む、請求項1に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項3】

Kabatの付番スキームに従い、前記VHは、それぞれ、配列番号10～12に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含み、前記VLは、それぞれ、配列番号1～3に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含む、請求項1に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項4】

Kabatの付番スキームに従い、前記VHは、それぞれ、配列番号13～15に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含み、前記VLは、それぞれ、配列番号1～3に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含む、請求項1に記載の抗体又はその抗原結合断片。

10

【請求項5】

Kabatの付番スキームに従い、前記VHは、それぞれ、配列番号16～18に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含み、前記VLは、それぞれ、配列番号1～3に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含む、請求項1に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項6】

Kabatの付番スキームに従い、前記VHは、それぞれ、配列番号19～21に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含み、前記VLは、それぞれ、配列番号1～3に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含む、請求項1に記載の抗体又はその抗原結合断片。

20

【請求項7】

Chothiaの付番スキームに従い、前記VHは、それぞれ、配列番号22～24に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含み、前記VLは、それぞれ、配列番号4～6に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含む、請求項1に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項8】

Chothiaの付番スキームに従い、前記VHは、それぞれ、配列番号25～27に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含み、前記VLは、それぞれ、配列番号4～6に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含む、請求項1に記載の抗体又はその抗原結合断片。

30

【請求項9】

Chothiaの付番スキームに従い、前記VHは、それぞれ、配列番号28～30に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含み、前記VLは、それぞれ、配列番号4～6に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含む、請求項1に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項10】

Chothiaの付番スキームに従い、前記VHは、それぞれ、配列番号31～33に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含み、前記VLは、それぞれ、配列番号4～6に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含む、請求項1に記載の抗体又はその抗原結合断片。

40

【請求項11】

Chothiaの付番スキームに従い、前記VHは、それぞれ、配列番号34～36に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含み、前記VLは、それぞれ、配列番号4～6に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含む、請求項1に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項12】

前記抗体又は抗原結合断片は、ヒトHER2又はイヌHER2に特異的に結合する、請

50

求項 1 ～ 1 1 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 1 3】

前記抗体又は抗原結合断片は、ヒト又はヒト化抗体或いはその抗原結合断片である、請求項 1 ～ 1 2 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 1 4】

前記抗体又は抗原結合断片は、一本鎖可変断片（s c F v）である、請求項 1 ～ 1 3 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 1 5】

選択された重鎖可変領域（V H）配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む V H と、選択された軽鎖可変領域（V L）配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む V L と、を含み、前記選択された V H 配列及び前記選択された V L 配列は、以下：

（1）前記選択された V H 配列は配列番号 3 8 であり、前記選択された V L 配列は配列番号 3 7 である；

（2）前記選択された V H 配列は配列番号 3 9 であり、前記選択された V L 配列は配列番号 3 7 である；

（3）前記選択された V H 配列は配列番号 4 0 であり、前記選択された V L 配列は配列番号 3 7 である；

（4）前記選択された V H 配列は配列番号 4 1 であり、前記選択された V L 配列は配列番号 3 7 である；

（5）前記選択された V H 配列は配列番号 4 2 であり、前記選択された V L 配列は配列番号 3 7 である；

のうちの 1 つである、H E R 2 に結合する抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 1 6】

前記 V H は配列番号 3 8 の配列を含み、前記 V L は配列番号 3 7 の配列を含む、請求項 1 5 に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 1 7】

前記 V H は配列番号 3 9 の配列を含み、前記 V L は配列番号 3 7 の配列を含む、請求項 1 5 に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 1 8】

前記 V H は配列番号 4 0 の配列を含み、前記 V L は配列番号 3 7 の配列を含む、請求項 1 5 に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 1 9】

前記 V H は配列番号 4 1 の配列を含み、前記 V L は配列番号 3 7 の配列を含む、請求項 1 5 に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 2 0】

前記 V H は配列番号 4 2 の配列を含み、前記 V L は配列番号 3 7 の配列を含む、請求項 1 5 に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 2 1】

前記抗体又は抗原結合断片は、ヒト H E R 2 又はイヌ H E R 2 に特異的に結合する、請求項 1 5 ～ 2 0 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 2 2】

前記抗体又は抗原結合断片は、ヒト又はヒト化抗体或いはその抗原結合断片である、請求項 1 5 ～ 2 1 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 2 3】

前記抗体又は抗原結合断片は、一本鎖可変断片（s c F v）である、請求項 1 5 ～ 2 2 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 2 4】

請求項 1 ～ 2 3 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合断片と交差競合する、抗体又はその抗原結合断片。

10

20

30

40

50

【請求項 25】

選択された重鎖可変領域（VH）配列のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3と同一のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含むVH、並びに選択された軽鎖可変領域（VL）配列のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3と同一のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含むVLを含み、前記選択されたVH配列及び前記選択されたVL配列は、以下：

- （1）前記選択されたVH配列は配列番号38であり、前記選択されたVL配列は配列番号37である；
- （2）前記選択されたVH配列は配列番号39であり、前記選択されたVL配列は配列番号37である；
- （3）前記選択されたVH配列は配列番号40であり、前記選択されたVL配列は配列番号37である；
- （4）前記選択されたVH配列は配列番号41であり、前記選択されたVL配列は配列番号37である；
- （5）前記選択されたVH配列は配列番号42であり、前記選択されたVL配列は配列番号37である；

のうちの1つである、HER2に結合する抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 26】

前記抗体又はその抗原結合断片は、二重特異性又は多重特異性抗体或いはその抗原結合断片である、請求項1～25のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 27】

前記抗体又はその抗原結合断片は更に、TROP2に特異的に結合する、請求項26に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 28】

（1）それぞれ、配列番号7～9に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（CDR）1、2、及び3を含む重鎖可変領域（VH）を含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、前記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（VL）と対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

（2）それぞれ、配列番号10～12に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、前記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

（3）それぞれ、配列番号13～15に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、前記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

（4）それぞれ、配列番号16～18に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、前記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

（5）それぞれ、配列番号19～21に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、前記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

（6）それぞれ、配列番号22～24に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、前記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

（7）それぞれ、配列番号25～27に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、前記VHは、配列番号

10

20

30

40

50

(19) それぞれ、配列番号4～6に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域(CDR)1、2、及び3を含む軽鎖可変領域(VL)を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、前記VLは、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、或いは

50

(20) それぞれ、配列番号4～6に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域(CDR)1、2、及び3を含む軽鎖可変領域(VL)を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、前記VLは、配列番号42に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む核酸。

【請求項29】

前記VHは、VLと対形成する際に、ヒトHER2又はイヌHER2に特異的に結合する、請求項28に記載の核酸。

【請求項30】

前記免疫グロブリン重鎖又はその断片は、ヒト又はヒト化免疫グロブリン重鎖或いはその断片である、請求項28～29のいずれか1項に記載の核酸。

【請求項31】

前記核酸は、一本鎖可変断片(scFv)をコードする、請求項28～30のいずれか1項に記載の核酸。

【請求項32】

前記核酸はcDNAである、請求項28～31のいずれか1項に記載の核酸。

【請求項33】

相補性決定領域(CDR)1、2、及び3を含む重鎖可変領域(VH)であって、前記VH CDR1領域は、選択されたVH CDR1アミノ酸配列と少なくとも80%同一であるアミノ酸配列を含み、前記VH CDR2領域は、選択されたVH CDR2アミノ酸配列と少なくとも80%同一であるアミノ酸配列を含み、前記VH CDR3領域は、選択されたVH CDR3アミノ酸配列と少なくとも80%同一であるアミノ酸配列を含む、前記重鎖可変領域と、

CDR1、2、及び3を含む軽鎖可変領域(VL)であって、前記VL CDR1領域は、選択されたVL CDR1アミノ酸配列と少なくとも80%同一であるアミノ酸配列を含み、前記VL CDR2領域は、選択されたVL CDR2アミノ酸配列と少なくとも80%同一であるアミノ酸配列を含み、前記VL CDR3領域は、選択されたVL CDR3アミノ酸配列と少なくとも80%同一であるアミノ酸配列を含む、前記軽鎖可変領域と、を含み、

前記選択されたVH CDR1、2、及び3アミノ酸配列、並びに、前記選択されたVL CDR1、2、及び3アミノ酸配列は、以下：

(1) 前記選択されたVH CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号43～45に示され、前記選択されたVL CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号1～3に示される；

(2) 前記選択されたVH CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号46～48に示され、前記選択されたVL CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号1～3に示される；

(3) 前記選択されたVH CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号49～51に示され、前記選択されたVL CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号1～3に示される；

(4) 前記選択されたVH CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号52～54に示され、前記選択されたVL CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号4～6に示される；

(5) 前記選択されたVH CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号55～57に示され、前記選択されたVL CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号4～6に示される；

(6) 前記選択されたVH CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号58～60に示され、前記選択されたVL CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号4～6に示される；

を含む、TROP2(栄養芽細胞表面抗原2)に結合する抗体又はその抗原結合断片。

10

20

30

40

50

【請求項 34】

K a b a t の付番スキームに従い、前記 V H は、それぞれ、配列番号 43～45 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含み、前記 V L は、それぞれ、配列番号 1～3 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含む、請求項 33 に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 35】

K a b a t の付番スキームに従い、前記 V H は、それぞれ、配列番号 46～48 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含み、前記 V L は、それぞれ、配列番号 1～3 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含む、請求項 33 に記載の抗体又はその抗原結合断片。

10

【請求項 36】

K a b a t の付番スキームに従い、前記 V H は、それぞれ、配列番号 49～51 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含み、前記 V L は、それぞれ、配列番号 1～3 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含む、請求項 33 に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 37】

C h o t h i a の付番スキームに従い、前記 V H は、それぞれ、配列番号 52～54 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含み、前記 V L は、それぞれ、配列番号 4～6 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含む、請求項 33 に記載の抗体又はその抗原結合断片。

20

【請求項 38】

C h o t h i a の付番スキームに従い、前記 V H は、それぞれ、配列番号 55～57 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含み、前記 V L は、それぞれ、配列番号 4～6 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含む、請求項 33 に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 39】

C h o t h i a の付番スキームに従い、前記 V H は、それぞれ、配列番号 58～60 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含み、前記 V L は、それぞれ、配列番号 4～6 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含む、請求項 33 に記載の抗体又はその抗原結合断片。

30

【請求項 40】

前記抗体又は抗原結合断片は、ヒト T R O P 2 又はイヌ T R O P 2 に特異的に結合する、請求項 33～39 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 41】

前記抗体又は抗原結合断片は、ヒト又はヒト化抗体或いはその抗原結合断片である、請求項 33～40 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 42】

前記抗体又は抗原結合断片は、一本鎖可変断片 (s c F v) である、請求項 33～41 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 43】

選択された重鎖可変領域 (V H) 配列と少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列を含む V H と、選択された軽鎖可変領域 (V L) 配列と少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列を含む V L と、を含み、前記選択された V H 配列及び前記選択された V L 配列は、以下：

40

(1) 前記選択された V H 配列は配列番号 61 であり、前記選択された V L 配列は配列番号 37 である；

(2) 前記選択された V H 配列は配列番号 62 であり、前記選択された V L 配列は配列番号 37 である；

(3) 上記選択された V H 配列は配列番号 63 であり、前記選択された V L 配列は配列番号 37 である；

50

のうちの1つである、TROP2に結合する抗体又はその抗原結合断片。

【請求項44】

前記VHは配列番号61の配列を含み、前記VLは配列番号37の配列を含む、請求項43に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項45】

前記VHは配列番号62の配列を含み、前記VLは配列番号37の配列を含む、請求項43に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項46】

前記VHは配列番号63の配列を含み、前記VLは配列番号37の配列を含む、請求項43に記載の抗体又はその抗原結合断片。

10

【請求項47】

前記抗体又は抗原結合断片は、ヒトTROP2又はイヌTROP2に特異的に結合する、請求項43～46のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項48】

前記抗体又は抗原結合断片は、ヒト又はヒト化抗体或いはその抗原結合断片である、請求項43～47のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項49】

前記抗体又は抗原結合断片は、一本鎖可変断片(scfv)である、請求項43～46のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

20

【請求項50】

請求項33～49のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合断片と交差競合する、抗体又はその抗原結合断片。

【請求項51】

選択された重鎖可変領域(VH)配列のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3と同一のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含むVH、並びに選択された軽鎖可変領域(VL)配列のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3と同一のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含むVLを含み、前記選択されたVH配列及び前記選択されたVL配列は、以下：

(1) 前記選択されたVH配列は配列番号61であり、前記選択されたVL配列は配列番号37である；

30

(2) 前記選択されたVH配列は配列番号62であり、前記選択されたVL配列は配列番号37である；

(3) 前記選択されたVH配列は配列番号63であり、前記選択されたVL配列は配列番号37である；

のうちの1つである、TROP2に結合する抗体又はその抗原結合断片。

【請求項52】

前記抗体又はその抗原結合断片は、二重特異性又は多重特異性抗体或いはその抗原結合断片である、請求項33～51のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項53】

前記抗体又はその抗原結合断片は更に、HER2に特異的に結合する、請求項33～52のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

40

【請求項54】

(1) それぞれ、配列番号43～45に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域(CDR)1、2、及び3を含む重鎖可変領域(VH)を含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、前記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)と対形成する際に、TROP2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

(2) それぞれ、配列番号46～48に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、前記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、TROP2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

50

(3) それぞれ、配列番号 49～51 に示されるアミノ酸配列を含む CDR1、2、及び 3 を含む V_H を含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、前記 V_H は、配列番号 37 に示されるアミノ酸配列を含む V_L と対形成する際に、TROP2 に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、或いは

(4) それぞれ、配列番号 52～54 に示されるアミノ酸配列を含む CDR1、2、及び 3 を含む V_H を含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、前記 V_H は、配列番号 37 に示されるアミノ酸配列を含む V_L と対形成する際に、TROP2 に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

(5) それぞれ、配列番号 55～57 に示されるアミノ酸配列を含む CDR1、2、及び 3 を含む V_H を含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、前記 V_H は、配列番号 37 に示されるアミノ酸配列を含む V_L と対形成する際に、TROP2 に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

(6) それぞれ、配列番号 58～60 に示されるアミノ酸配列を含む CDR1、2、及び 3 を含む V_H を含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、前記 V_H は、配列番号 37 に示されるアミノ酸配列を含む V_L と対形成する際に、TROP2 に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

(7) それぞれ、配列番号 1～3 に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 (CDR) 1、2、及び 3 を含む軽鎖可変領域 (V_L) を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、前記 V_L は、配列番号 61 に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V_H) と対形成する際に、TROP2 に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

(8) それぞれ、配列番号 1～3 に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 (CDR) 1、2、及び 3 を含む軽鎖可変領域 (V_L) を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、前記 V_L は、配列番号 62 に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V_H) と対形成する際に、TROP2 に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

(9) それぞれ、配列番号 1～3 に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 (CDR) 1、2、及び 3 を含む軽鎖可変領域 (V_L) を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、前記 V_L は、配列番号 63 に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V_H) と対形成する際に、TROP2 に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

(10) それぞれ、配列番号 4～6 に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 (CDR) 1、2、及び 3 を含む軽鎖可変領域 (V_L) を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、前記 V_L は、配列番号 61 に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V_H) と対形成する際に、TROP2 に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

(11) それぞれ、配列番号 4～6 に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 (CDR) 1、2、及び 3 を含む軽鎖可変領域 (V_L) を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、前記 V_L は、配列番号 62 に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V_H) と対形成する際に、TROP2 に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

(12) それぞれ、配列番号 4～6 に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 (CDR) 1、2、及び 3 を含む軽鎖可変領域 (V_L) を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、前記 V_L は、配列番号 63 に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V_H) と対形成する際に、TROP2 に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む核酸。

【請求項 55】

前記 V_H は、V_L と対形成する際に、ヒト TROP2 又はイヌ TROP2 に特異的に結合する、請求項 54 に記載の核酸。

【請求項 56】

前記免疫グロブリン重鎖又はその断片は、ヒト又はヒト化免疫グロブリン重鎖或いはその断片である、請求高 54～55 のいずれか 1 項に記載の核酸。

【請求項 57】

前記核酸は、一本鎖可変断片 (scFv) をコードする、請求項 54～56 のいずれか 1 項に記載の核酸。

10

20

30

40

50

【請求項 58】

前記核酸は cDNA である、請求項 54～57 のいずれか 1 項に記載の核酸。

【請求項 59】

HER2 に特異的に結合する第 1 の抗原結合ドメインと、TROP2 に特異的に結合する第 2 の抗原結合ドメインと、を含む抗原結合タンパク質構築物。

【請求項 60】

前記第 1 の抗原結合ドメインは、第 1 の重鎖可変領域 (VH1) 及び第 1 の軽鎖可変領域 (VL1) を含み、前記第 2 の抗原結合ドメインは、第 2 の重鎖可変領域 (VH2) 及び第 2 の軽鎖可変領域 (VL2) を含む、請求項 59 に記載の抗原結合タンパク質構築物。

10

【請求項 61】

前記第 1 の重鎖可変領域 (VH1) は、相補性決定領域 (CDR) 1、2、及び 3 を含み、前記 VH1 CDR1 領域は、選択された VH1 CDR1 アミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を含み、前記 VH1 CDR2 領域は、選択された VH1 CDR2 アミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を含み、前記 VH1 CDR3 領域は、選択された VH1 CDR3 アミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を含み、かつ

前記第 1 の軽鎖可変領域 (VL1) は CDR1、2、及び 3 を含み、前記 VL1 CDR1 領域は、選択された VL1 CDR1 アミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を含み、前記 VL1 CDR2 領域は、選択された VL1 CDR2 アミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を含み、前記 VL1 CDR3 領域は、選択された VL1 CDR3 アミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を含み、

20

前記選択された VH1 CDR1、2、及び 3 アミノ酸配列、並びに、前記選択された VL1 CDR1、2、及び 3 アミノ酸配列は、以下：

(1) 前記選択された VH1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 7～9 に示され、前記選択された VL1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1～3 に示される；

(2) 前記選択された VH1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 10～12 に示され、前記選択された VL1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1～3 に示される；

30

(3) 前記選択された VH1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 13～15 に示され、前記選択された VL1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1～3 に示される；

(4) 前記選択された VH1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 16～18 に示され、前記選択された VL1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1～3 に示される；

(5) 前記選択された VH1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 19～21 に示され、前記選択された VL1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1～3 に示される；

40

(6) 前記選択された VH1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 22～24 に示され、前記選択された VL1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4～6 に示される；

(7) 前記選択された VH1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 25～27 に示され、前記選択された VL1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4～6 に示される；

(8) 前記選択された VH1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 28～30 に示され、前記選択された VL1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4～6 に示される；

(9) 前記選択された VH1 CDR1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 31

50

～ 3 3 に示され、前記選択された V L 1 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4 ～ 6 に示される；

(1 0) 前記選択された V H 1 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 3 4 ～ 3 6 に示され、前記選択された V L 1 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4 ～ 6 に示される；

のうちの 1 つである、請求項 6 0 に記載の抗原結合タンパク質構築物。

【請求項 6 2】

前記第 2 の重鎖可変領域 (V H 2) は C D R 1、2、及び 3 を含み、前記 V H 2 C D R 1 領域は、選択された V H 2 C D R 1 アミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含み、前記 V H 2 C D R 2 領域は、選択された V H 2 C D R 2 アミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含み、前記 V H 2 C D R 3 領域は、選択された V H 2 C D R 3 アミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含み、かつ

前記第 2 の軽鎖可変領域 (V L 2) は C D R 1、2、及び 3 を含み、前記 V L 2 C D R 1 領域は、選択された V L 2 C D R 1 アミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含み、前記 V L 2 C D R 2 領域は、選択された V L 2 C D R 2 アミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含み、前記 V L 2 C D R 3 領域は、選択された V L 2 C D R 3 アミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含み、

前記選択された V H 2 C D R 1、2、及び 3 アミノ酸配列、並びに、前記選択された V L 2 C D R 1、2、及び 3 アミノ酸配列は、以下：

(1) 前記選択された V H 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4 3 ～ 4 5 に示され、前記選択された V L 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1 ～ 3 に示される；

(2) 前記選択された V H 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4 6 ～ 4 8 に示され、前記選択された V L 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1 ～ 3 に示される；

(3) 前記選択された V H 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4 9 ～ 5 1 に示され、前記選択された V L 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1 ～ 3 に示される；

(4) 前記選択された V H 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 5 2 ～ 5 4 に示され、前記選択された V L 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4 ～ 6 に示される；

(5) 前記選択された V H 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 5 5 ～ 5 7 に示され、前記選択された V L 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4 ～ 6 に示される；

(6) 前記選択された V H 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 5 8 ～ 6 0 に示され、前記選択された V L 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4 ～ 6 に示される；

のうちの 1 つである、請求項 6 0 又は 6 1 に記載の抗原結合タンパク質構築物。

【請求項 6 3】

(1) 前記選択された V H 1 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 1 0 ～ 1 2 に示され、前記選択された V L 1 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 1 ～ 3 に示され、前記選択された V H 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 4 9 ～ 5 1 に示され、前記選択された V L 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 1 ～ 3 に示される；

(2) 前記選択された V H 1 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 1 9 ～ 2 1 に示され、前記選択された V L 1 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 1 ～ 3 に示され、前記選択された V H 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 4 9 ～ 5 1 に示され、前記選択された V L 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそ

(3) 前記選択されたVH1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号7～9に示され、前記選択されたVL1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示され、前記選択されたVH2 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号49～51に示され、前記選択されたVL2 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示される；

10

(6) 前記選択された V H 1 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 19～21 に示され、前記選択された V L 1 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 1～3 に示され、前記選択された V H 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 46～48 に示され、前記選択された V L 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 1～3 に示される；

20

(8) 前記選択されたVH1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号10～12に示され、前記選択されたVL1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示され、前記選択されたVH2 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号43～45に示され、前記選択されたVL2 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示される；

30

(10) 前記選択されたVH1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号13～15に示され、前記選択されたVL1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示され、前記選択されたVH2 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号49～51に示され、前記選択されたVL2 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示される；

40

(11) 前記選択されたVH1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号13～15に示され、前記選択されたVL1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示され、前記選択されたVH2 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号46～48に示され、前記選択されたVL2 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示される；

50

それぞれ配列番号 1～3 に示される；

(13) 前記選択された V H 1 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 1 6～1 8 に示され、前記選択された V L 1 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 1～3 に示され、前記選択された V H 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 4 9～5 1 に示され、前記選択された V L 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 1～3 に示される；

(14) 前記選択された V H 1 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 1 6～1 8 に示され、前記選択された V L 1 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 1～3 に示され、前記選択された V H 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 4 6～4 8 に示され、前記選択された V L 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 1～3 に示される；

10

(15) 前記選択された V H 1 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 1 6～1 8 に示され、前記選択された V L 1 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 1～3 に示され、前記選択された V H 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 4 3～4 5 に示され、前記選択された V L 2 C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ配列番号 1～3 に示される；

請求項 6 0～6 2 のいずれか 1 項に記載の抗原結合タンパク質構築物。

【請求項 6 4】

前記第 1 の重鎖可変領域は、配列番号 3 9 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含み、前記第 1 の軽鎖可変領域は、配列番号 3 7 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含み、前記第 2 の重鎖可変領域は、配列番号 6 3 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含み、前記第 2 の軽鎖可変領域は、配列番号 3 7 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含む、請求項 6 0 に記載の抗原結合タンパク質構築物。

20

【請求項 6 5】

前記第 1 の重鎖可変領域は、配列番号 4 2 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含み、前記第 1 の軽鎖可変領域は、配列番号 3 7 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含み、前記第 2 の重鎖可変領域は、配列番号 6 3 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含み、前記第 2 の軽鎖可変領域は、配列番号 3 7 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含む、請求項 6 0 に記載の抗原結合タンパク質構築物。

30

【請求項 6 6】

前記第 1 の重鎖可変領域は、配列番号 3 8 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含み、前記第 1 の軽鎖可変領域は、配列番号 3 7 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含み、前記第 2 の重鎖可変領域は、配列番号 6 3 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含み、前記第 2 の軽鎖可変領域は、配列番号 3 7 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含む、請求項 6 0 に記載の抗原結合タンパク質構築物。

【請求項 6 7】

前記第 1 の重鎖可変領域は、配列番号 3 8 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含み、前記第 1 の軽鎖可変領域は、配列番号 3 7 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含み、前記第 2 の重鎖可変領域は、配列番号 6 2 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含み、前記第 2 の軽鎖可変領域は、配列番号 3 7 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含む、請求項 6 0 に記載の抗原結合タンパク質構築物。

40

【請求項 6 8】

前記第 1 の重鎖可変領域は、配列番号 3 9 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含み、前記第 1 の軽鎖可変領域は、配列番号 3 7 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含み、前記第 2 の重鎖可変領域は、配列番号 6 2 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である配列を含み、

50

【請求項 69】

【請求項 7 0】

【請求項 7 1】

【請求項 7 2】

【請求項 7 3】

【請求項 7 4】

【請求項 7 5】

50

5 % 同一である配列を含む、請求項 60 に記載の抗原結合タンパク質構築物。

【請求項 76】

前記第 1 の重鎖可変領域は、配列番号 41 と少なくとも 80 %、85 %、90 %、又は 95 % 同一である配列を含み、前記第 1 の軽鎖可変領域は、配列番号 37 と少なくとも 80 %、85 %、90 %、又は 95 % 同一である配列を含み、前記第 2 の重鎖可変領域は、配列番号 62 と少なくとも 80 %、85 %、90 %、又は 95 % 同一である配列を含み、前記第 2 の軽鎖可変領域は、配列番号 37 と少なくとも 80 %、85 %、90 %、又は 95 % 同一である配列を含む、請求項 60 に記載の抗原結合タンパク質構築物。

【請求項 77】

前記第 1 の重鎖可変領域は、配列番号 40 と少なくとも 80 %、85 %、90 %、又は 95 % 同一である配列を含み、前記第 1 の軽鎖可変領域は、配列番号 37 と少なくとも 80 %、85 %、90 %、又は 95 % 同一である配列を含み、前記第 2 の重鎖可変領域は、配列番号 61 と少なくとも 80 %、85 %、90 %、又は 95 % 同一である配列を含み、前記第 2 の軽鎖可変領域は、配列番号 37 と少なくとも 80 %、85 %、90 %、又は 95 % 同一である配列を含む、請求項 60 に記載の抗原結合タンパク質構築物。

【請求項 78】

前記第 1 の重鎖可変領域は、配列番号 41 と少なくとも 80 %、85 %、90 %、又は 95 % 同一である配列を含み、前記第 1 の軽鎖可変領域は、配列番号 37 と少なくとも 80 %、85 %、90 %、又は 95 % 同一である配列を含み、前記第 2 の重鎖可変領域は、配列番号 61 と少なくとも 80 %、85 %、90 %、又は 95 % 同一である配列を含み、前記第 2 の軽鎖可変領域は、配列番号 37 と少なくとも 80 %、85 %、90 %、又は 95 % 同一である配列を含む、請求項 60 に記載の抗原結合タンパク質構築物。

【請求項 79】

前記抗原結合タンパク質構築物は二重特異性抗体である、請求項 59 ～ 78 のいずれか 1 項に記載の抗原結合タンパク質構築物。

【請求項 80】

前記第 1 の軽鎖可変領域と前記第 2 の軽鎖可変領域は同一である、請求項 60 ～ 78 のいずれか 1 項に記載の抗原結合タンパク質構築物。

【請求項 81】

請求項 28 ～ 32 及び 54 ～ 58 のいずれか 1 項に記載の核酸、又は、請求項 1 ～ 27 及び 33 ～ 53 のいずれか 1 項に記載の抗体若しくはその抗原結合断片をコードする核酸、又は、請求項 59 ～ 80 のいずれか 1 項に記載の抗原結合タンパク質構築物をコードする核酸のうちの 1 つ以上を含むベクター。

【請求項 82】

請求項 81 に記載のベクターを含む細胞。

【請求項 83】

前記細胞は CHO 細胞である、請求項 82 に記載の細胞。

【請求項 84】

請求項 28 ～ 32 及び 54 ～ 58 のいずれか 1 項に記載の核酸、又は、請求項 1 ～ 27 及び 33 ～ 53 のいずれか 1 項に記載の抗体若しくはその抗原結合断片をコードする核酸、又は、請求項 59 ～ 80 のいずれか 1 項に記載の抗原結合タンパク質構築物をコードする核酸のうちの 1 つ以上を含む細胞。

【請求項 85】

抗体若しくはその抗原結合断片、又は、抗原結合タンパク質構築物の産生方法であって、前記方法は、

(a) 請求項 82 ～ 84 のいずれか 1 項に記載の細胞を、前記細胞にとって、前記抗体若しくは前記その抗原結合断片、又は前記抗原結合タンパク質構築物を産生するのに十分な条件下で培養することと、

(b) 前記細胞により産生した前記抗体若しくは前記その抗原結合断片、又は、前記抗原結合タンパク質構築物を収集することと、

10

20

30

40

50

を含む、方法。

【請求項 86】

(a) 請求項 1～27 及び 33～53 のいずれか 1 項に記載の抗体若しくはその抗原結合断片、又は

(b) 請求項 59～80 のいずれか 1 項に記載の抗原結合タンパク質構築物に共有結合する治療剤を含む抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 87】

前記治療剤は、細胞毒性剤又は細胞増殖抑制剤である、請求項 86 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 88】

前記治療剤は MMAE 又は MMAF である、請求項 86 又は請求項 87 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 89】

癌を有する対象の治療方法であって、前記方法は、請求項 1～27 及び 33～53 のいずれか 1 項に記載の抗体若しくはその抗原結合断片、請求項 59～80 のいずれか 1 項に記載の抗原結合タンパク質構築物、又は、請求項 86～88 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲートを含む、治療に有効な量の組成物を、前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 90】

前記対象は充実性腫瘍を有する、請求項 89 に記載の方法。

【請求項 91】

前記癌は、甲状腺癌、尿路上皮癌、乳癌、結腸直腸癌、腎癌、子宮頸癌、卵巣癌、肺癌、子宮体癌、皮膚癌、胃癌、食道癌腫、膀胱癌、前立腺癌、肝癌、リンパ腫、又は神経膠腫である、請求項 89 に記載の方法。

【請求項 92】

前記癌は、子宮頸癌、前立腺癌、甲状腺癌、尿路上皮癌、頭頸部癌、子宮内膜癌、卵巣癌、肺癌、乳癌、カルチノイド、皮膚癌、肝臓癌、又は精巣癌である、請求項 89 に記載の方法。

【請求項 93】

前記癌は、多発性骨髄腫又は腎癌である、請求項 89 に記載の方法。

【請求項 94】

前記対象はヒトである、請求項 89～93 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 95】

前記対象は非ヒト動物である、請求項 89～93 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 96】

腫瘍増殖速度を低減する方法であって、前記方法は、腫瘍細胞を、請求項 1～27 及び 33～53 のいずれか 1 項に記載の抗体若しくはその抗原結合断片、請求項 59～80 のいずれか 1 項に記載の抗原結合タンパク質構築物、又は、請求項 86～88 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲートを含む、治療に有効な量の組成物と接触させることを含む、方法。

【請求項 97】

腫瘍細胞の殺傷方法であって、前記方法は、腫瘍細胞を、請求項 1～27 及び 33～53 のいずれか 1 項に記載の抗体若しくはその抗原結合断片、請求項 59～80 のいずれか 1 項に記載の抗原結合タンパク質構築物、又は、請求項 86～88 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲートを含む、治療に有効な量の組成物と接触させることを含む、方法。

【請求項 98】

薬学的に許容される担体と、

(a) 請求項 1～27 及び 33～53 のいずれか 1 項に記載の抗体若しくはその抗原結合断片、

10

20

30

40

50

(b) 請求項 59～80 のいずれか 1 項に記載の抗原結合タンパク質構築物、又は
(c) 請求項 86～88 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート
と、を含む医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、抗体又はその抗原結合断片、抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）、及び、抗体薬物コンジュゲートに関する。

【0002】

優先権の主張

本願は、2022年1月26日に出願されたPCT出願番号第PCT/CN2022/074078号、2022年8月4日に出願されたPCT出願番号第PCT/CN2022/110153号、及び、2022年11月1日に出願されたPCT出願番号第PCT/CN2022/128951号の利益を主張する。上述の内容全体が参照により、本明細書に組み込まれている。

【背景技術】

【0003】

癌は現在、人間の死亡率が最も高い疾患の一つである。世界保健機関の統計データによると、2012年に世界の癌の罹患症例数と死亡症例数は、それぞれ1400万件と820万件に達した。中国では、新しく診断された癌症例は307万件であり、死亡者数は220万人である。

【0004】

最近の、抗癌抗体の臨床的及び商業的成功によって、抗体ベース療法に多大な関心が寄せられている。癌の治療には、抗体及び抗体薬物コンジュゲートのさらなる開発が必要である。

【発明の概要】

【0005】

本開示は、抗HER2抗体又はその抗原結合断片、抗TROP2抗体又はその抗原結合断片、2つの異なる抗原（例えば、HER2及びTROP2）に特異的に結合する、抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体又はその抗原結合断片）、及び、これらの抗体又はその抗原結合断片を含む抗体薬物コンジュゲートに関する。

【0006】

一態様では、本開示は、

相補性決定領域（CDR）1、2、及び3を含む重鎖可変領域（VH）であって、上記VH CDR1領域は、選択されたVH CDR1アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含み、上記VH CDR2領域は、選択されたVH CDR2アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含み、上記VH CDR3領域は、選択されたVH CDR3アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含む、上記重鎖可変領域と、

CDR1、2、及び3を含む軽鎖可変領域（VL）であって、上記VL CDR1領域は、選択されたVL CDR1アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含み、上記VL CDR2領域は、選択されたVL CDR2アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含み、上記VL CDR3領域は、選択されたVL CDR3アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含む、上記軽鎖可変領域と、を含み、

上記選択されたVH CDR1、2、及び3アミノ酸配列、並びに、上記選択されたVL CDR1、2、及び3アミノ酸配列は、以下：

(1) 上記選択されたVH CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号7～9

10

20

30

40

50

に示され、上記選択された V L C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1～3 に示される；

(2) 上記選択された V H C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 10～12 に示され、上記選択された V L C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1～3 に示される；

(3) 上記選択された V H C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 13～15 に示され、上記選択された V L C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1～3 に示される；

(4) 上記選択された V H C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 16～18 に示され、上記選択された V L C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1～3 に示される；

10

(5) 上記選択された V H C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 19～21 に示され、上記選択された V L C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 1～3 に示される；

(6) 上記選択された V H C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 22～24 に示され、上記選択された V L C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4～6 に示される；

(7) 上記選択された V H C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 25～27 に示され、上記選択された V L C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4～6 に示される；

20

(8) 上記選択された V H C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 28～30 に示され、上記選択された V L C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4～6 に示される；

(9) 上記選択された V H C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 31～33 に示され、上記選択された V L C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4～6 に示される；

(10) 上記選択された V H C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 34～36 に示され、上記選択された V L C D R 1、2、3 アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 4～6 に示される；

のうちの 1 つである、H E R 2 (ヒト上皮成長因子受容体 2) に結合する抗体又はその抗原結合断片に関する。

30

【0007】

いくつかの実施形態において、K a b a t の付番スキームに従い、V H は、それぞれ、配列番号 7～9 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含み、V L は、それぞれ、配列番号 1～3 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含む。

【0008】

いくつかの実施形態において、K a b a t の付番スキームに従い、V H は、それぞれ、配列番号 10～12 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含み、V L は、それぞれ、配列番号 1～3 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含む。

【0009】

いくつかの実施形態において、K a b a t の付番スキームに従い、V H は、それぞれ、配列番号 13～15 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含み、V L は、それぞれ、配列番号 1～3 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含む。

40

【0010】

いくつかの実施形態において、K a b a t の付番スキームに従い、V H は、それぞれ、配列番号 16～18 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含み、V L は、それぞれ、配列番号 1～3 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含む。

【0011】

いくつかの実施形態において、K a b a t の付番スキームに従い、V H は、それぞれ、配列番号 19～21 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含み、V L は、

50

それぞれ、配列番号 1～3 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含む。

【0012】

いくつかの実施形態において、C h o t h i a の付番スキームに従い、V H は、それぞれ、配列番号 22～24 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含み、V L は、それぞれ、配列番号 4～6 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含む。

【0013】

いくつかの実施形態において、C h o t h i a の付番スキームに従い、V H は、それぞれ、配列番号 25～27 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含み、V L は、それぞれ、配列番号 4～6 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含む。

10

【0014】

いくつかの実施形態において、C h o t h i a の付番スキームに従い、V H は、それぞれ、配列番号 28～30 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含み、V L は、それぞれ、配列番号 4～6 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含む。

【0015】

いくつかの実施形態において、C h o t h i a の付番スキームに従い、V H は、それぞれ、配列番号 31～33 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含み、V L は、それぞれ、配列番号 4～6 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含む。

20

【0016】

いくつかの実施形態において、C h o t h i a の付番スキームに従い、V H は、それぞれ、配列番号 34～36 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含み、V L は、それぞれ、配列番号 4～6 に示されるアミノ酸配列を有する C D R 1、2、3 を含む。

【0017】

いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、ヒト H E R 2 又はイヌ H E R 2 に特異的に結合する。

【0018】

いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、ヒト又はヒト化抗体或いはその抗原結合断片である。

30

【0019】

いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、一本鎖可変断片 (s c F v) である。

【0020】

一態様では、本開示は、

選択された重鎖可変領域 (V H) 配列と少なくとも 80%、85%、90%、95%、又は 100% 同一であるアミノ酸配列を含む V H と、選択された軽鎖可変領域 (V L) 配列と少なくとも 80%、85%、90%、95%、又は 100% 同一であるアミノ酸配列を含む V L と、を含み、上記選択された V H 配列及び上記選択された V L 配列は、以下：

40

(1) 上記選択された V H 配列は配列番号 38 であり、上記選択された V L 配列は配列番号 37 である；

(2) 上記選択された V H 配列は配列番号 39 であり、上記選択された V L 配列は配列番号 37 である；

(3) 上記選択された V H 配列は配列番号 40 であり、上記選択された V L 配列は配列番号 37 である；

(4) 上記選択された V H 配列は配列番号 41 であり、上記選択された V L 配列は配列番号 37 である；

(5) 上記選択された V H 配列は配列番号 42 であり、上記選択された V L 配列は配列番号

50

号 37 である；

のうちの 1 つである、HER2 に結合する抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0021】

いくつかの実施形態において、VH は配列番号 38 の配列を含み、VL は配列番号 37 の配列を含む。

【0022】

いくつかの実施形態において、VH は配列番号 39 の配列を含み、VL は配列番号 37 の配列を含む。

【0023】

いくつかの実施形態において、VH は配列番号 40 の配列を含み、VL は配列番号 37 の配列を含む。

【0024】

いくつかの実施形態において、VH は配列番号 41 の配列を含み、VL は配列番号 37 の配列を含む。

【0025】

いくつかの実施形態において、VH は配列番号 42 の配列を含み、VL は配列番号 37 の配列を含む。

【0026】

いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、ヒトHER2 又はイヌHER2 に特異的に結合する。

【0027】

いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、ヒト又はヒト化抗体或いはその抗原結合断片である。

【0028】

いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、一本鎖可変断片 (scFv) である。

【0029】

一態様では、本開示は、本明細書に記載する抗体又はその抗原結合断片と交差競合する、抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0030】

一態様では、本開示は、
選択された重鎖可変領域 (VH) 配列の VH CDR1、VH CDR2、及び VH CDR3 と同一の VH CDR1、VH CDR2、及び VH CDR3 を含む VH、並びに
選択された軽鎖可変領域 (VL) 配列の VL CDR1、VL CDR2、及び VL CDR3 と同一の VL CDR1、VL CDR2、及び VL CDR3 を含む VL を含み、
上記選択された VH 配列及び上記選択された VL 配列は、以下：

(1) 上記選択された VH 配列は配列番号 38 であり、上記選択された VL 配列は配列番号 37 である；

(2) 上記選択された VH 配列は配列番号 39 であり、上記選択された VL 配列は配列番号 37 である；

(3) 上記選択された VH 配列は配列番号 40 であり、上記選択された VL 配列は配列番号 37 である；

(4) 上記選択された VH 配列は配列番号 41 であり、上記選択された VL 配列は配列番号 37 である；

(5) 上記選択された VH 配列は配列番号 42 であり、上記選択された VL 配列は配列番号 37 である；

のうちの 1 つである、HER2 に結合する抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0031】

いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、二重特異性又は多重特異性抗体或いはその抗原結合断片である。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 2 】

いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は更に、TROP2に特異的に結合する。

【 0 0 3 3 】

一態様では、本開示は、

(1) それぞれ、配列番号7～9に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域(CDR)1、2、及び3を含む重鎖可変領域(VH)を含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、上記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)と対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

(2) それぞれ、配列番号10～12に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、上記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

(3) それぞれ、配列番号13～15に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、上記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

(4) それぞれ、配列番号16～18に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、上記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

(5) それぞれ、配列番号19～21に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、上記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

(6) それぞれ、配列番号22～24に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、上記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

(7) それぞれ、配列番号25～27に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、上記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

(8) それぞれ、配列番号28～30に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、上記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

(9) それぞれ、配列番号31～33に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、上記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

(10) それぞれ、配列番号34～36に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、上記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

(11) それぞれ、配列番号1～3に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域(CDR)1、2、及び3を含む軽鎖可変領域(VL)を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、上記VLは、配列番号38に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

(12) それぞれ、配列番号1～3に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域(CD

10

20

30

40

50

R) 1、2、及び3を含む軽鎖可変領域(VL)を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、上記VLは、配列番号39に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

(13) それぞれ、配列番号1~3に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域(CDR)1、2、及び3を含む軽鎖可変領域(VL)を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、上記VLは、配列番号40に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

(14) それぞれ、配列番号1~3に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域(CDR)1、2、及び3を含む軽鎖可変領域(VL)を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、上記VLは、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

(15) それぞれ、配列番号1~3に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域(CDR)1、2、及び3を含む軽鎖可変領域(VL)を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、上記VLは、配列番号42に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

(16) それぞれ、配列番号4~6に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域(CDR)1、2、及び3を含む軽鎖可変領域(VL)を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、上記VLは、配列番号38に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

(17) それぞれ、配列番号4~6に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域(CDR)1、2、及び3を含む軽鎖可変領域(VL)を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、上記VLは、配列番号39に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

(18) それぞれ、配列番号4~6に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域(CDR)1、2、及び3を含む軽鎖可変領域(VL)を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、上記VLは、配列番号40に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

(19) それぞれ、配列番号4~6に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域(CDR)1、2、及び3を含む軽鎖可変領域(VL)を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、上記VLは、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、或いは

(20) それぞれ、配列番号4~6に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域(CDR)1、2、及び3を含む軽鎖可変領域(VL)を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、上記VLは、配列番号42に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)と対形成する際に、HER2に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む核酸に関する。

【0034】

いくつかの実施形態において、VHは、VLと対形成する際に、ヒトHER2又はイヌHER2に特異的に結合する。

【0035】

いくつかの実施形態において、免疫グロブリン重鎖又はその断片は、ヒト又はヒト化免疫グロブリン重鎖或いはその断片である。

【0036】

いくつかの実施形態において、核酸は、一本鎖可変断片(scFv)をコードする。

【0037】

いくつかの実施形態において、核酸はcDNAである。

【0038】

一態様では、本開示は、

相補性決定領域(CDR)1、2、及び3を含む重鎖可変領域(VH)であって、上記VH CDR1領域は、選択されたVH CDR1アミノ酸配列と少なくとも80%、85

10

20

30

40

50

%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含み、上記VH CDR2領域は、選択されたVH CDR2アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含み、上記VH CDR3領域は、選択されたVH CDR3アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含む、上記重鎖可変領域と、

CDR1、2、及び3を含む軽鎖可変領域（VL）であって、上記VL CDR1領域は、選択されたVL CDR1アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含み、上記VL CDR2領域は、選択されたVL CDR2アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含み、上記VL CDR3領域は、選択されたVL CDR3アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含む、上記軽鎖可変領域と、を含み、

上記選択されたVH CDR1、2、及び3アミノ酸配列、並びに、上記選択されたVL CDR1、2、及び3アミノ酸配列は、以下：

（1）上記選択されたVH CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号43～45に示され、上記選択されたVL CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号1～3に示される；

（2）上記選択されたVH CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号46～48に示され、上記選択されたVL CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号1～3に示される；

（3）上記選択されたVH CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号49～51に示され、上記選択されたVL CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号1～3に示される；

（4）上記選択されたVH CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号52～54に示され、上記選択されたVL CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号4～6に示される；

（5）上記選択されたVH CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号55～57に示され、上記選択されたVL CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号4～6に示される；

（6）上記選択されたVH CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号58～60に示され、上記選択されたVL CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号4～6に示される、

TROP2（栄養芽細胞表面抗原2）に結合する抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0039】

いくつかの実施形態において、Kabatの付番スキームに従い、VHは、それぞれ、配列番号43～45に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含み、VLは、それぞれ、配列番号1～3に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含む。

【0040】

いくつかの実施形態において、Kabatの付番スキームに従い、VHは、それぞれ、配列番号46～48に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含み、VLは、それぞれ、配列番号1～3に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含む。

【0041】

いくつかの実施形態において、Kabatの付番スキームに従い、VHは、それぞれ、配列番号49～51に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含み、VLは、それぞれ、配列番号1～3に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含む。

【0042】

いくつかの実施形態において、Chothiaの付番スキームに従い、VHは、それぞれ、配列番号52～54に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含み、VLは、それぞれ、配列番号4～6に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含む。

。

10

20

30

40

50

【0043】

いくつかの実施形態において、Chothiaの付番スキームに従い、VHは、それぞれ、配列番号55～57に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含み、VLは、それぞれ、配列番号4～6に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含む。

【0044】

いくつかの実施形態において、Chothiaの付番スキームに従い、VHは、それぞれ、配列番号58～60に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含み、VLは、それぞれ、配列番号4～6に示されるアミノ酸配列を有するCDR1、2、3を含む。

10

【0045】

いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、ヒトTROP2又はイヌTROP2に特異的に結合する。

【0046】

いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、ヒト又はヒト化抗体或いはその抗原結合断片である。

【0047】

いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、一本鎖可変断片（scFv）である。

【0048】

一態様では、本開示は、選択された重鎖可変領域（VH）配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含むVHと、選択された軽鎖可変領域（VL）配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含むVLと、を含み、上記選択されたVH配列及び上記選択されたVL配列は、以下：

20

（1）上記選択されたVH配列は配列番号61であり、上記選択されたVL配列は配列番号37である；

（2）上記選択されたVH配列は配列番号62であり、上記選択されたVL配列は配列番号37である；

（3）上記選択されたVH配列は配列番号63であり、上記選択されたVL配列は配列番号37である；

30

のうちの1つである、TROP2に結合する抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0049】

いくつかの実施形態において、VHは配列番号61の配列を含み、VLは配列番号37の配列を含む。

【0050】

いくつかの実施形態において、VHは配列番号62の配列を含み、VLは配列番号37の配列を含む。

【0051】

いくつかの実施形態において、VHは配列番号63の配列を含み、VLは配列番号37の配列を含む。

40

【0052】

いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、ヒトTROP2又はイヌTROP2に特異的に結合する。

【0053】

いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、ヒト又はヒト化抗体或いはその抗原結合断片である。

【0054】

いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、一本鎖可変断片（scFv）である。

50

【0055】

一態様では、本開示は、本明細書に記載する抗体又はその抗原結合断片と交差競合する、抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0056】

一態様では、本開示は、

選択された重鎖可変領域（VH）配列のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3と同一のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含むVH、並びに選択された軽鎖可変領域（VL）配列のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3と同一のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含むVLを含み、上記選択されたVH配列及び上記選択されたVL配列は、以下：

（1）上記選択されたVH配列は配列番号61であり、上記選択されたVL配列は配列番号37である；

（2）上記選択されたVH配列は配列番号62であり、上記選択されたVL配列は配列番号37である；

（3）上記選択されたVH配列は配列番号63であり、上記選択されたVL配列は配列番号37である；

のうちの1つである、TROP2に結合する抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0057】

いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、二重特異性又は多重特異性抗体或いはその抗原結合断片である。

【0058】

いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は更に、HER2に特異的に結合する。

【0059】

一態様では、本開示は、

（1）それぞれ、配列番号43～45に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（CDR）1、2、及び3を含む重鎖可変領域（VH）を含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、上記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（VL）と対形成する際に、TROP2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

（2）それぞれ、配列番号46～48に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、上記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、TROP2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

（3）それぞれ、配列番号49～51に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、上記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、TROP2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、或いは

（4）それぞれ、配列番号52～54に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、上記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、TROP2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

（5）それぞれ、配列番号55～57に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、上記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、TROP2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

（6）それぞれ、配列番号58～60に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、2、及び3を含むVHを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、上記VHは、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むVLと対形成する際に、TROP2に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

（7）それぞれ、配列番号1～3に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（CDR

10

20

30

40

50

）１、２、及び３を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、上記ＶＬは、配列番号６１に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（ＶＨ）と対形成する際に、ＴＲＯＰ２に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

（８）それぞれ、配列番号１～３に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、上記ＶＬは、配列番号６２に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（ＶＨ）と対形成する際に、ＴＲＯＰ２に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

（９）それぞれ、配列番号１～３に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、上記ＶＬは、配列番号６３に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（ＶＨ）と対形成する際に、ＴＲＯＰ２に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

（１０）それぞれ、配列番号４～６に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、上記ＶＬは、配列番号６１に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（ＶＨ）と対形成する際に、ＴＲＯＰ２に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

（１１）それぞれ、配列番号４～６に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、上記ＶＬは、配列番号６２に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（ＶＨ）と対形成する際に、ＴＲＯＰ２に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

（１２）それぞれ、配列番号４～６に示されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、上記ＶＬは、配列番号６３に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（ＶＨ）と対形成する際に、ＴＲＯＰ２に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む核酸に関する。

【００６０】

いくつかの実施形態において、ＶＨは、ＶＬと対形成する際に、ヒトＴＲＯＰ２又はイヌＴＲＯＰ２に特異的に結合する。

【００６１】

いくつかの実施形態において、免疫グロブリン重鎖又はその断片は、ヒト又はヒト化免疫グロブリン重鎖或いはその断片である。

【００６２】

いくつかの実施形態において、核酸は、一本鎖可変断片（ｓｃＦｖ）をコードする。

【００６３】

いくつかの実施形態において、核酸はｃＤＮＡである。

【００６４】

一態様では、本開示は、ＨＥＲ２に特異的に結合する第１の抗原結合ドメインと、ＴＲＯＰ２に特異的に結合する第２の抗原結合ドメインと、を含む抗原結合タンパク質構築物に関する。

【００６５】

いくつかの実施形態において、第１の抗原結合ドメインは、第１の重鎖可変領域（ＶＨ１）及び第１の軽鎖可変領域（ＶＬ１）を含み、第２の抗原結合ドメインは、第２の重鎖可変領域（ＶＨ２）及び第２の軽鎖可変領域（ＶＬ２）を含む。

【００６６】

いくつかの実施形態において、第１の重鎖可変領域（ＶＨ１）は、相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含み、ＶＨ１ ＣＤＲ１領域は、選択されたＶＨ１ ＣＤＲ１アミノ酸配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含み、ＶＨ１ ＣＤＲ２領域は、選択されたＶＨ１ ＣＤＲ２アミノ酸配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含み、ＶＨ１ ＣＤＲ３領域は、選択されたＶＨ１ ＣＤＲ３アミノ酸配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含み、かつ

第1の軽鎖可変領域（VL1）は、CDR1、2、及び3を含み、VL1 CDR1領域は、選択されたVL1 CDR1アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含み、VL1 CDR2領域は、選択されたVL1 CDR2アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含み、VL1 CDR3領域は、選択されたVL1 CDR3アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含み、

上記選択されたVH1 CDR1、2、及び3アミノ酸配列、並びに、上記選択されたVL1 CDR1、2、及び3アミノ酸配列は、以下：

（1）上記選択されたVH1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号7～9に示され、上記選択されたVL1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号1～3に示される；

（2）上記選択されたVH1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号10～12に示され、上記選択されたVL1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号1～3に示される；

（3）上記選択されたVH1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号13～15に示され、上記選択されたVL1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号1～3に示される；

（4）上記選択されたVH1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号16～18に示され、上記選択されたVL1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号1～3に示される；

（5）上記選択されたVH1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号19～21に示され、上記選択されたVL1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号1～3に示される；

（6）上記選択されたVH1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号22～24に示され、上記選択されたVL1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号4～6に示される；

（7）上記選択されたVH1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号25～27に示され、上記選択されたVL1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号4～6に示される；

（8）上記選択されたVH1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号28～30に示され、上記選択されたVL1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号4～6に示される；

（9）上記選択されたVH1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号31～33に示され、上記選択されたVL1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号4～6に示される；

（10）上記選択されたVH1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号34～36に示され、上記選択されたVL1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号4～6に示される；

のうちの1つである。

【0067】

いくつかの実施形態において、第2の重鎖可変領域（VH2）は、CDR1、2、及び3を含み、VL2 CDR1領域は、選択されたVL2 CDR1アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含み、VL2 CDR2領域は、選択されたVL2 CDR2アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含み、VH2 CDR3領域は、選択されたVH2 CDR3アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含み、かつ

第2の軽鎖可変領域（VL2）は、CDR1、2、及び3を含み、VL2 CDR1領域は、選択されたVL2 CDR1アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、9

10

20

30

40

50

5 %、又は100 %同一であるアミノ酸配列を含み、V L 2 C D R 2 領域は、選択されたV L 2 C D R 2 アミノ酸配列と少なくとも80 %、85 %、90 %、95 %、又は100 %同一であるアミノ酸配列を含み、V L 2 C D R 3 領域は、選択されたV L 2 C D R 3 アミノ酸配列と少なくとも80 %、85 %、90 %、95 %、又は100 %同一であるアミノ酸配列を含み、上記選択されたV H 2 C D R 1、2、及び3アミノ酸配列、並びに、上記選択されたV L 2 C D R 1、2、及び3アミノ酸配列は、以下：

(1) 上記選択されたV H 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号43～45に示され、上記選択されたV L 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号1～3に示される；

(2) 上記選択されたV H 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号46～48に示され、上記選択されたV L 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号1～3に示される；

(3) 上記選択されたV H 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号49～51に示され、上記選択されたV L 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号1～3に示される；

(4) 上記選択されたV H 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号52～54に示され、上記選択されたV L 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号4～6に示される；

(5) 上記選択されたV H 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号55～57に示され、上記選択されたV L 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号4～6に示される；

(6) 上記選択されたV H 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号58～60に示され、上記選択されたV L 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号4～6に示される；

のうちの1つである。

【0068】

いくつかの実施形態において、

(1) 選択されたV H 1 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号10～12に示され、選択されたV L 1 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示され、選択されたV H 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号49～51に示され、選択されたV L 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示される；

(2) 選択されたV H 1 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号19～21に示され、選択されたV L 1 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示され、選択されたV H 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号49～51に示され、選択されたV L 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示される；

(3) 選択されたV H 1 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号7～9に示され、選択されたV L 1 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示され、選択されたV H 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号49～51に示され、選択されたV L 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示される；

(4) 選択されたV H 1 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号7～9に示され、選択されたV L 1 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示され、選択されたV H 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号46～48に示され、選択されたV L 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示される；

(5) 選択されたV H 1 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号10～12に示され、選択されたV L 1 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示され、選択されたV H 2 C D R 1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号46～

10

20

30

40

50

(15) 選択されたVH1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号16～18に示され、選択されたVL1 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1～3に示され、選択されたVH2 CDR1、2、3アミノ酸配列はそれぞれ配列番号43

50

【 0 0 6 9 】

【 0 0 7 0 】

【 0 0 7 1 】

【 0 0 7 2 】

【 0 0 7 3 】

【 0 0 7 4 】

【 0 0 7 5 】

いくつかの実施形態において、第1の重鎖可変領域は、配列番号38と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一である配列を含み、第1の軽鎖可変領域は、配列番号37と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一である配列を含み、第2の重鎖可変領域は、配列番号61と少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%同一である配列を含み、第2の軽鎖可変領域は、配列番号37

50

【0083】

いくつかの実施形態において、第1の重鎖可変領域は、配列番号41と少なくとも80%、85%、90%、又は95%同一である配列を含み、第1の軽鎖可変領域は、配列番号37と少なくとも80%、85%、90%、又は95%同一である配列を含み、第2の重鎖可変領域は、配列番号61と少なくとも80%、85%、90%、又は95%同一である配列を含み、第2の軽鎖可変領域は、配列番号37と少なくとも80%、85%、90%、又は95%同一である配列を含む。

【0084】

いくつかの実施形態において、抗原結合タンパク質構築物は二重特異性抗体である。

【0085】

いくつかの実施形態において、第1の軽鎖可変領域と第2の軽鎖可変領域は同一である。

【0086】

一態様では、本開示は、本明細書に記載する核酸の1つ以上を含むベクター、又は、本明細書に記載する抗体若しくはその抗原結合断片をコードする核酸、又は、本明細書に記載する抗原結合タンパク質構築物をコードする核酸に関する。

【0087】

一態様では、本開示は、本明細書に記載するベクターを含む細胞に関する。

【0088】

いくつかの実施形態において、細胞はCHO細胞である。

【0089】

一態様では、本開示は、本明細書に記載する核酸の1つ以上を含む細胞、又は、本明細書に記載する抗体若しくはその抗原結合断片をコードする核酸、又は、本明細書に記載する抗原結合タンパク質構築物をコードする核酸に関する。

【0090】

一態様では、本開示は、抗体若しくはその抗原結合断片、又は、抗原結合タンパク質構築物の産生方法であって、上記方法は、

(a) 本明細書に記載する細胞を、当該細胞が、抗体若しくは抗原結合断片、又は、抗原結合タンパク質構築物を産生するのに十分な条件下で培養することと、

(b) 細胞により産生した抗体若しくはその抗原結合断片、又は、抗原結合タンパク質構築物を収集することと、
を含む、方法に関する。

【0091】

一態様では、本開示は、

(a) 本明細書に記載する抗体若しくはその抗原結合断片；又は

(b) 本明細書に記載する抗原結合タンパク質構築物

に共有結合する治療剤を含む抗体薬物コンジュゲートに関する。

【0092】

いくつかの実施形態において、治療剤は、細胞毒性剤又は細胞増殖抑制剤である。

【0093】

いくつかの実施形態において、治療剤は、MMAE又はMMAFである。

【0094】

一態様では、本開示は、癌を有する対象の治療方法であって、上記方法は、治療に有効な量の、本明細書に記載する抗体若しくはその抗原結合断片を含む組成物、本明細書に記載する抗原結合タンパク質構築物、又は、本明細書に記載する抗体薬物コンジュゲートを、上記対象に投与することを含む、上記方法に関する。

【0095】

いくつかの実施形態において、対象は、充実性腫瘍を患う。

【0096】

いくつかの実施形態において、癌は、甲状腺癌、尿路上皮癌、乳癌、結腸直腸癌、腎癌

10

20

30

40

50

、子宮頸癌、卵巣癌、肺癌、子宮体癌、皮膚癌、胃癌、膵癌、前立腺癌、肝癌、リンパ腫、又は神経膠腫である。

【0097】

いくつかの実施形態において、癌は、子宮頸癌、前立腺癌、甲状腺癌、尿路上皮癌、頭頸癌、子宮体癌、卵巣癌、肺癌、乳癌、カルチノイド、皮膚癌、肝癌、又は精巣癌である。

【0098】

いくつかの実施形態において、癌は、多発性骨髄腫又は腎癌である。

【0099】

いくつかの実施形態において、対象はヒトである。

10

【0100】

いくつかの実施形態において、対象は非ヒト動物である。

【0101】

一態様では、本開示は、腫瘍増殖速度を低減する方法であって、上記方法は、腫瘍細胞を、有効量の、本明細書に記載する抗体若しくはその抗原結合断片を含む組成物、本明細書に記載する抗原結合タンパク質構築物、又は、本明細書に記載する抗体薬物コンジュゲートと接触させることを含む、方法に関する。

【0102】

一態様では、本開示は、腫瘍細胞の殺傷方法であって、上記方法は、腫瘍細胞を、有効量の、本明細書に記載する抗体若しくはその抗原結合断片を含む組成物、本明細書に記載する抗原結合タンパク質構築物、又は、本明細書に記載する抗体薬物コンジュゲートと接触させることを含む、方法に関する。

20

【0103】

一態様では、本開示は、薬学的に許容される担体と、

- (a) 本明細書に記載する抗体若しくはその抗原結合断片、
- (b) 本明細書に記載する抗原結合タンパク質構築物、又は
- (c) 本明細書に記載する抗体薬物コンジュゲート

と、を含む医薬組成物に関する。

【0104】

一態様では、本開示は、HER2に特異的に結合する第1の抗原結合ドメインと、TROP2に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインと、を含む抗原結合タンパク質構築物に関する。

30

【0105】

本明細書で使用する場合、「抗体」という用語は、少なくとも1つ（例えば、1、2、3、4、5、又は6つ）の相補性決定領域（CDR）（例えば、免疫グロブリン軽鎖由来の3つのCDRのいずれか、又は、免疫グロブリン重鎖由来の3つのCDRのいずれか）を含有し、エピトープに特異的に結合可能な、任意の抗原結合分子を意味する。抗体の非限定例としては、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異的抗体（二重特異的抗体）、一本鎖抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、及びヒト化抗体が挙げられる。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒト抗体のFc領域を含有することができる。抗体という用語は、誘導体、例えば、抗体断片から形成される、二重特異的抗体、一本鎖抗体、ダイアボディ、線状抗体、及び多重特異的抗体もまた含む。

40

【0106】

本明細書で使用する場合、「ヒト抗体」という用語は、ヒトに由来する内因性核酸（例えば、再配置されたヒト免疫グロブリン重鎖又は軽鎖座位）によりコードされる抗体を意味する。いくつかの実施形態において、ヒト抗体は、ヒトから回収されるか、又は、ヒト細胞培養液中（例えば、ヒトハイブリドーマ細胞内）で産生される。いくつかの実施形態において、ヒト抗体は、非ヒト細胞（例えば、マウス又はハムスター細胞株）内で産生される。いくつかの実施形態において、ヒト抗体は、細菌細胞又は酵母菌細胞内で産生される。いくつかの実施形態において、ヒト抗体は、再配列されていない、又は、再配列され

50

たヒト免疫グロブリン座位（例えば、重鎖又は軽鎖ヒト免疫グロブリン座位）を含有するトランスジェニック非ヒト動物（例えば、ウシ）で産生される。

【0107】

本明細書で使用する場合、「キメラ抗体」という用語は、少なくとも2つの異なる種に存在する配列を含有する抗体（例えば、ヒト及びマウス抗体など、2つの異なる哺乳動物種由来の抗体）を意味する。キメラ抗体の非限定例は、非ヒト（例えば、マウス）抗体の、可変ドメイン配列（例えば、軽鎖及び／又は重鎖可変ドメイン配列の全て又は一部）、並びに、ヒト抗体の定常ドメインを含有する抗体である。キメラ抗体の更なる例は、本明細書に記載され、当該技術分野において周知である。

【0108】

本明細書で使用する場合、「ヒト化抗体」という用語は、非ヒト（例えば、マウス）免疫グロブリンに由来する最小配列を含有し、かつ、ヒト免疫グロブリンに由来する配列を含有する、非ヒト抗体を意味する。非限定例では、ヒト化抗体は、レシピエント抗体の超可変（例えば、CDR）領域の残基が、非ヒト抗体（例えば、ドナー抗体）、例えば、所望の特異性、親和性、及び能力を有する、マウス、ラット、又はウサギ抗体の超可変（例えば、CDR）領域の残基により置き換えられている、ヒト抗体（レシピエント抗体）である。いくつかの実施形態において、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク残基は、対応する非ヒト（例えば、マウス）免疫グロブリン残基により置き換えられている。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、レシピエント抗体、又はドナー抗体にて発見されない残基を含有することができる。これらの修飾を行うことによって、抗体の性能を更に洗練することができる。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、ほぼ全ての少なくとも1つ、及び、典型的には2つの可変ドメインを含有し、超可変ループ（CDR）の全て又は実質的に全てが、非ヒト（例えば、マウス）免疫グロブリンの超可変ループに対応し、フレームワーク領域の全て又は実質的に全てが、ヒト免疫グロブリン配列のものである。ヒト化抗体は、免疫グロブリン定常領域（Fc）、典型的には、ヒト免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部分もまた含有することができる。ヒト化抗体は、当該技術分野において周知の分子生物学法を用いて産生することができる。ヒト化抗体を生成する方法の非限定例は、本明細書に記載される。

【0109】

本明細書で使用する場合、「抗原結合タンパク質構築物」という用語は、（i）少なくとも1つの抗原結合ドメインを含む単一のポリペプチド、又は、（ii）少なくとも1つ以上の異なる抗原結合ドメインを共に形成する、2つ以上のポリペプチド（例えば、同一若しくは異なるポリペプチド）の複合体である。抗原結合タンパク質構築物の非限定例及び態様を、本明細書に記載する。抗原結合タンパク質構築物の更なる例及び態様は、当該技術分野において周知である。いくつかの実施形態において、抗原結合タンパク質構築物は、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、又は9個以上の抗原結合ドメインを有する。

【0110】

本明細書で使用する場合、「抗原結合ドメイン」という用語は、（例えば、単一のポリペプチドに由来するアミノ酸から形成される、又は、1つ以上の異なる抗原に特異的に結合可能な、2つ以上のポリペプチド（例えば、同一又は異なるポリペプチド）由来のアミノ酸から形成される）1つ以上のタンパク質ドメインを意味する。いくつかの例では、抗原結合ドメインは、自然に存在する抗体の特異性及び親和性と同様の特異性及び親和性で、抗原又はエпитープに結合することができる。いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、抗体又はその断片であることができる。抗原結合ドメインの一例は、VH-VL二量体により形成される抗原結合ドメインである。いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインはVHHである。抗原結合ドメインの非限定例を、本明細書に記載する。抗原結合ドメインの更なる例は、当該技術分野において周知である。いくつかの実施例では、抗原結合ドメインは単一の抗原に結合することができる。

【0111】

本明細書で使用する場合、「二重特異性抗体」という用語は、2つの異なるエピトープに結合する抗体を意味する。エピトープは、同一の抗原上、又は、異なる抗原上に存在することができる。

【0112】

本明細書で使用する場合、「多重特異性抗体」という用語は、2つ以上の異なるエピトープに結合する抗体を意味する。エピトープは、同一の抗原上、又は、異なる抗原上に存在することができる。

【0113】

本明細書で使用する場合、「VHH」とは、重鎖抗体の可変ドメインを意味する。いくつかの実施形態において、VHHはヒト化VHHである。

【0114】

本明細書で使用する場合、「共通の軽鎖」という用語は、異なる抗原結合ドメインを形成する、2つ以上の異なる重鎖と相互作用可能な1本の軽鎖を意味し、これらの異なる抗原結合ドメインは、異なる抗原又はエピトープに特異的に結合することができる。同様に「共通の軽鎖可変領域」という用語は、異なる抗原結合ドメインを形成する、2つ以上の異なる重鎖可変領域と相互作用可能な1つの軽鎖可変領域を意味し、これらの異なる抗原結合ドメインは、異なる抗原又はエピトープに特異的に結合することができる。いくつかの実施形態において、抗原結合構築物は、共通の軽鎖を有することができる。いくつかの実施形態において、抗原結合構築物は、共通の軽鎖可変領域を有することができる。

【0115】

本明細書で使用する場合、抗体を言及する際に、「特異的に結合」、及び「特異的に結合する」という語句は、相互作用が、標的分子に特定の構造（即ち、抗原決定基又はエピトープ）が存在することに依存するために、換言すれば、試薬が、一般的に、全分子よりも、特定の構造を含む分子を認識し、これに結合するために、抗体が、好ましくは他の分子よりも、その標的分子（例えば、HER2）と相互作用することを意味する。標的分子に特異的に結合する抗体は、標的特異的抗体と呼ばれることも可能である。例えば、HER2分子に特異的に結合する抗体は、HER2特異的抗体、又は、抗HER2抗体と呼ばれることも可能である。

【0116】

別段の定義がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本発明で使用するための方法及び材料が、本明細書に記載される；他の好適な、当該技術分野において既知の方法及び材料もまた使用することができる。材料、方法、及び例は、例示に過ぎず、限定的であることは意図されない。本明細書で言及される全ての刊行物、特許出願、特許、配列、データベースエントリ、及び他の参考文献は、参照によりその全体が援用される。矛盾する場合には、定義を含めて本明細書が優先する。

【0117】

本発明の他の特徴及び利点は、以下の詳細な説明及び図面、並びに特許請求の範囲から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0118】

【図1】例示的な抗HER2／TROP2二重特異性抗体の構造を示す概要図である。

【図2】NCI-N87細胞内での、精製抗体のエンドサイトーシス結果を示す。

【図3】NCI-N87細胞内での、精製抗体のエンドサイトーシス結果を示す。

【図4】NCI-H292細胞での、精製抗体のエンドサイトーシス結果を示す。

【図5】NCI-H292細胞での、精製抗体のエンドサイトーシス結果を示す。

【図6】抗HER2／TROP2二重特異性抗体H-1H2-T-6F7、H-2B2-T-6F7、T-6F7-H-1H2、及びH-3C8-T-6F7の、加速した安定性を示す。ND：未検出。凍結1：凍結解凍1回；凍結10：凍結解凍を10回反復。

【図7】肺腺癌細胞を注射し、様々な抗体薬物コンジュゲート（ADC）で治療したマウ

10

20

30

40

50

スの、様々な群における平均腫瘍体積を示すグラフである。

【図 8】 K a b a t の付番により定義される、抗 H E R 2 抗体 H - 1 H 2、H - 2 B 2、H - 3 E 5、H - 3 C 6、及び H - 3 C 8 の C D R 配列を列挙する。

【図 9】 C h o t h i a の付番により定義される、抗 H E R 2 抗体 H - 1 H 2、H - 2 B 2、H - 3 E 5、H - 3 C 6、及び H - 3 C 8 の C D R 配列を列挙する。

【図 10】 抗 H E R 2 抗体の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のアミノ酸配列を列挙する。

【図 11】 K a b a t の付番により定義される、抗 T R O P 2 抗体 T - 3 A 4、T - 4 B 9、T - 4 C 1 2、T - 5 C 8、及び T - 6 F 7 の C D R 配列を列挙する。

【図 12】 C h o t h i a の付番により定義される、抗 T R O P 2 抗体 T - 3 A 4、T - 4 B 9、T - 4 C 1 2、T - 5 C 8、及び T - 6 F 7 の C D R 配列を列挙する。

【図 13】 抗 T R O P 2 抗体の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のアミノ酸配列を列挙する。

【図 14 - 1】 本開示に記載するアミノ酸配列を列挙する。

【図 14 - 2】 本開示に記載するアミノ酸配列を列挙する。

【図 14 - 3】 本開示に記載するアミノ酸配列を列挙する。

【図 14 - 4】 本開示に記載するアミノ酸配列を列挙する。

【図 14 - 5】 本開示に記載するアミノ酸配列を列挙する。

【図 15】 肺腺癌細胞を注射し、P B S、M M A E、H - 2 B 2 - T - 6 F 7、又は H - 2 B 2 - T - 6 F 7 - A D C で治療したマウスの、様々な群における平均腫瘍体積を示すグラフである。

【図 16】 肺腺癌細胞を注射し、P B S、H - 2 B 2 - T - 6 F 7 - A D C、サシツズマブゴビテカン類似体、ジシタマブベドチン、又はトラスツズマブデルクステカンで治療したマウスの、様々な群における平均腫瘍体積を示すグラフである。

【図 17】 卵巣癌細胞を注射し、P B S、アイソタイプコントロール - A D C、H - 2 B 2 - T - 6 F 7 - A D C、H - 2 B 2 - I g G 1 - A D C、T - 6 F 7 - I g G 1 - S I - A D C、トラスツズマブデルクステカン類似体、又は D S - 1 0 6 2 類似体で治療したマウスの、様々な群における平均腫瘍体積を示すグラフである。

【図 18】 乳癌細胞を注射し、P B S、アイソタイプコントロール - A D C、H - 2 B 2 - T - 6 F 7 - A D C、H - 2 B 2 - I g G 1 - A D C、T - 6 F 7 - I g G 1 - S I - A D C、サシツズマブゴビテカン類似体、ジシタマブベドチン、又はトラスツズマブデルクステカンで治療したマウスの、様々な群における平均腫瘍体積を示すグラフである。

【図 19】 患者由来の膵臓腫瘍断片を注射し、5 m g / k g の P B S、H - 2 B 2 - T - 6 F 7 - A D C、T - 6 F 7 - I g G 1 - S I - A D C、サシツズマブゴビテカン類似体、ジシタマブベドチン、又はトラスツズマブデルクステカンで治療したマウスの、様々な群における平均腫瘍体積を示すグラフである。

【図 20】 患者由来の膵臓腫瘍断片を注射し、3 m g / k g の P B S、H - 2 B 2 - T - 6 F 7 - A D C、T - 6 F 7 - I g G 1 - S I - A D C、サシツズマブゴビテカン類似体、ジシタマブベドチン、又はトラスツズマブデルクステカンで治療したマウスの、様々な群における平均腫瘍体積を示すグラフである。

【図 21 A】 生理食塩水又は H - 2 B 2 - T - 6 F 7 - A D C を投与したマウスの、様々な群における平均体重を示すグラフである。

【図 21 B】 生理食塩水又は H - 2 B 2 - T - 6 F 7 - A D C を投与したマウスの、様々な群における平均体重変化を示すグラフである。

【図 22】 患者由来の結腸腫瘍断片を注射し、P B S、6 m g / k g の H - 2 B 2 - T - 6 F 7 - A D C、1 0 m g / k g のサシツズマブゴビテカン類似体、6 m g / k g のジシタマブベドチン、又は、6 m g / k g のトラスツズマブデルクステカンで治療したマウスの、様々な群における平均腫瘍体積を示すグラフである。

【図 23】 患者由来の肺腫瘍断片を注射し、P B S、3 m g / k g 若しくは 6 m g / k g の H - 2 B 2 - T - 6 F 7 - A D C、3 m g / k g の H - 2 B 2 - I g G 1 - A D C、3 m g / k g の T - 6 F 7 - I g G 1 - S I - A D C、1 0 m g / k g のサシツズマブゴビ

10

20

30

40

50

テクン類似体、6 mg / kg のジシタマブベドチン、又は、6 mg / kg のトラスツズマブデルクステカンで治療したマウスの、様々な群における平均腫瘍体積を示すグラフである。

【図 2 4】患者由来の胃腫瘍断片を注射し、PBS、3 mg / kg 若しくは 6 mg / kg の H-2 B2-T-6 F7-ADC、10 mg / kg のサシツズマブゴビテクン類似体、6 mg / kg のジシタマブベドチン、又は、6 mg / kg のトラスツズマブデルクステカンで治療したマウスの、様々な群における平均腫瘍体積を示すグラフである。

【図 2 5】本開示の H-2 B2-T-6 F7-ADC に対する血漿安定性試験の結果を示す。

【発明を実施するための形態】

10

【0119】

抗体又はその抗原結合断片は、（例えば、2つの異なる抗原上の）2つの異なるエピトープに同時に結合可能な、1つの人工タンパク質である。いくつかの実施形態において、二重特異性抗体又はその抗原結合断片は、2つのアーム（アーム A 及び B）を有することができる。各アームは、重鎖可変領域を 1 つ、及び、軽鎖可変領域を 1 つ有し、抗原結合ドメイン（又は、抗原結合領域）を形成する。いくつかの実施形態において、二重特異性抗体は共通の軽鎖を有する。

【0120】

本開示は、抗 HER2 抗体又はその抗原結合断片、抗 TROP2 抗体又はその抗原結合断片、2つの異なる抗原（例えば、HER2 及び TROP2）に特異的に結合する、抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体又はその抗原結合断片）、及び、抗体薬物コンジュゲートに関する。

20

【0121】

抗 HER2 抗体及び抗原結合断片

ヒト上皮成長因子受容体 2（HER2）（ERBB2 としても知られている）は、受容体タンパク質チロシンキナーゼの上皮成長因子受容体サブファミリーに属する膜貫通受容体である。

【0122】

HER2 は、乳癌及び胃癌などの、様々な癌の種類で過剰発現し、乳癌における、負の予後因子であることが報告されている。HER2 過剰発現癌に対して効果的な抗 HER2 薬剤である、トラスツズマブ、トラスツズマブエムタンシン、ペルツズマブ、ラパチニブなどが既知である。

30

【0123】

本開示は、HER2 に特異的に結合する、いくつかの抗体及びその抗原結合断片を提供する。いくつかの実施形態において、抗 HER2 / TROP2 抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）は、これらの抗体に由来する抗原結合領域を含むことができる。

【0124】

本明細書に記載する抗体及び抗原結合断片は、HER2 に結合可能である。本開示は、例えば、抗 HER2 抗体 H-1 H2（「1 H2」）、H-2 B2（「2 B2」）、H-3 E5（「3 E5」）、H-3 C6（「3 C6」）、H-3 C8（「3 C8」）、及び、これらに由来する抗体を提供する。

40

【0125】

1 H2、及び 1 H2 由来の抗体（例えば、ヒト化抗体）に対する CDR 配列としては、Kabat の付番により定義される、重鎖可変ドメインの CDR、配列番号 7 ~ 9、及び、軽鎖可変ドメインの CDR、配列番号 1 ~ 3 が挙げられる。CDR は、Chothia システムによってもまた定義することができる。Chothia の付番によると、重鎖可変ドメインの CDR 配列は、配列番号 22 ~ 24 に示され、軽鎖可変ドメインの CDR 配列は、配列番号 4 ~ 6 に示される。

【0126】

50

同様に、2 B 2、及び2 B 2由来の抗体に対するCDR配列としては、Kabatの付番により定義される、重鎖可変ドメインのCDR、配列番号10～12、及び、軽鎖可変ドメインのCDR、配列番号1～3が挙げられる。Chothiaの付番によると、重鎖可変ドメインのCDR配列は、配列番号25～27に示され、軽鎖可変ドメインのCDRは、配列番号4～6に示される。

【0127】

3 E 5、及び3 E 5由来の抗体に対するCDR配列としては、Kabatの付番により定義される、重鎖可変ドメインのCDR、配列番号13～15、及び、軽鎖可変ドメインのCDR、配列番号1～3が挙げられる。Chothiaの付番によると、重鎖可変ドメインのCDR配列は、配列番号28～30に示され、軽鎖可変ドメインのCDRは、配列番号4～6に示される。

10

【0128】

3 C 6、及び3 C 6由来の抗体に対するCDR配列としては、Kabatの付番により定義される、重鎖可変ドメインのCDR、配列番号16～18、及び、軽鎖可変ドメインのCDR、配列番号1～3が挙げられる。Chothiaの付番によると、重鎖可変ドメインのCDR配列は、配列番号31～33に示され、軽鎖可変ドメインのCDRは、配列番号4～6に示される。

【0129】

3 C 8、及び3 C 8由来の抗体に対するCDR配列としては、Kabatの付番により定義される、重鎖可変ドメインのCDR、配列番号19～21、及び、軽鎖可変ドメインのCDR、配列番号1～3が挙げられる。Chothiaの付番によると、重鎖可変ドメインのCDR配列は、配列番号34～36に示され、軽鎖可変ドメインのCDRは、配列番号4～6に示される。

20

【0130】

さらに、いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又はその抗原結合断片は、配列番号7～9、配列番号10～12、配列番号13～15、配列番号16～18、配列番号19～21、配列番号22～24、配列番号25～27、配列番号28～30、配列番号31～33、及び配列番号34～36からなる群から選択される1、2、若しくは3つの重鎖可変領域CDR；並びに／又は、配列番号1～3、及び配列番号4～6からなる群から選択される1、2、若しくは3つの軽鎖可変領域CDRもまた含有することができる。

30

【0131】

いくつかの実施形態において、抗体は、相補性決定領域（CDR）1、2、3を含む重鎖可変領域（VH）であって、上記CDR1領域は、選択されたVH CDR1アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、又は95%同一であるアミノ酸配列を含み、又はそれからなり、上記CDR2領域は、選択されたVH CDR2アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、又は95%同一であるアミノ酸配列を含み、又はそれからなり、上記CDR3領域は、選択されたVH CDR3アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、又は95%同一であるアミノ酸配列を含む、又はそれからなる、重鎖可変領域（VH）、及び、CDR1、2、3を含む軽鎖可変領域（VL）であって、上記CDR1領域は、選択されたVL CDR1アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、又は95%同一であるアミノ酸配列を含み、又はそれからなり、上記CDR2領域は、選択されたVL CDR2アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、又は95%同一であるアミノ酸配列を含み、又はそれからなり、上記CDR3領域は、選択されたVL CDR3アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、又は95%同一であるアミノ酸配列を含む、又はそれからなる、軽鎖可変領域（VL）を有することができる。選択されたVH CDR1、2、3アミノ酸配列、及び、選択されたVL CDR1、2、3アミノ酸配列は、図8（KabatのCDR）、及び、図9（ChothiaのCDR）に示される。

40

【0132】

50

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号7、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号8、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号9のCDRの、1つ、2つ、又は3つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

【0133】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号10、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号11、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号12のCDRの、1つ、2つ、又は3つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

10

【0134】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号13、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号14、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号15のCDRの、1つ、2つ、又は3つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

【0135】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号16、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号17、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号18のCDRの、1つ、2つ、又は3つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

20

【0136】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号19、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号20、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号21のCDRの、1つ、2つ、又は3つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

【0137】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号22、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号23、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号24のCDRの、1つ、2つ、又は3つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

30

【0138】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号25、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号26、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号27のCDRの、1つ、2つ、又は3つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

40

【0139】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号28、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号29、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号30のCDRの、1つ、2つ、又は3つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

【0140】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号31、0、1又は2個のアミノ

50

酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 32、0、1 又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 33 の CDR の、1 つ、2 つ、又は 3 つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

【0141】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1 又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 34、0、1 又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 35、0、1 又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 36 の CDR の、1 つ、2 つ、又は 3 つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

【0142】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1 又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 1、0、1 又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 2、0、1 又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 3 の CDR の、1 つ、2 つ、又は 3 つを含有する軽鎖可変ドメインを含有することができる。

【0143】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1 又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 4、0、1 又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 5、0、1 又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 6 の CDR の、1 つ、2 つ、又は 3 つを含有する軽鎖可変ドメインを含有することができる。

【0144】

挿入、欠失、及び置換は、CDR 配列内、又は、CDR 配列の片方若しくは両方の末端に存在することができる。

【0145】

本開示は、HER2 に結合する抗体又はその抗原結合断片もまた提供する。抗体又はその抗原結合断片は、選択された重鎖可変領域 (VH) 配列と少なくとも 80%、85%、90%、又は 95% 同一であるアミノ酸配列を含む、又はそれからなる VH、及び、選択された軽鎖可変領域 (VL) 配列と少なくとも 80%、85%、90%、又は 95% 同一であるアミノ酸配列を含む、又はそれからなる VL を含有する。いくつかの実施形態において、選択された VH 配列は配列番号 38、39、40、41、又は 42 であり、選択された VL 配列は配列番号 37 である。

【0146】

いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、本明細書に記載する任意の VH 配列の CDR と同一の、3 つの VH CDR を有することができる。いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、本明細書に記載する任意の VL 配列の CDR と同一の、3 つの VL CDR を有することができる。

【0147】

本開示は、免疫グロブリン重鎖又は免疫グロブリン軽鎖を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む核酸もまた提供する。免疫グロブリン重鎖又は免疫グロブリン軽鎖は、図 8 若しくは図 9 に示される CDR を含むか、又は、図 10 に示される配列を有する。ポリペプチドが、対応するポリペプチド (例えば、対応する重鎖可変領域、又は、対応する軽鎖可変領域) と対形成される場合、対形成されるポリペプチドは、HER2 (例えば、ヒト HER2) に結合する。

【0148】

抗 HER2 抗体及び抗原結合断片はまた、抗体又は抗体断片の抗体変異体 (誘導体及びコンジュゲートを含む)、並びに、多重特異的 (例えば、二重特異的) 抗体又は抗体断片であることも可能である。本明細書により提供される追加の抗体は、ポリクローナル、モノクローナル、多重特異的 (多量体、例えば、二重特異的)、ヒト抗体、キメラ抗体 (例えば、ヒトマウスキメラ)、一本鎖抗体、細胞内で製造された抗体 (即ち、イントラボ

10

20

30

40

50

ディ)、及び、それらの抗原結合断片である。抗体又はその抗原結合断片は、任意のタイプ(例えばIgG、IgE、IgM、IgD、IgA、及びIgY)、クラス(例えばIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及びIgA2)又はサブクラスであることができる。いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、IgG抗体又はその抗原結合断片である。

【0149】

抗体の断片は、それらが、全長抗体の所望の親和性及び特異性を保持する限り、提供される方法での使用に好適である。したがって、HER2に結合する抗体の断片は、HER2に結合する能力を保持する。Fv断片は、完全な抗原認識及び結合部位を含有する、抗体断片である。この領域は、1個の重鎖可変ドメインと、1個の軽鎖可変ドメインが密接に会合した二量体で構成され、これは、本質的には、例えば、scFvにおいて、共有結合であることができる。この構成においては、各可変ドメインの3つのCDRが相互作用し、VH-VL二量体の表面上で、抗原結合部位を画定する。全体的に、6つのCDR又はそれらのサブセットはまとめて、抗体に対する抗原結合特異性を付与する。しかしながら、単一の可変ドメイン(又は、ある抗原に特異的なCDRを3つのみ含むFvの半分)でさえも、抗原を認識してそれに結合する能力を有することができるが、通常は、結合部位全体よりも親和性が低い。

【0150】

抗TROP2抗体及び抗原結合断片

腫瘍関連カルシウムシグナル伝達物質2(TACSTD2)としても知られている、栄養芽細胞表面抗原2(TROP2)は、TACSTD2遺伝子によりコードされ、発現される、細胞表面糖タンパク質である。これは、上皮接着分子Epcamと、構造配列が非常に類似している。TROP2は、腫瘍と密接に関係したタンパク質である。TROP2は、カルシウムイオンシグナル伝達経路、サイクリン発現を制御し、フィブロネクチン接着力を低下させることにより、腫瘍細胞の成長、増殖、及び転移を主に促進する。TROP2タンパク質は、乳癌、大腸癌、膀胱癌、胃癌、経口扁平上皮細胞癌、及び卵巣癌において非常に発現することが、研究によって発見されている。タンパク質は、腫瘍細胞増殖、浸潤、転移、拡散、及び他のプロセスを促進することができる。さらに、乳癌及び他の癌において、TROP2の高度な発現は、腫瘍のより攻撃的な疾患、及び、不十分な臨床予後と密接に関係していることもまた、発見されている。

【0151】

本開示は、TROP2に特異的に結合する抗体及びその抗原結合断片を提供する。抗HER2/TROP2抗原結合タンパク質構築物(例えば、二重特異性抗体)は、これらの抗体に由来する抗原結合領域を含むことができる。

【0152】

本明細書に記載する抗体及び抗原結合断片は、TROP2に結合可能である。本開示は、抗TROP2抗体T-3A4(「3A4」)、T-4B9(「4B9」)、及びT-6F7(「6F7」)、並びに、これらに由来する抗体を提供する。

【0153】

3A4、及び3A4由来の抗体(例えば、ヒト化抗体)に対するCDR配列としては、Kabattの付番により定義される、重鎖可変ドメインのCDR、配列番号43~45、及び、軽鎖可変ドメインのCDR、配列番号1~3が挙げられる。CDRは、Chothiaシステムによってもまた定義することができる。Chothiaの付番によると、重鎖可変ドメインのCDR配列は、配列番号52~54に示され、軽鎖可変ドメインのCDR配列は、配列番号4~6に示される。

【0154】

同様に、4B9、及び4B9由来の抗体に対するCDR配列としては、Kabattの付番により定義される、重鎖可変ドメインのCDR、配列番号46~48、及び、軽鎖可変ドメインのCDR、配列番号1~3が挙げられる。Chothiaの付番によると、重鎖可変ドメインのCDR配列は、配列番号55~57に示され、軽鎖可変ドメインのCDR

は、配列番号 4～6 に示される。

【0155】

6F7、及び 6F7 由来の抗体に対する CDR 配列としては、Kabat の付番により定義される、重鎖可変ドメインの CDR、配列番号 49～51、及び、軽鎖可変ドメインの CDR、配列番号 1～3 が挙げられる。Chothia の付番によると、重鎖可変ドメインの CDR 配列は、配列番号 58～60 に示され、軽鎖可変ドメインの CDR は、配列番号 4～6 に示される。

【0156】

さらに、いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又はその抗原結合断片は、配列番号 43～45、配列番号 46～48、配列番号 49～51、配列番号 52～54、配列番号 55～57、配列番号 58～60 からなる群から選択される 1、2、若しくは 3 つの重鎖可変領域 CDR、及び／又は、配列番号 1～3、配列番号 4～6 からなる群から選択される 1、2、若しくは 3 つの軽鎖可変領域 CDR もまた含有することができる。

10

【0157】

いくつかの実施形態において、抗体は、相補性決定領域 (CDR) 1、2、3 を含む重鎖可変領域 (VH) であって、上記 CDR 1 領域は、選択された VH CDR 1 アミノ酸配列と少なくとも 80%、85%、90%、又は 95% 同一であるアミノ酸配列を含み、又はそれからなり、上記 CDR 2 領域は、選択された VH CDR 2 アミノ酸配列と少なくとも 80%、85%、90%、又は 95% 同一であるアミノ酸配列を含み、又はそれからなり、上記 CDR 3 領域は、選択された VH CDR 3 アミノ酸配列と少なくとも 80%、85%、90%、又は 95% 同一であるアミノ酸配列を含む、又はそれからなる、重鎖可変領域 (VH)、及び、CDR 1、2、3 を含む軽鎖可変領域 (VL) であって、上記 CDR 1 領域は、選択された VL CDR 1 アミノ酸配列と少なくとも 80%、85%、90%、又は 95% 同一であるアミノ酸配列を含み、又はそれからなり、上記 CDR 2 領域は、選択された VL CDR 2 アミノ酸配列と少なくとも 80%、85%、90%、又は 95% 同一であるアミノ酸配列を含み、又はそれからなり、上記 CDR 3 領域は、選択された VL CDR 3 アミノ酸配列と少なくとも 80%、85%、90%、又は 95% 同一であるアミノ酸配列を含む、又はそれからなる、軽鎖可変領域 (VL) を有することができる。選択された VH CDR 1、2、3 アミノ酸配列、及び、選択された VL CDR 1、2、3 アミノ酸配列は、図 11 (Kabat の CDR)、及び、図 12 (Chothia の CDR) に示される。

20

30

【0158】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 43、0、1 又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 44、0、1 又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 45 の CDR の、1 つ、2 つ、又は 3 つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

【0159】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 46、0、1 又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 47、0、1 又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 48 の CDR の、1 つ、2 つ、又は 3 つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

40

【0160】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 49、0、1 又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 50、0、1 又は 2 個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号 51 の CDR の、1 つ、2 つ、又は 3 つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

50

【0161】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号52、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号53、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号54のCDRの、1つ、2つ、又は3つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

【0162】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号55、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号56、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号57のCDRの、1つ、2つ、又は3つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

10

【0163】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号58、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号59、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号60のCDRの、1つ、2つ、又は3つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

【0164】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号1、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号2、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号3のCDRの、1つ、2つ、又は3つを含有する軽鎖可変ドメインを含有することができる。

20

【0165】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号4、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号5、0、1又は2個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号6のCDRの、1つ、2つ、又は3つを含有する軽鎖可変ドメインを含有することができる。

30

【0166】

挿入、欠失、及び置換は、CDR配列内、又は、CDR配列の片方若しくは両方の末端に存在することができる。

【0167】

本開示は、TROP2に結合する抗体又はその抗原結合断片もまた提供する。抗体又はその抗原結合断片は、選択された重鎖可変領域（VH）配列と少なくとも80%、85%、90%、又は95%同一であるアミノ酸配列を含む、又はそれからなるVH、及び、選択された軽鎖可変領域（VL）配列と少なくとも80%、85%、90%、又は95%同一であるアミノ酸配列を含む、又はそれからなるVLを含有する。いくつかの実施形態において、選択されたVH配列は配列番号61、62、又は63であり、選択されたVL配列は配列番号37である。

40

【0168】

いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、本明細書に記載する任意のVH配列のCDRと同一の、3つのVH CDRを有することができる。いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、本明細書に記載する任意のVL配列のCDRと同一の、3つのVL CDRを有することができる。

【0169】

本開示は、免疫グロブリン重鎖又は免疫グロブリン軽鎖を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む核酸もまた提供する。免疫グロブリン重鎖又は免疫グロブリン軽鎖は、図11若しくは図12に示されるCDRを含むか、又は、図13に示される配列

50

を有する。ポリペプチドが、対応するポリペプチド（例えば、対応する重鎖可変領域、又は、対応する軽鎖可変領域）と対形成される場合、対形成されるポリペプチドは、TRO P 2に結合する。

【0170】

抗TRO P 2抗体及び抗原結合断片はまた、抗体又は抗体断片の抗体変異体（誘導体及びコンジュゲートを含む）、並びに、多重特異的（例えば、二重特異的）抗体又は抗体断片であることも可能である。本明細書により提供される追加の抗体は、ポリクローナル、モノクローナル、多重特異的（多量体、例えば、二重特異的）、ヒト抗体、キメラ抗体（例えば、ヒトマウスキメラ）、一本鎖抗体、細胞内で製造された抗体（即ち、イントラボディ）、及び、それらの抗原結合断片である。抗体又はその抗原結合断片は、任意のタイプ（例えばIg G、Ig E、Ig M、Ig D、Ig A、及びIg Y）、クラス（例えばIg G 1、Ig G 2、Ig G 3、Ig G 4、Ig A 1及びIg A 2）又はサブクラスであることができる。いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、Ig G抗体又はその抗原結合断片である。

10

【0171】

抗体の断片は、それらが、全長抗体の所望の親和性及び特異性を保持する限り、提供される方法での使用に好適である。したがって、TRO P 2に結合する抗体の断片は、TRO P 2に結合する能力を保持する。Fv断片は、完全な抗原認識及び結合部位を含有する、抗体断片である。この領域は、1個の重鎖可変ドメインと、1個の軽鎖可変ドメインが密接に会合した二量体で構成され、これは、本質的には、例えば、sc Fvにおいて、共有結合であることができる。この構成においては、各可変ドメインの3つのCDRが相互作用し、VH-VL二量体の表面上で、抗原結合部位を画定する。全体的に、6つのCDR又はそれらのサブセットはまとめて、抗体に対する抗原結合特異性を付与する。しかしながら、単一の可変ドメイン（又は、ある抗原に特異的なCDRを3つのみ含むFvの半分）でさえも、抗原を認識してそれに結合する能力を有することができるが、通常は、結合部位全体よりも親和性が低い。

20

【0172】

抗体、抗原結合断片、及び抗原結合タンパク質構築物

本開示は、抗体、その抗原結合断片、又は抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）を提供する。抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）は、抗HER 2抗体又はその抗原結合断片、及び、抗TRO P 2抗体又はその抗原結合断片を含むことができる。これらの抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）、抗HER 2抗体、抗TRO P 2抗体、及びその抗原結合断片は、様々な形態を有することができる。

30

【0173】

一般的に、抗体（免疫グロブリンとも呼ばれる）は、2つのクラスのポリペプチド鎖、軽鎖、及び重鎖で構成されることができる。本開示の非限定的な抗体は、2つの重鎖と2つの軽鎖とを含む、インタクトな4つの免疫グロブリン鎖抗体であることができる。抗体の重鎖は、Ig M、Ig G、Ig E、Ig A、若しくはIg Dを含む任意のアイソタイプ、又は、Ig G 1、Ig G 2、Ig G 2 a、Ig G 2 b、Ig G 3、Ig G 4、Ig E 1、Ig E 2などを含むサブアイソタイプであることができる。軽鎖は、κ軽鎖又はλ軽鎖であることができる。抗体は、2つの同一のコピーの軽鎖、及び／又は、2つの同一のコピーの重鎖を含むことができる。それぞれが、1個の可変ドメイン（又は可変領域、VH）、及び、複数の定常ドメイン（又は定常領域）を含有する重鎖は、それらの定常ドメイン内で、ジスルフィド結合を介して互いに結合し、抗体の「幹」を形成する。それぞれが1個の可変ドメイン（又は、可変領域、VL）、及び、1個の定常ドメイン（又は、定常領域）を含有する軽鎖は、それぞれ、ジスルフィド結合を介して、1個の重鎖に結合する。各軽鎖の可変領域を、それが結合する重鎖の可変領域とアラインする。軽鎖及び重鎖の両方の可変領域は、より保存されたフレームワーク領域（FR）どうしの間に挟まされた、3つの超可変領域を含有する。

40

50

【0174】

相補性決定領域（CDR）として知られる超可変領域は、抗体の原理抗原結合表面を含むループを形成する。4つのフレームワーク領域は、 β シート構造にほとんど適応し、CDRは、連結するループを形成し、場合によっては β シート構造の一部を形成する。各鎖のCDRはフレームワーク領域に近接して保持され、かつ、他の鎖のCDRと共に、抗原結合領域の形成に寄与している。

【0175】

抗体のアミノ酸配列を分析することにより、抗体のCDR領域を識別する方法は周知であり、いくつかのCDRの定義が、一般的に用いられる。Kabatの定義は配列の変動性に基づき、Chothiaの定義は、構造ループ領域の位置に基づく。これらの方法及び定義は、例えば、Martin、「Protein sequence and structure analysis of antibody variable domains,」Antibody engineering, Springer Berlin Heidelberg, 2001. 422~439、Abhinandan, et al. 「Analysis and improvements to Kabat and structurally correct numbering of antibody variable domains,」Molecular immunology 45. 14 (2008) : 3832~3839、Wu, T. T. and Kabat, E. A. (1970) J. Exp. Med. 132: 211~250、Martin et al., Methods Enzymol. 203: 121-53 (1991)、Morea et al., Biophys Chem. 68 (1-3) : 9-16 (Oct. 1997)、Morea et al., J Mol Biol. 275 (2) : 269-94 (Jan. 1998)、Chothia et al., Nature 342 (6252) : 877-83 (Dec. 1989)、Ponomarenko and Bourne, BMC Structural Biology 7 : 64 (2007)、に記載されており、これらそれぞれの全体が、本明細書に参照により組み込まれている。

【0176】

CDRは、抗原のエピトープを認識するのに重要である。本明細書で使用される場合、「エピトープ」とは、抗体の抗原結合ドメインにより、特異的に結合されることが可能な、標的分子の最小部分である。エピトープの最小サイズは、約3、4、5、6、又は7個のアミノ酸であり得るが、エピトープは、抗原の二次及び三次構造に基づいて、抗原の3次元構造に依存し得るため、これらのアミノ酸は、抗原の一次構造の、連続した直鎖状配列にある必要はない。

【0177】

いくつかの実施形態において、抗体は、インタクトな免疫グロブリン分子（例えば、IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、IgM、IgD、IgE、IgA）である。IgGサブクラス（IgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4）は、高度に保存されており、その定常領域、特に、ヒンジ及び上部CH2ドメインが異なっている。IgGサブクラスの配列及び違いは、当該技術分野において周知であり、例えば、Vidarsson, et al, 「IgG subclasses and allotypes : from structure to effector functions,」Frontiers in immunology 5 (2014)、Irani, et al. 「Molecular properties of human IgG subclasses and their implications for designing therapeutic monoclonal antibodies against infectious diseases,」Molecular immunology 67. 2 (2015) : 171~182、Shakib, Faruk, ed. The human IgG subclasses: molecular analysis of structure, function and regul

ation. Elsevier, 2016、に記載されており、これらそれぞれの全体が、本明細書に参照により組み込まれている。

【0178】

抗体はまた、任意の種（例えば、ヒト、齧歯類、マウス、ラット、ラクダ）に由来する免疫グロブリン分子であることもできる。本明細書で開示する抗体としては、ポリクローナル、モノクローナル、単一特異的、多重特異的抗体、及び、別のポリペプチドに融合した免疫グロブリン結合ドメインを含むキメラ抗体が挙げられるが、これらに限定されない。抗原結合ドメイン又は抗原結合断片は、インタクトな抗体の特異的結合活性を保持する抗体の一部、即ち、インタクトな抗体の標的分子上のエピトープに特異的に結合可能な抗体の、任意の部分である。これは、例えば、これらの断片の Fab、Fab'、F(ab)2、及び変異体を含む。したがって、いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、例えば、scFv、Fv、Fd、dAb、二重特異的抗体、二重特異的 scFv、ダイアボディ、線状抗体、一本鎖抗体分子、抗体断片から形成される多重特異的抗体、及び、抗体結合ドメインである結合ドメイン、又はこれと相同である結合ドメインを含む、任意のポリペプチドであってもよい。抗原結合ドメインの非限定例としては、例えば、インタクトな抗体の重鎖及び／若しくは軽鎖 CDR、インタクトな抗体の重鎖及び／若しくは軽鎖可変領域、インタクトな抗体の全長重鎖若しくは軽鎖、又は、インタクトな抗体の重鎖若しくは軽鎖のいずれかに由来する個別の CDR が挙げられる。

【0179】

いくつかの実施形態において、scFv は、重鎖可変ドメインを 2 つ、及び、軽鎖可変ドメインを 2 つ有する。いくつかの実施形態において、scFv は、2 つの抗原結合領域（抗原結合領域：A 及び B）を有し、2 つの抗原結合領域は、異なる親和性を有するそれぞれの標的抗原に結合することができる。

【0180】

いくつかの実施形態において、抗原結合断片は、キメラ抗原受容体（CAR）の一部を形成することができる。いくつかの実施形態において、キメラ抗原受容体は、CD3 膜貫通及びエンドドメインに融合した、本明細書に記載する一本鎖可変断片（scFv）の融合物である。いくつかの実施形態において、キメラ抗原受容体は、様々な共刺激性タンパク質受容体（例えば、CD28、41BB、ICOS）由来の細胞内シグナル伝達ドメインもまた含む。いくつかの実施形態において、キメラ抗原受容体は、効力を増大させるための、複数のシグナル伝達ドメイン、例えば、CD3ζ-CD28-41BB、又は CD3ζ-CD28-OX40 を含む。したがって、一態様では、本開示は、本明細書に記載するキメラ抗原受容体を発現する細胞（例えば、T 細胞）を更に提供する。

【0181】

いくつかの実施形態において、抗体、その抗原結合断片、又は、抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）は、2 つの異なる抗原、又は、2 つの異なるエピトープに結合することができる。

【0182】

いくつかの実施形態において、抗体、その抗原結合断片、又は抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）は、図 8、9、11、及び 12 から選択される 1、2、又は 3 つの重鎖可変領域 CDR を含むことができる。いくつかの実施形態において、抗体、その抗原結合断片、又は抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）は、図 8、9、11、及び 12 から選択される 1、2、又は 3 つの軽鎖可変領域 CDR を含むことができる。

【0183】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体、その抗原結合断片、又は抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）は、治療剤とコンジュゲート化することができる。抗体又はその抗原結合断片を含む抗体薬物コンジュゲートは、治療剤に共有、又は非共有結合することができる。いくつかの実施形態において、治療剤は、細胞毒性又は細胞増殖抑制剤（例えば、モノメチルオーリスタチン E、モノメチルオーリスタチン

F、サイトカラシンB、グラミシジンD、エチジウムブロマイド、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テニポシド、ピンクリスチン、ピンブラスチン、コルヒチン、ドキシルピシン、ダウノルピシン、ジヒドロキシアントラセン、メイタンシノイド（DM-1及びDM-4など）、ジオン、マイトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、糖質コルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、ピューロマイシン、エピルピシン、並びにシクロホスファミド、並びにアナログ）である。

【0184】

抗体の多量体化は、抗体の自然な凝集により、又は、当該技術分野において周知の、化学的若しくは組み換え結合技術により、達成することができる。例えば、精製された抗体調製物（例えば、精製されたIgG1分子）の何パーセントかは、自然に、抗体ホモダイマーと、他の高次抗体多量体とを含有する、タンパク質アグリゲートを形成する。

【0185】

いくつかの実施形態において、多重特異性抗体は、二重特異性抗体である。一对の抗体分子の間の界面を組み換えて、組み換え細胞培養液から回収したヘテロ二量体の割合を最大化することにより、二重特異性抗体を製造することができる。例えば、界面は、少なくとも、抗体定常ドメインのCH3ドメインの一部を含有することができる。この方法では、第1の抗体分子の界面からの1つ以上の小さいアミノ酸側鎖が、より大きな側鎖（例えばチロシン又はトリプトファン）で置き換えられる。大きなアミノ酸側鎖を小さいもの（例えばアラニン又はトレオニン）で置き換えることにより、大きな側鎖と同じ又は同様のサイズの代償性「キャビティ」を、第2の抗体分子の界面に作り出す。これにより、ホモ二量体などの不要の他の最終産物よりも、ヘテロ二量体の収率を増大させるメカニズムが提供される。本方法は、例えば、WO 96/27011に記載されており、その全体が参照により組み込まれている。

【0186】

本明細書に記載する抗体、その抗原結合断片、又は抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）のいずれかを、安定化分子（例えば、対象内で、又は溶液中で、抗体又はその抗原結合断片の半減期を増大させる分子）とコンジュゲート化することができる。安定化分子の非限定例としては、ポリマー（例えば、ポリエチレングリコール）、又はタンパク質（例えば、ヒト血清アルブミンなどの血清アルブミン）が挙げられる。安定化分子のコンジュゲーションにより、*in vitro*で（例えば、組織培養液中で、若しくは、医薬組成物として貯蔵した際に）、又は、*in vivo*で（例えば、ヒトにおいて）、抗体又は抗原結合断片の半減期を増大させることができる、又は、この生物活性を延長することができる。

【0187】

抗体、その抗原結合断片、又は抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）もまた、様々な形態をとることができる。抗原結合構築物の、多くの異なるフォーマットは、当該技術分野において周知であり、例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれている、Suurs, et al. A review of bispecific antibodies and antibody constructs in oncology and clinical challenges, Pharmacology & therapeutics (2019)に記載されている。

【0188】

いくつかの実施形態において、抗原結合タンパク質構築物は、BiTe、(scFv)₂、ナノボディ、ナノボディー-HSA、DART、TandAb、scDiabody、scDiabody-CH3、scFv-CH-CL-scFv、HSAbody、scDiabody-HAS、又はタンデム-scFvである。いくつかの実施形態において、抗原結合タンパク質構築物は、VHH-scAb、VHH-Fab、Dual scFab、F(ab')₂、ダイアボディ、crossMab、DAF (2in1)、DAF (4in1)、DutaMab、DT-IgG、ノブインホール共通軽鎖、ノブインホ

10

20

30

40

50

ールアセンブリ、電荷対、Fabアーム交換、SEEDbody、LUZ-Y、Fcab、κλーボディ、直交Fab、DVD-IgG、IgG(H)-scFv、scFv-(H)IgG、IgG(L)-scFv、scFv-(L)IgG、IgG(L,H)-Fv、IgG(H)-V、V(H)-IgG、IgG(L)-V、V(L)-IgG、KIH IgG-scFab、2scFv-IgG、IgG-2scFv、scFv4-IgG、Zybody、DVI-IgG、ダイアボディ-CH3、トリプルボディ、ミニ抗体、ミニボディ、TriBiミニボディ、scFv-CH3 KIH、Fab-scFv、F(ab')₂-scFv₂、scFv-KIH、Fab-scFv-Fc、四価HCAB、scDiabody-Fc、Diabody-Fc、タンデムscFv-Fc、Int rabody、ドックアンドロック、lmmTAC、IgG-IgGコンジュゲート、Cov-X-Body、又はscFv1-PEG-scFv2である。

10

【0189】

いくつかの実施形態において、抗原結合タンパク質構築物はTriomabであることができる。Triomabにおいて、2つの重鎖は異なる種に由来し、異なる配列は、重鎖-軽鎖の対形成を制限する。

【0190】

いくつかの実施形態において、抗原結合タンパク質構築物は、2つの異なる重鎖、及び、1つの共通の軽鎖を有する。重鎖のヘテロ二量体化は、ノブインホール、又は、いくつかの他の重鎖対形成技術に基づくことができる。

【0191】

いくつかの実施形態において、CrossMab技術を用いて、二重特異性抗体を作製することができる。CrossMab技術を用いて、二重特異性ヘテロ二量体IgG抗体における正しい軽鎖会合を増強することができ、この技術によって、二価(1+1)、三価(2+1)、及び四価(2+2)二重特異性抗体、加えて、非Fcタンデム抗原結合断片(Fab)ベース抗体を含む、様々な二重特異性抗体フォーマットの生成が可能となる。これらのフォーマットは、ドメインクロスオーバーを用いて、共通の軽鎖の識別、翻訳後処理/in vitro化学アセンブリ、又は、正しい軽鎖会合を増強する一連の変異の導入必要とすることなく、任意の既存の抗体ペアから誘導することができる。本方法は、Klein et al., "The use of CrossMab technology for the generation of bi-and multi-specific antibodies." MAbs. Vol. 8. No. 6. Taylor & Francis, 2016に記載されており、その全体が参照により組み込まれている。いくつかの実施形態において、重鎖内のCH1と、軽鎖内のCLドメインが交換される。

20

30

【0192】

抗原結合タンパク質構築物はDuobodyであることができる。IgG4抗体内で自然に存在するFab交換メカニズムは、IgG1抗体では制御された方法で模倣されており、これは制御Fab交換と呼ばれるメカニズムである。このフォーマットは、重鎖-軽鎖間での特定の対形成を確実なものにすることができる。

【0193】

二重可変ドメイン抗体(DVD-Ig)において、さらなるVH及び可変軽鎖(VL)ドメインを、二重特異的標的化のために、各N末端に添加する。このフォーマットはIgG-scFvに似ているが、追加された結合ドメインは、各重鎖N末端への、scFvの代わりに、対応するN末端に個別に結合する。

40

【0194】

scFv-IgGにおいて、2つのscFvは、重鎖(CH3)のC末端に連結される。scFv-IgGフォーマットは、2つの異なる二価結合部位を有し、結果的に、四価とも呼ばれる。scFv-IgGにおける、重鎖と軽鎖の対形成の問題は存在しない。

【0195】

いくつかの実施形態において、抗原結合タンパク質構築物は、IgG-IgGフォーマ

50

ットを有することができる。2つのインタクトなIgG抗体は、重鎖のC末端を化学結合させることにより、コンジュゲートされる。

【0196】

抗原結合タンパク質構築物は、Fab-scfv-Fcフォーマットもまた有することができる。Fab-scfv-Fcフォーマットにおいて、軽鎖、重鎖、及び、Fc領域とscfvとを含有する第3の鎖がアセンブルされる。これによって、効率的な作製と精製が確実となることができる。

【0197】

いくつかの実施形態において、抗原結合タンパク質構築物はTFであることができる。3つのFab断片が、ジスルフィド架橋によって連結される。2つの断片が、腫瘍関連抗原(TAA)を標的とし、1つの断片が、ハプテンを標的とする。TFフォーマットはFc領域を有しない。

10

【0198】

ADAPTERは、あるFc領域の両側に結合した2つのscfvを有する。ADAPTERは、その構築物に対する基礎としてのインタクトなIgGを廃棄するが、Fc領域を保存し、半減期を延ばして精製を促進する。

【0199】

二重特異的T細胞エンゲージャー(「BiTE」)は、1つのペプチド鎖上の、2つのscfv、VLA、VHA、及びVHB VLBで構成される。BiTEは結合ドメインを有し、Fc領域を有しない。

20

【0200】

BiTE-Fcにおいて、Fc領域はBiTE構築物に融合する。Fc領域を加えることで、半減期が延長し、より長い有効濃度がもたらされ、連続したIVが回避される。

【0201】

二重親和性再標的化(DART)は、反対の断片を(つまり、VLAをVHBと、VLBをVHAと)連結する2つのペプチド鎖、及び、C末端でこれらを互いに融合する硫黄結合を有する。DARTにおいては、硫黄結合が、BiTEよりも安定性を改善することができる。

【0202】

DART-Fcでは、Fc領域が、DARTに結合される。これは、3つの鎖をアセンブルすることで(DART同様に、2つはジスルフィド結合を介して)生成することができる。1つの鎖は、Fc領域の半分を含有し、これは3番目の鎖と二量体化し、Fc領域のみを発現する。Fc領域を加えることで、半減期が延長し、より長い有効濃度がもたらされ、連続したIVが回避される。

30

【0203】

四価のDARTでは、4つのペプチド鎖がアセンブルされる。基本的に、2つのDART分子が、Fc領域の半分によって作製され、二量体化する。このフォーマットは、両方の標的への二価結合を有し、故に、これは四価の分子である。

【0204】

タンデムなダイアボディ(TandAb)は、2つのダイアボディを含む。各ダイアボディは、共有結合によって会合した、VHAとVLB断片、及び、VHAとVLB断片で構成される。2つのダイアボディは、ペプチド鎖によって連結される。これは、2つのscfvで構成されるダイアボディよりも、安定性を改善することができる。これは、2つの二価結合部位を有する。

40

【0205】

scfv-scfv-毒素は、毒素と、安定化リンカーを含む2つのscfvと、を含む。これは、ペイロードの特異的な送達のために用いることができる。

【0206】

分子scfv-scfv-scfvにおいて、TAAに対して向けられるscfvは、2つのscfv(1つは、CD3に対して向けられ、1つは認識可能なペプチドに対して

50

向けられる)で構成されるb s A bに対してアセンブルされる短い認識可能なペプチドでタグ化される。

【0207】

I m m T A Cでは、安定化及び可溶性T細胞受容体は、C D 3を認識するs c F vに融合する。T C Rを用いることで、I m m T A Cは、処理される標的、例えば、細胞内タンパク質に対して好適である。

【0208】

三重特異性ナノボディは、半減期延長のための更なる分子を含む、2つの単一可変ドメイン(ナノボディ)を有する。更なるモジュールを追加し、半減期を延長する。

【0209】

T r i s p e c i f i c K i l l e r E n g a g e r (T r i K E)において、2つのs c F vは、ヒトI L - 1 5を組み込むポリペプチドリンカーを介して連結される。I L - 1 5に対するリンカーを添加して、N Kの生存及び増殖を増加させる。

【0210】

いくつかの実施形態において、抗原結合タンパク質構築物は二重特異性抗体である。いくつかの実施形態において、本開示における二重特異性抗体は、1 + 1 (各標的に対して一価)であるように設計され、I g G 1サブタイプ構造を有する。これによって、発現レベルが低いH E R 2及びT R O P 2を有する細胞に対する結合活性を低下させることができ、H E R 2及びT R O P 2を同時発現する細胞に対する結合活性を増加させることができる。変異S 2 3 9 D及び／又はI 3 3 2 E (S I変異)は、抗体重鎖にもまた導入して、F c γ R I I I Aに対する抗体親和性を増強することができる。

【0211】

いくつかの実施形態において、抗体、その抗原結合断片、抗原結合タンパク質構築物(例えば、抗T R O P 2抗体、抗H E R 2抗体、若しくは二重特異性抗体)、又は、関連する抗体薬物コンジュゲート(A D C)は、配列番号80と少なくとも80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%同一である軽鎖定常領域、及び、配列番号81又は配列番号82と少なくとも80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%同一である重鎖定常領域を有する。

【0212】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する二重特異性抗体又はその抗原結合断片は、共通の軽鎖を有する。

【0213】

抗体薬物コンジュゲート(A D C)

本明細書に記載する抗体、その抗原結合断片、又は抗原結合タンパク質構築物(例えば、二重特異性抗体)は、治療剤(薬物)とコンジュゲート化することができる。治療剤は、抗体若しくは抗原結合断片、又は、抗原結合タンパク質構築物(例えば、二重特異性抗体)に、共有、又は非共有結合することができる。いくつかの実施形態において、二重特異性抗体は抗H E R 2 / T R O P 2二重特異性抗体である。いくつかの実施形態において、二重特異性抗体は共通の軽鎖を有する。

【0214】

いくつかの実施形態において、治療剤は、細胞毒性又は細胞増殖抑制剤(例えば、モノメチルオーリスタチンE、モノメチルオーリスタチンF、サイトカラシンB、グラミシジンD、エチジウムブロマイド、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テニポシド、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキシソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラセン、メイタンシノイド(D M - 1及びD M - 4など)、ジオン、マイトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1 - デヒドロテストステロン、糖質コルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、ピューロ

10

20

30

40

50

マイシン、エピルピシン、並びにシクロホスファミド、並びにアナログ）である。有用なクラスの細胞毒性、細胞増殖抑制、又は免疫制御剤としては、例えば、抗チューブリン剤、DNAマイナーグループ結合剤、DNA複製阻害剤、及びアルキル化剤が挙げられる。

【0215】

いくつかの実施形態において、治療剤としては、限定されるものではないが、細胞毒性剤（例えば、化学治療剤、免疫療法剤など）、抗ウイルス剤、又は抗菌剤を挙げることができる。いくつかの実施形態において、コンジュゲート化可能な治療剤としては、限定されるものではないが、MMAE（モノメチルオーリスタチンE）、MMAD（モノメチルオーリスタチンD）、又はMMAF（モノメチルオーリスタチンF）から選択することができる。

10

【0216】

いくつかの実施形態において、治療剤は、オーリスタチンE（当該技術分野において、ドラスタチン-10の誘導体としてもまた周知である）などのオーリスタチン、又はその誘導体である。オーリスタチンは例えば、オーリスタチンEとケト酸とで形成されるエステルであることができる。例えば、オーリスタチンEは、パラアセチル安息香酸又はベンゾイル吉草酸と反応し、それぞれ、AEB及びAEVBを生成することができる。他の典型的なオーリスタチンとしては、AFP、MMAF、及びMMAEが挙げられる。例示的なオーリスタチンの合成及び構造は、米国特許公開公報第2003-0083263号；国際特許公報第WO 04/010957号、国際特許公報第WO 02/088172号、並びに、米国特許第7,498,298号、同第6,884,869号、同第6,323,315号；同第6,239,104号；同第6,034,065号；同第5,780,588号；同第5,665,860号；同第5,663,149号；同第5,635,483号；同第5,599,902号；同第5,554,725号；同第5,530,097号；同第5,521,284号；同第5,504,191号；同第5,410,024号；同第5,138,036号；同第5,076,973号；同第4,986,988号；同第4,978,744号；同第4,879,278号；同第4,816,444号；及び同第4,486,414号に記載されており、これらはそれぞれ、本明細書中にそれら全体があらゆる目的のために、参照により組み込まれている。

20

【0217】

オーリスタチンは、微小管ダイナミクス、並びに、核及び細胞分裂と干渉することが示されており、抗癌活性を有することが示されている。オーリスタチンはチューブリンに結合し、癌細胞において細胞毒性又は細胞増殖抑制効果を発揮することができる。当該技術分野において周知の多数の様々なアッセイが存在し、オーリスタチン又は得られた抗体薬物コンジュゲートが、所望の細胞にて細胞増殖抑制又は細胞毒性効果を発揮するか否かを測定するのに使用することができる。

30

【0218】

いくつかの実施形態において、治療剤は化学療法剤である。化学療法剤の例としては、チオテパ及びシクロホスファミド（CYTOXAN（商標））などのアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファン、及びピボスルファンなどのアルキルスルホネート；ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ、及びウレドーパなどのアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホラミド、及びトリメチローロメラミンなどのエチレンイミン及びメチラメラミン；クロラムブシル、クロルナファジン、コロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノベンピチン、フェネステリン、プレドニマスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマスタード；カルマスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチンなどのニトロソウレア；アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アントラマイシン、アザセリン、プレオマイシン、カクチノマイシン、カリケアマイシン、カラビシン、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デトルピシン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ドキソ

40

50

ルビシン、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシン、マイコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン、ロドルビシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシンなどの抗生物質；メトトレキサート及び5-フルオロウラシル（5-FU）などの代謝拮抗薬；デノブテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトレキサートなどの葉酸類似体；フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類似体；アンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジネン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクシウリジン、5-FUなどのピリミジン類似体；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン；アミノグルテチミド、マイトテイン、トリロスタンなどの抗副腎剤；フォリン酸などの葉酸補充剤；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレプリン酸；アムサクリン；ベストラブシル；ピサントレン；エダトレキサート；デフォファミン；デメコルチン；ジアジクオン；エルフォミチン；エリブチニウムアセテート；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシウレア；レンチナン；ロニダミン；ミトグアゾン；マイトキサントロン；モピダモール；ニトラクリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルビシン；ポドフィリン酸；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK7；ラゾキサン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン；2, 2', 2''-トリクロロトリエチルアミン；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピポブロマン；ガシトシン；アラビノシド（「Ara-C」）；シクロホスファミド；タキサン、例えばバクリタキセル（TAXOL（登録商標）、Bristol-Myers Squibb Oncology、ニュージャージー州プリンストン）、ドキセタキセル（TAXOTERE（登録商標）、Rhône-Poulenc Rorer、フランス、アントニー）、クロラムブシル、ゲムシタビン、6-チオグアニン、シスプラチン又はカルボプラチンなどの白金類似体、ピンブラスチン、白金、エトポシド（VP-16）、イホスファミド、マイトマイシンC、ミトキサントロン、ピンクリスチン、ビノレルビン、ナベルピン、ノバントロン、テニポシド、ダウノマイシン、アミノプテリン、ゼローダ、イバンドロネート、CPT-11、トポイソメラーゼ阻害剤 RFS 2000、ジフルオロメチルオルニチン（DMFO）；レチノイン酸；エスペラミシン；カペシタビン；並びに、上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸、又は誘導体が挙げられる。この定義には、例えば、タモキシフェン、ラロキシフェン、アロマターゼ阻害4（5）イミダゾール、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン、及びトレミフェン（フェアストン）；並びに、フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド、及びゴセレリンなどの抗アンドロゲン剤；並びに、上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸、又は誘導体を含む抗エストロゲン剤などの、腫瘍におけるホルモン作用を調節又は阻害する作用を持つ抗ホルモン剤もまた含まれる。化学療法剤の詳細の説明は、例えばUS20180193477A1に見出すことができ、その全体が参照により組み込まれている。

【0219】

いくつかの実施形態において、抗原結合構築物は、切断可能なリンカー、例えば、SPBDリンカー、又は、マレイミドカプロイル-バリニン-シトルリン-p-アミノベンジルオキシカルボニル（VC）リンカーを介して薬物にカップリングする。いくつかの実施形態において、抗原結合構築物は、切断不可能なリンカー、例えば、SMCC又はスルホ-SMCCを用いて形成したMCCリンカーを介して薬物にカップリングする。所与のADCに対する適切なリンカーの選択は、当該技術の知識を有し、抗原結合構築物への結合部位、薬物の任意の構造制限、及び、薬物の疎水性などの関連因子を考慮に入れる当業者により、速やかに為すことができる（例えば、review in Noltting, Chapter 5, Antibody-Drug Conjugates: Methods in Molecular Biology, 2013, Ducry (Ed.), Spr

ingerを参照されたい)。多数の具体的なリンカー-毒素の組み合わせが記載されており、本明細書に記載する抗原結合構築物と共に使用して、ある特定の実施形態では、ADCを調製することができる。例としては、MMAE及びMMAFなどのオーリスタチン、SN-38、デュオカルマイシン、及びPBD二量などのカンプトテシンの、切断可能なペプチド系リンカー；オーリスタチンMMAF及びMMAEとの、切断不可能なMC系リンカー；カリケアマイシン及びドキシソルピシンの、酸不安定性ヒドラゾン系リンカー；DM1及びDM4などのメイタンシノイドとの、ジスルフィド系リンカー；メイタンシノイドDM1との、ビスマレイミドトリオキシエチレングリコール(BMPEO)系リンカーが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかのこれらの治療剤及びリンカーは、例えば、Peters & Brown, (2015) Biosci. Rep. e00225; Dosio et al., (2014) Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery 9:35-65; 米国特許公報第U2015/0374847号、及びUS20180193477A1に記載されており、これらはその全体が、参照により本明細書に組み込まれている。

10

【0220】

所望の薬物、及び選択されたリンカーに応じて、当業者は、これらを互いにカップリングするための好適な方法を選択することができる。例えば、アミンカップリング法などの、いくつかの従来のカップリング法を用いて、共有結合によって抗体をコンジュゲート化するための反応性基を依然として含有する、所望の薬物-リンカー複合体を形成することができる。いくつかの実施形態において、薬物-マレイミド複合体(即ち、マレイミド結合薬物)を、本開示における反応性基を有するペイロードに対して使用することができる。ADC調製においてチオール基に結合可能な、最も一般的な反応性基は、マレイミドである。さらに、有機臭化物、ヨウ化物もまた、頻繁に用いられる。

20

【0221】

ADCは、当業者に周知の有機化学反応、条件、及び試薬を用いる、いくつかの当該技術分野において周知の経路のうちの1つにより調製することができる(例えば、Bioconjugate Techniques (G. T. Hermanson, 2013, Academic Press)を参照されたい)。例えば、コンジュゲーションは、(1)抗体の求核基若しくは求電子性基の、二価のリンカー試薬との反応によって、抗体-リンカー中間体A-B-Lを、共有結合によって、続いて、活性化薬物部位Dとの反応によって形成すること；又は、(2)共有結合によって、薬物部位の求核基若しくは求電子性基の、リンカー試薬との反応によって、続いて、抗体の求核基若しくは求電子性基との反応によって、薬物-リンカー中間体D-Lを形成することにより達成することができる。コンジュゲーション法(1)及び(2)は、種々の抗体、薬物部分、及びリンカーと共に用いて、本明細書に記載するADCを調製することができる。調製した様々なリンカー、リンカー構成成分、及び毒素は、市販されているか、又は、標準的な合成有機化学技術を用いて調製することができる。これらの方法は、例えば、March's Advanced Organic Chemistry (Smith & March, 2006, Sixth Ed., Wiley); Toki et al., (2002) J. Org. Chem. 67:1866-1872; Frisch et al., (1997) Bioconj. Chem. 7:180-186; Bioconjugate Techniques (G. T. Hermanson, 2013, Academic Press); US20210379193A1、及びUS20180193477A1に記載されており、これらはその全体が、本明細書に参照により組み込まれている。さらに、選択された抗原結合構築物との反応に好適な、予形成した多数の薬物-リンカーもまた市販されており、例えば、DM1、DM4、MMAE、MMAF、又はデュオカルマイシンSAを含むリンカー-毒素が、Creative BioLabs (Shirley, N. Y.)から入手可能である。

30

40

【0222】

ADCの調製方法の、いくつかの具体例は、当該技術分野において周知であり、米国特

50

許第 8, 624, 003 号 (ポット法)、米国特許第 8, 163, 888 号 (1 ステップ)、及び、米国特許第 5, 208, 020 号 (2 ステップ法)、並びに、US 2018 0193477 A1 に記載されており、これらはその全体が、本明細書に参照により組み込まれている。他の方法が、当該技術分野において周知であり、Antibody-Drug Conjugates: Methods in Molecular Biology, 2013, Ducry (Ed.), Springer に記載されているものが挙げられる。

【0223】

薬物負荷は、ADC の分子内の抗体当たりの、薬物部分の数によって表される。いくつかの抗体薬物コンジュゲートに関して、薬物負荷は、抗体上の結合部位の数によって制限することができる。例えば、本明細書に記載するある特定の例示的实施形態におけるような、結合がシステインチオールである場合、薬物負荷は、抗体当たり 0 ～ 8 個の薬物部分の範囲を取り得る。ある特定の实施形態では、高い薬物負荷、例えば、 $p \geq 5$ は、ある特定の抗体薬物コンジュゲートの、凝集、不溶性、毒性、又は、細胞透過性を引き起こす場合がある。ある特定の实施形態では、抗体薬物コンジュゲートに対する平均薬物負荷は、1 ～ 約 8、約 2 ～ 約 6、又は、約 3 ～ 約 5 % の範囲である。実際、ある特定の抗体薬物コンジュゲートに対しては、抗体当たりの、薬物部分の最適比率は、約 4 であることができることが示されている。いくつかの実施形態において、DAR は、約、又は、少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、又は 8 である。いくつかの実施形態において、組成物中の平均 DAR は、約 1 ～ 約 2、約 2 ～ 約 3、約 3 ～ 約 4、約 4 ～ 約 5、約 5 ～ 約 6、約 6 ～ 約 7、又は、約 7 ～ 約 8 である。

【0224】

抗体及び ADC 特性

抗 HER2 抗原結合タンパク質構築物 (例えば、抗体、二重特異性抗体、若しくはその抗体断片)、又は、それに由来する ADC は、本明細書に記載する任意の抗 HER2、又は、その任意の抗原結合断片に由来する抗原結合領域を含むことができる。

【0225】

抗原に対する抗体の親和性を測定するために使用可能な一般的な技術としては、例えば、ELISA、RIA、及び表面プラズモン共鳴 (SPR) が挙げられる。親和性を、運動速度定数の商から推定することができる ($KD = k_{off} / k_{on}$)。いくつかの実施形態では、抗体、その抗原結合断片、又は抗原結合タンパク質構築物 (例えば、二重特異性抗体) は、 0.1 s^{-1} 未満、 0.01 s^{-1} 未満、 0.001 s^{-1} 未満、 0.0001 s^{-1} 未満、又は、 0.00001 s^{-1} 未満の解離速度 (k_{off}) で、ERBB2 (例えば、ヒト HER2、イヌ ERBB2、サル ERBB2、及び／又はマウス ERBB2) に結合することができる。いくつかの実施形態において、解離速度 (k_{off}) は、 0.01 s^{-1} 超、 0.001 s^{-1} 超、 0.0001 s^{-1} 超、 0.00001 s^{-1} 超、又は、 0.000001 s^{-1} 超である。いくつかの実施形態において、解離速度 (k_{off}) は、 $7 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 未満である。

【0226】

いくつかの実施形態において、運動会合速度 (k_{on}) は、 $1 \times 10^2 / \text{Ms}$ 超、 $1 \times 10^3 / \text{Ms}$ 超、 $1 \times 10^4 / \text{Ms}$ 超、 $1 \times 10^5 / \text{Ms}$ 超、又は、 $1 \times 10^6 / \text{Ms}$ 超である。いくつかの実施形態において、運動会合速度 (k_{on}) は、 $1 \times 10^5 / \text{Ms}$ 未満、 $1 \times 10^6 / \text{Ms}$ 未満、又は、 $1 \times 10^7 / \text{Ms}$ 未満である。いくつかの実施形態において、運動会合速度 (k_{on}) は、 $1.3 \times 10^5 / \text{Ms}$ 超である。

【0227】

いくつかの実施形態において、抗体、その抗原結合断片、又は、抗原結合タンパク質構築物 (例えば、二重特異性抗体) は、ERBB2 (例えば、ヒト HER2、イヌ ERBB2、サル ERBB2、及び／又はマウス ERBB2) に、 $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 未満、 $1 \times 10^{-7} \text{ M}$ 未満、 $1 \times 10^{-8} \text{ M}$ 未満、 $1 \times 10^{-9} \text{ M}$ 未満、又は、 $1 \times 10^{-10} \text{ M}$ 未満の KD で結合することができる。いくつかの実施形態において、KD は、5 nM、4 nM、3

nM、2 nM、又は1 nM未満である。いくつかの実施形態において、KDは、 1×10^{-7} M超、 1×10^{-8} M超、 1×10^{-9} M超、又は 1×10^{-10} M超である。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒトHER2に、約5 nM、4.5 nM、3 nM、又は0.27 nM以下のKDで結合する。

【0228】

抗TROP2抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）、又は、これに由来するADCは、本明細書に記載する任意の抗TROP2抗体又はその抗原結合断片に由来する抗原結合領域もまた含むことができる。

【0229】

いくつかの実施態様では、抗体、その抗原結合断片、又は抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）は、 0.1 s^{-1} 未満、 0.01 s^{-1} 未満、 0.001 s^{-1} 未満、 0.0001 s^{-1} 未満、又は、 0.00001 s^{-1} 未満の解離速度（koff）で、TROP2（例えば、ヒトTROP2、イヌTROP2、サルTROP2、及び／又はマウスTROP2）に結合することができる。いくつかの実施形態において、解離速度（koff）は、 0.01 s^{-1} 超、 0.001 s^{-1} 超、 0.0001 s^{-1} 超、 0.00001 s^{-1} 超、又は、 0.000001 s^{-1} 超である。

【0230】

いくつかの実施形態において、運動会合速度（ka）は、 $1 \times 10^2 / \text{Ms}$ 超、 $1 \times 10^3 / \text{Ms}$ 超、 $1 \times 10^4 / \text{Ms}$ 超、 $1 \times 10^5 / \text{Ms}$ 超、又は、 $1 \times 10^6 / \text{Ms}$ 超である。いくつかの実施形態において、運動会合速度（ka）は、 $1 \times 10^5 / \text{Ms}$ 未満、 $1 \times 10^6 / \text{Ms}$ 未満、又は、 $1 \times 10^7 / \text{Ms}$ 未満である。

【0231】

親和性を、運動速度定数の商から推定することができる（ $KD = \text{koff} / \text{ka}$ ）。いくつかの実施形態において、KDは、 1×10^{-6} M未満、 1×10^{-7} M未満、 1×10^{-8} M未満、 1×10^{-9} M未満、又は、 1×10^{-10} M未満である。いくつかの実施形態において、KDは、30 nM、20 nM、15 nM、10 nM、9 nM、8 nM、7 nM、6 nM、5 nM、4 nM、3 nM、2 nM、又は1 nM未満である。いくつかの実施形態において、KDは、 1×10^{-7} M超、 1×10^{-8} M超、 1×10^{-9} M超、 1×10^{-10} M超、 1×10^{-11} M超、又は、 1×10^{-12} M超である。いくつかの実施形態において、抗体は、約15 nM又は10 nM以下のKDで、ヒトTROP2に結合する。

【0232】

抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）は、TROP2とHER2の両方に結合するため、TROP2とHER2の両方を発現する細胞に関しては、抗原結合タンパク質構築物は、これらの細胞に対して高い結合親和性を有する。結合活性を用いて、これらの細胞に対する、抗原結合タンパク質構築物の結合親和性を測定することができる。結合活性とは、個別の非共有結合相互作用の、複数の親和性の累積の強さである。

【0233】

熱安定性もまた、測定することができる。本明細書に記載する、抗体、その抗原結合断片、若しくは、抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）、又は、これに由来するADCは、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、又は95℃超のTmを有することができる。IgGは、マルチドメインタンパク質として記載することができるため、融解曲線は、場合によっては、2つの遷移を示し、第1の変性温度はTm D1であり、第2の変性温度はTm D2である。これら2つのピークの存在は、多くの場合、それぞれ、Fcドメイン（Tm D1）、及び、Fabドメイン（Tm D2）の変性を示す。2つのピークが存在する場合、Tmは通常、Tm D2を指す。したがって、いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74

、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、又は95℃超のTm D1を有する。いくつかの実施形態において、本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片は、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、又は95℃超のTm D2を有する。いくつかの実施形態において、Tm、Tm D1、Tm D2は、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、又は95℃未満である。

10

【0234】

いくつかの実施形態において、抗体、その抗原結合断片、抗原結合タンパク質構築物（例えば、抗TROP2、HER2抗体、若しくは二重特異性抗体）、又は、それに由来するADCは、少なくとも50%、60%、70%、72.5%、75%、77.5%、80%、82.5%、85%、87.5%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%である、細胞内（例えば、NCI-N87細胞、又は、NCI-H292細胞内）での、エンドサイトーシス比率を有する。いくつかの実施形態において、50%、60%、70%、72.5%、75%、77.5%、80%、82.5%、85%、87.5%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%未満のエンドサイトーシス比率を有する。

20

【0235】

いくつかの実施形態において、抗体、その抗原結合断片、抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）、又は、それに由来するADCは、イヌERRB2、サルERRB2、又はマウスERRB2に結合することができる。いくつかの実施形態において、結合は、FACSにより測定した陽性細胞の割合（%）として測定される。いくつかの実施形態において、陽性細胞の割合（%）は、50%、60%、70%、72.5%、75%、77.5%、80%、82.5%、85%、87.5%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%超である。いくつかの実施形態において、陽性細胞の割合（%）は、50%、60%、70%、72.5%、75%、77.5%、80%、82.5%、85%、87.5%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%未満である。いくつかの実施形態において、抗体、その抗原結合断片、抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）、又は、それに由来するADCは、イヌERRB2、サルERRB2、又はマウスERRB2に結合することができない。

30

【0236】

いくつかの実施形態において、抗体、その抗原結合断片、抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）、又は、それに由来するADCは、イヌTROP2、サルTROP2、又はマウスTROP2に結合することができる。いくつかの実施形態において、結合は、FACSにより測定した陽性細胞の割合（%）として測定される。いくつかの実施形態において、陽性細胞の割合（%）は、50%、60%、70%、72.5%、75%、77.5%、80%、82.5%、85%、87.5%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%超である。いくつかの実施形態において、陽性細胞の割合（%）は、50%、60%、70%、72.5%、75%、77.5%、80%、82.5%、85%、87.5%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%未満である。いくつかの実施形態において、抗体、その抗原結合断片、抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）、又は、それに由来するADCは、イヌTROP2、サルTROP2、又はマウスTROP2に結合することができない。

40

【0237】

いくつかの実施形態において、抗体、その抗原結合断片、抗原結合タンパク質構築物（

50

例えば、抗TROP2、HER2抗体、若しくは二重特異性抗体）、又は、それに由来するADCは、例えば、HPLCにより測定すると、30%、40%、50%、60%、70%、72.5%、75%、77.5%、80%、82.5%、85%、87.5%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%超の純度を有する。いくつかの実施形態において、抗体、純度は、例えば、HPLCにより測定すると、30%、40%、50%、60%、70%、72.5%、75%、77.5%、80%、82.5%、85%、87.5%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%未満である。

【0238】

いくつかの実施形態において、抗体、その抗原結合断片、抗原結合タンパク質構築物（例えば、抗TROP2、HER2抗体、若しくは二重特異性抗体）、又は、それに由来するADCは、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200、300、400、500、600、又は、700（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）超の収率を有する。いくつかの実施形態において、収率は、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200、300、400、500、600、又は700（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）未満である。

【0239】

いくつかの実施形態において、抗体、その抗原結合断片、抗原結合タンパク質構築物（例えば、抗TROP2、HER2抗体、若しくは二重特異性抗体）、又は、それに由来するADCの安定性は、キャピラリー等電点電気泳動（cIEF）法（主成分、酸性成分、及びアルカリ性成分の割合（%）として表される）により測定される。いくつかの実施形態において、主成分の割合（%）は、例えば、cIEFにより測定すると、様々な条件に通した後で、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、72.5%、75%、77.5%、80%、82.5%、85%、87.5%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%超である。いくつかの実施形態において、条件は、少なくとも、若しくは約1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10日間4℃で保管すること、少なくとも、若しくは約1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10日間25℃で保管すること、又は、少なくとも、若しくは約1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10日間40℃で保管することである。いくつかの実施形態において、条件は、少なくとも、又は約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、又は50回、凍結解凍することである。いくつかの実施形態において、条件は、約、又は少なきとも0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10時間、pH3.5で組成物を保管することである。いくつかの実施形態において、治療の後、酸性成分の割合（%）は、例えば、cIEFにより測定すると、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、72.5%、75%、77.5%、80%、82.5%、85%、87.5%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%超である。いくつかの実施形態において、治療の後、アルカリ性成分の割合（%）は、例えば、cIEFにより測定すると、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、72.5%、75%、77.5%、80%、82.5%、85%、87.5%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%未満である。いくつかの実施形態において、酸性成分の割合（%）は、例えば、cIEFにより測定すると、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、72.5%、75%、77.5%、80%、82.5%、85%、87.5%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%未満である。いくつかの実施形態において、アルカリ性成分の割合（%）は、例えば、cIEFにより測定すると、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%

10

20

30

40

50

、72.5%、75%、77.5%、80%、82.5%、85%、87.5%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%未満である。

【0240】

いくつかの実施形態において、抗体、その抗原結合断片、抗原結合タンパク質構築物（例えば、抗TROP2、HER2抗体、若しくは二重特異性抗体）、又は、それに由来するADCの細胞殺傷能は、（例えば、NCI-N87又はNCI-H292細胞内での）IC50（ng/mL）により測定される。いくつかの実施形態において、IC50は、2、5、10、20、30、40、50、100、200、500、1000、2000、5000、10000、20000、又は50000ng/mL超である。いくつかの実施形態において、IC50は、2、5、10、20、30、40、50、100、200、500、1000、2000、5000、10000、20000、50000、100000、200000、又は500000ng/mL未満である。

10

【0241】

いくつかの実施形態において、抗体、その抗原結合断片、抗原結合タンパク質構築物（例えば、抗TROP2、HER2抗体、若しくは二重特異性抗体）、又は、それに由来するADCは、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、又は200%超の、腫瘍増殖阻害割合（TGI%）を有する。いくつかの実施形態において、抗体は、60%、70%、80%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、又は200%未満の、腫瘍増殖阻害割合を有する。TGI%は、例えば、治療の開始の3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、若しくは30日後、又は治療の開始の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、若しくは12ヶ月後に、測定することができる。本明細書で使用する場合、腫瘍増殖阻害割合（TGI%）は、以下の式を用いて計算される：

20

$$TGI(\%) = [1 - (Ti - T0) / (Vi - V0)] \times 100$$

【0242】

Tiは、i日目における、治療群での平均腫瘍体積である。T0は、0日目における、治療群での平均腫瘍体積である。Viは、i日目における、対照群での平均腫瘍体積である。V0は、0日目における、対照群での平均腫瘍体積である。

30

【0243】

Fc領域抗体、その抗原結合断片、又は抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）は、機能性Fc領域を有する。いくつかの実施形態において、機能的Fc領域のエフェクター機能は、抗体依存性細胞傷害（ADCC）である。いくつかの実施形態において、機能的Fc領域のエフェクター機能はファゴサイトーシスである。いくつかの実施形態において、機能的Fc領域のエフェクター機能はADCC及びファゴサイトーシスである。いくつかの実施形態において、Fc領域は、ヒトIgG1、ヒトIgG2、ヒトIgG3、又はヒトIgG4である。いくつかの実施形態において、1つ又は両方の変異S239D及び／又はI332E（SI変異）が、抗体Fc領域に導入され、FcγRIIAへの抗体親和性が増強され、それにより、ADCC効果が増大する。SI変異の詳細の説明は、US7662925に見出すことができ、本明細書は、その全体が参照により組み込まれている。

40

【0244】

Fc領域抗体、その抗原結合断片、又は抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）は、機能性Fc領域は、機能性Fc領域を有しない。例えば、抗体又は抗原結合断片は、Fab、Fab'、F(ab')2、及びFv断片である。

【0245】

50

いくつかの実施形態において、抗体、そのその抗原結合断片、又は抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）は、抗体薬物コンジュゲートに組み込まれている。

【0246】

組み換えベクター

本開示はまた、本明細書で開示される単離ポリヌクレオチド（例えば、本明細書で開示されるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド）を含む組み換えベクター（例えば、発現ベクター）、組み換えベクターが導入された宿主細胞（即ち、当該宿主細胞が、ポリヌクレオチド、及び／又は、ポリヌクレオチドを含むベクターを含有するように）、並びに、組み換え技術による、組み換え抗体ポリペプチド又はその断片の産生を提供する。

【0247】

本明細書で使用する場合、「ベクター」とは、ベクターが宿主細胞に導入されたときに、宿主細胞に、対象となる1つ以上のポリヌクレオチドを送達することができる、任意のコンストラクトである。「発現ベクター」は、対象となる1つ以上のポリヌクレオチドを、発現ベクターが導入されている宿主細胞内で、コードされたポリペプチドとして送達し、発現することが可能である。したがって、発現ベクター内では、対象となるポリヌクレオチドが、発現ベクターと共に導入された宿主細胞内で翻訳されるように、対象となるポリヌクレオチドの組み込み部位において、又はこの付近で、又はこれに隣接して、ベクター内、又は宿主細胞のゲノムのいずれかにて、プロモーター、エンハンサー、及び／又はポリAテールなどの制御エレメントと作動可能に結合されることにより、ベクター内での発現のために、対象となるポリヌクレオチドが配置される。

【0248】

当該技術分野において周知の方法、例えば、電気穿孔法、化学トランスフェクション（例えば、DEAE-デキストラン）、形質転換、トランスフェクション、並びに、感染及び／又は形質導入（例えば、組み換えウイルスによる）により、ベクターを宿主細胞に導入することができる。したがって、ベクターの非限定例としては、ウイルスベクター（組み換えウイルスを生成するために使用可能なもの）、ネイキッドDNA又はRNA、プラスミド、コスミド、ファージベクター、及び、カチオン性縮合剤と会合したDNA又はRNA発現ベクターが挙げられる。

【0249】

いくつかの実施態様において、本明細書で開示されるポリヌクレオチド（例えば、本明細書で開示されるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド）を、ウイルス発現系（例えば、痘疹若しくは他のボックスウイルス、レトロウイルス、又はアデノウイルス）を用いて導入し、これには、非病原性（欠損型）の複製可能なウイルスの使用を伴う場合があるか、又は、複製不能ウイルスを用いる場合がある。後者の場合、ウイルス増殖は一般的に、補完的なウイルスパッケージング細胞においてのみ生じる。例えば、Fisher-Hoch et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:317-321, Flexner et al., 1989, Ann. N.Y. Acad. Sci. 569:86-103, Flexner et al., 1990, Vaccine, 8:17-21、米国特許第4,603,112号、同第4,769,330号、及び同第5,017,487号、WO 89/01973、米国特許第4,777,127号、GB 2,200,651、EP 0,345,242、WO 91/02805、Berkner-Biotechniques, 6:616-627, 1988; Rosenfeld et al., 1991, Science, 252:431-434; Kolls et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91:215-219; Kass-Eisler et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:11498-11502; Guzman et al., 1993, Circulation, 88:2838-2848; and Guzman et al., 1993, Cir. Res., 73:1202-1207において、好適なシステムが開示されている。DNAを、このような発現系に組み込む技術は、当業者に周知である。DNAはまた、例えば、Ulmer et a

10

20

30

40

50

l., 1993, Science, 259:1745-1749, and Cohen, 1993, Science, 259:1691-1692に記載されているように、「ネイキッド」であってもよい。DNAを、細胞に効率的に輸送される生分解性ビーズにコーティングすることにより、ネイキッドDNAの取り込みを増大させることができる。

【0250】

発現のために、本明細書で開示する、抗体をコードする、又は、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むDNAインサートを、いくつかの例を挙げると、ファージλ PLプロモーター、大腸菌 lac、trp 及び tac プロモーター、SV40 初期及び後期プロモーター、並びに、レトロウイルス型LTRのプロモーターなどの適切なプロモーター（例えば、異種プロモーター）に作動可能に連結することができる。他の好適なプロモーターが、当業者には既知である。発現コンストラクトは更に、転写開始及び終了のための部位、並びに、転写領域内に、翻訳のためのリボソーム結合部位を含有することができる。コンストラクトにより発現した成熟転写物のコード部分は、先頭に翻訳開始、及び翻訳されるポリペプチドの末端部におおよそ配置される終止コドン（UAA、UGA又はUAG）を含むことができる。

10

【0251】

示したように、発現ベクターは、少なくとも1つの選択可能なマーカーを含むことができる。このようなマーカーとしては、真核細胞培養のためのジヒドロ葉酸レダクターゼ、又はネオマイシン耐性、並びに大腸菌及び他の細菌培養のためのテトラサイクリン又はアンピシリン耐性遺伝子が挙げられる。適切な宿主の代表例としては、大腸菌、ストレプトミセス、及びネズミチフス菌細胞などの細菌細胞、酵母細胞などの真菌細胞、ショウジョウバエS2及びハスモンヨトウスf9細胞などの昆虫細胞、CHO、COS、Bowes 黒色腫、及びHK 293細胞などの動物細胞、並びに、植物細胞が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書に記載する宿主細胞に対する、適切な培養培地及び条件は、当該技術分野において周知である。

20

【0252】

細菌で用いるための非限定的なベクターとしては、Qiagenから入手可能なpQE 70、pQE 60及びpQE-9、Stratageneから入手可能なpBSベクター、Phagescriptベクター、Bluescriptベクター、pNH8A、pNH16a、pNH18A、pNH46A；及び、Pharmaciaから入手可能なptrc99a、pKK223-3、pKK233-3、pDR540、pRIT5が挙げられる。非限定的な真核細胞ベクターとしては、Stratageneから入手可能なpWLNEO、pSV2CAT、pOG44、pXT1、及びpSG、並びに、Pharmaciaから入手可能なpSVK3、pBPV、pMSG、及びpSVLが挙げられる。他の好適なベクターは、当業者には容易に明らかであろう。

30

【0253】

使用に好適な、非限定的な細菌プロモーターとしては、大腸菌 lacI 及び lacZ プロモーター、T3 及び T7 プロモーター、gpt プロモーター、λPR 及び PL プロモーター、並びに trp プロモーターが挙げられる。好適な真核細胞プロモーターとしては、CMV 前初期プロモーター、HSV チミジンキナーゼプロモーター、初期及び後期 SV40 プロモーター、ラウス肉腫ウイルス (RSV) のものなどの、レトロウイルス型LTRのプロモーター、及び、マウスメタロチオネイン-I プロモーターなどのメタロチオネインプロモーターが挙げられる。

40

【0254】

酵母菌サッカロマイセス・セレビシエにおいて、アルファ因子、アルコールオキシダーゼ、及びPGHなどの、体質性又は誘導性プロモーターを含有する、いくつかのベクターを使用してもよい。レビューに関しては Ausubel et al. (1989) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, N. Y., and Grant et al., Methods Enzymol., 153:516-544 (1997)

50

)を参照されたい。

【0255】

コンストラクトの宿主細胞への導入は、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介性トランスフェクション、カチオン性脂質媒介性トランスフェクション、電気穿孔法、形質導入、感染、又は他の方法により行うことができる。このような方法は、Davis et al., Basic Methods In Molecular Biology (1986)などの、多くの標準的な実験室用マニュアルに記載されており、その全体が本明細書に参照により組み込まれている。

【0256】

より多くの真核生物による、本開示の抗体をコードするDNAの転写は、エンハンサー配列をベクターに挿入することで増大させることができる。エンハンサーは、通常、所与の宿主細胞型において、プロモーターの転写活性を増大させる役割を果たす、約10～300bpの、DNAのcis作用型エレメントである。エンハンサーの例としては、塩基対100～270において、複製起点の後ろ側に位置する、SV40エンハンサー、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、複製起点の後ろ側のポリオーマエンハンサー、及び、アデノウイルスエンハンサーが挙げられる。

【0257】

翻訳されたタンパク質を、小胞体の内腔、ペリプラズム空間、又は、細胞外環境に分泌させるために、適切な分泌シグナルを、発現したポリペプチドに組み込むことができる。シグナルは、ポリペプチドに対して内因性であることができる、又は、シグナルは、異種シグナルであることができる。

【0258】

ポリペプチド（例えば、抗体）は、融合タンパク質（例えば、GST融合物）などの修飾形態で、又は、ヒスチジンタグにより発現することができ、分泌シグナルだけでなく、追加の異種機能領域もまた含むことができる。例えば、追加のアミノ酸、特に、荷電アミノ酸の領域を、ポリペプチドのN末端に付加して、精製中に、又は、その後の取り扱い及び貯蔵の間に、宿主細胞での安定性及び耐久力を改善することができる。また、ペプチド部分をポリペプチドに付加して、精製を促進することができる。このような領域は、ポリペプチドの最終調製前に取り除くことができる。ペプチド部分をポリペプチドに付加して、とりわけ、分泌又は排泄を生じさせ、安定性を改善し、精製を促進することは、周知かつ日常的な当該技術である。

【0259】

本開示は、本明細書に記載する任意のヌクレオチド配列と、少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一である核酸配列、及び、本明細書に記載する任意のアミノ酸配列と、少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一であるアミノ酸配列もまた提供する。

【0260】

本開示は、本明細書に記載する任意のヌクレオチド配列と、少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%の相同性を有する核酸配列、及び、本明細書に記載する任意のアミノ酸配列と、少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、9

6 %、97 %、98 %、99 %の相同性を有するアミノ酸配列もまた提供する。

【0261】

いくつかの実施形態において、本開示は、本明細書に記載する任意のペプチドをコードするヌクレオチド配列、又は、本明細書に記載する任意のヌクレオチド配列によりコードされる任意のアミノ酸配列に関する。いくつかの実施形態において、核酸配列は、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、150、200、250、300、350、400、500、又は600ヌクレオチド未満である。いくつかの実施形態において、アミノ酸配列は、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、250、300、350、又は400アミノ酸残基未満である。

10

【0262】

いくつかの実施形態において、アミノ酸配列は、(i) アミノ酸配列を含み；又は、(ii) アミノ酸配列からなり、上記アミノ酸配列は、本明細書に記載する配列のいずれか1つである。

【0263】

いくつかの実施形態において、核酸配列は、(i) 核酸配列を含み；又は、(ii) 核酸配列からなり、上記核酸配列は、本明細書に記載する配列のいずれか1つである。

【0264】

2つのアミノ酸配列、又は、2つの核酸配列の同一性パーセントを測定するために、最適に比較するために配列をアライメントする（例えば、比較するために、最適にアライメントするように第1及び第2のアミノ酸又は核酸配列の1つ又は両方にギャップを導入してもよく、非相同配列を無視してもよい）。続いて、対応するアミノ酸位置又はヌクレオチド位置にあるアミノ酸残基又はヌクレオチドを比較する。第1の配列の位置が第2の配列の対応する位置のアミノ酸残基又はヌクレオチドと同じものによって占められている場合、分子はその位置で同一であるとする（本明細書で使用されるように、アミノ酸又は核酸の「同一性」はアミノ酸又は核酸の「相同性」に相当する）。2つの配列間の同一性パーセントは、2つの配列を最適にアライメントするために導入される必要のあるギャップの数及び各ギャップの長さを考慮して、配列に共有される同一の位置の数の関数である。例えば、2つの配列間の配列比較及び同一性パーセントの測定は、ギャップペナルティ12、ギャップ伸長ペナルティ4、及び、フレームシフトギャップペナルティ5の、B l o s s u m 6 2スコアリングマトリックスを用いて実施することができる。

20

30

【0265】

配列相同性（例えば、アミノ酸配列相同性又は核酸相同性）の割合（%）もまた、測定することができる。配列相同性の割合（%）の測定方法は、当該技術分野において周知である。いくつかの実施形態において、類似の物理化学的性質（%相同性）で保存されたアミノ酸残基、例えば、ロイシン及びイソロイシンを使用して、配列類似性を測定することができる。同様の物理化学的特性を有するアミノ酸残基のファミリーは、当該技術分野において定義されている。これらのファミリーとしては、例えば、塩基性側鎖を有するアミノ酸（例えばリジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖を有するアミノ酸（例えばアスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖を有するアミノ酸（例えばグリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖を有するアミノ酸（例えばアラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、β分岐側鎖を有するアミノ酸（例えばトレオニン、バリン、イソロイシン）、及び芳香族側鎖を有するアミノ酸（例えばチロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が挙げられる。多くの場合、相同性割合は、同一性割合よりも高くなる。

40

【0266】

本開示は、本明細書に記載するポリペプチドのいずれかをコードする1つ以上の核酸を提供する。いくつかの実施形態において、核酸（例えば、cDNA）は、本明細書に記載

50

する重鎖のポリペプチド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において、核酸は、本明細書に記載する軽鎖のポリペプチド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において、核酸は、本明細書に記載する s c F v ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む。

【0267】

いくつかの実施形態において、ベクターは、本明細書に記載する核酸のうちの2つを有することができ、ベクターは、共に H E R 2 に結合する、V L 領域及び V H 領域領域をコードする。いくつかの実施形態において、一对のベクターを提供し、各ベクターは、本明細書に記載する核酸のうちの1つを含み、ベクターの対は共に、共に H E R 2 に結合する V L 領域及び V H 領域領域をコードする。いくつかの実施形態において、ベクターは、本明細書に記載する核酸のうちの2つを含み、ベクターは、共に T R O P 2 に結合する、V L 領域及び V H 領域領域をコードする。いくつかの実施形態において、一对のベクターを提供し、各ベクターは、本明細書に記載する核酸のうちの1つを含み、ベクターの対は共に、共に T R O P 2 に結合する V L 領域及び V H 領域領域をコードする。いくつかの実施形態において、V L 領域は同一である。

10

【0268】

ベクターはまた、特定の抗体又はポリペプチドを発現するように構築することもできる。いくつかの実施形態において、抗 H E R 2 抗体の軽鎖 (H E R 2 - K) 及び重鎖 (H E R 2 - H) を同時発現するように、ベクターを構築することができる。いくつかの実施形態において、ベクターは、5' 末端から 3' 末端に向けて、サイトメガロウイルスプロモーター (C M V)、H E R 2 - K、ポリアデニル化 (ポリ A)、C M V、H E R 2 - H、サル空胞ウイルス 40 ターミネーター (S V 40)、及びグルタミンシンセターゼマーカ (G S) の配列を含有することができる。いくつかの実施形態において、抗 T R O P 2 抗体の軽鎖 (T R O P 2 - K) 及び抗 T R O P 2 抗体重鎖 (T R O P 2 - H) を同時発現するように、ベクターを構築することができる。いくつかの実施形態において、ベクターは、5' 末端から 3' 末端に向けて、C M V、H E R 2 - K、ポリ A、H E R 2 - H、S V 40、及び G S の配列を含有することができる。いくつかの実施形態において、ベクターは、抗 T R O P 2 抗体 s c F v ポリペプチド鎖を発現するように構築することができる。

20

【0269】

抗体、抗原結合断片、及び、抗原結合タンパク質構築物の作製方法

30

ヒトタンパク質の単離断片を、免疫原として使用し、ポリクローナル及びモノクローナル抗体調製のための標準的な技術を用いて抗体を生成することができる。ポリクローナル抗体は、抗原ペプチド又はタンパク質を複数回注射 (例えば、皮下又は腹腔内注射) することにより、動物で生じさせることができる。いくつかの実施形態において、抗原ペプチド又はタンパク質は、少なくとも 1 つのアジュバントと共に注射される。いくつかの実施形態において、抗原ペプチド又はタンパク質は、免疫化される種において免疫原性である薬剤とコンジュゲートすることができる。動物には、抗原ペプチド又はタンパク質を 2 回以上 (例えば、2 回、3 回、又は 4 回) 注射することができる。

【0270】

全長ポリペプチド又はタンパク質を用いることができるか、或いは、その抗原ペプチド断片を、免疫原として用いることができる。タンパク質の抗原ペプチドは、タンパク質のアミノ酸配列の、少なくとも 8 (例えば、少なくとも 10、15、20、又は 30) 個のアミノ酸残基を含み、ペプチドに対して生成された抗体が、タンパク質との特異的な免疫複合体を形成するように、タンパク質のエピトープを包含する。

40

【0271】

免疫原は典型的には、好適な対象 (例えば、少なくとも 1 つのヒト免疫グロブリン座位を発現するヒト又はトランスジェニック動物) を免疫付与することによる抗体の調製のために使用される。適切な免疫原性調製物は、例えば、組み換えにより発現した、又は、化学的に合成されたポリペプチドを含有することができる。調製物は、フロイント完全若しくは不完全アジュバントなどのアジュバント、又は、同様の免疫刺激剤を更に含むことが

50

できる。

【0272】

好適な対象に、ポリペプチド、又はその抗原ペプチド（例えば、タンパク質の一部）を免疫原として免疫付与することにより、上述のとおりポリクローナル抗体を調製することができる。不動態化されたポリペプチド又はペプチドを用いる、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）などの標準的な技術により、免疫付与された対象における抗体力価を、経時的にモニタリングすることができる。所望する場合、抗体分子を哺乳動物から（例えば、血液から）単離し、タンパク質GクロマトグラフィーのプロテインAなど、周知の技術により更に精製して、IgG画分を入手することができる。免疫付与後の適切な時期、例えば、特異的抗体の力価が最大となるときにおいて、抗体産生細胞を対象から入手し、これを用いて、Kohler et al. (Nature 256: 495-497, 1975) により元々記載されているハイブリドーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術（Kozbor et al., Immunol. Today 4: 72, 1983）、及び、EBV-ハイブリドーマ技術（Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96, 1985）、又はトリオーマ技術などの、標準的な技術により、モノクローナル抗体を調製することができる。ハイブリドーマを産生する技術は周知である（一般的には、Current Protocols in Immunology, 1994, Coligan et al. (Eds.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY) を参照されたい）。例えば、標準的なELISAアッセイを用い、対象となるポリペプチド又はエピトープに結合する抗体用のハイブリドーマ培養上清液をスクリーニングすることにより、モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞が検出される。

【0273】

適切なヌクレオチドの変化を、ヒト、ヒト化、若しくはキメラ抗体、又は、本明細書に記載する抗体若しくはその抗原結合断片をコードするDNAに導入することにより、或いは、ペプチド合成により本明細書に記載する抗体又は抗原結合断片の変異体を調製することができる。このような変異体としては、例えば、抗体の抗原結合部位又は抗原結合ドメインを製造する配列のアミノ酸内での、残基の欠失、挿入、又は置換が挙げられる。このような変異体の集団において、抗体又は抗原結合断片の中には、標的タンパク質に対する親和性が増大するものもある。欠失、挿入、及び／又は組み合わせの任意の組み合わせを、標的に対して結合親和性が増大した、抗体又はその抗原結合断片において実現することができる。グリコシル化部位の数の変化（例えば、増加若しくは減少）、グリコシル化部位の種類の変化（例えば、異なる糖が、細胞内に存在する酵素により結合されるように、アミノ酸配列を変化させること）、又は、新規のグリコシル化部位を導入することなどの、抗体又は抗原結合断片に導入したアミノ酸の変化によって、抗体又は抗原結合断片を変化させる、又は、抗体又は抗原結合断片に、新規の翻訳後修飾を導入することができる。

【0274】

本明細書で開示する抗体は、哺乳動物を含む、動物の任意の種に由来することができる。天然抗体の非限定例としては、ヒト、霊長類、例えば、サル及び類人猿、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ラクダ科動物（例えば、ラクダ及び라마）、ニワトリ、ヤギ、並びに、ヒト抗体を産生するように遺伝子組み換えされたトランスジェニック齧歯類を含む、齧歯類（例えば、ラット、マウス、ハムスター、及びウサギ）に由来する抗体が挙げられる。

【0275】

ファージディスプレイ（パニング）を使用して、所望の結合親和性を有する抗体配列を最適化することができる。この技術では、（VH又はVLを含む）一本鎖Fvをコードする遺伝子を、ファージコートタンパク質遺伝子に挿入し、ファージに、その内側に、タンパク質用の遺伝子を含有しながら、その外側に、scFvを「表示」させるようにし、遺伝子型と表現型の連結をもたらすことができる。表示された抗原結合部位と、標的抗原との相互作用を検出するために、ファージを表示するものを次に、標的抗原に対してスクリ

ーニングすることができる。したがって、タンパク質の大型ライブラリを、*in vitro* 選択と呼ばれるプロセスでスクリーニング及び増幅させることができ、所望の結合親和性を有する抗体配列を入手することができる。

【0276】

ヒト及びヒト化抗体としては、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来する（又は、これに由来するものと同じアミノ酸配列を有する）可変及び定常領域を有する抗体が挙げられる。ヒト抗体としては、例えばCDR内に、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列（例えば、*in vitro*でのランダム若しくは部位特異的突然変異誘発、又は*in vivo*での体細胞突然変異により導入された変異）によりコードされないアミノ酸残基を挙げることができる。

10

【0277】

いくつかの実施形態において、共有修飾を、抗体、その抗原結合断片、又は抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）に加えることができる。これらの共有結合修飾は、化学若しくは酵素合成により、又は、酵素又は化学切断により加えることができる。抗体又は抗体断片の、他の種類の共有結合修飾を、抗体又は断片の標的とされたアミノ酸残基を、選択された側鎖、又は、N若しくはC末端残基と反応可能な、有機誘導体化剤と反応させることにより、分子に導入する。

【0278】

いくつかの実施形態において、Fc領域に（直接又は間接的に）結合したフコースを欠く炭水化物構造を有する抗体変異体を提供する。例えば、そのような抗体におけるフコースの量は、1%～80%、1%～65%、5%～65%、又は20%～40%であってよい。フコースの量は、例えば、WO 2008/077546に記載のMALDI-TOF質量分析によって測定される、Asn297に結合した全ての糖構造（例えば、複合体、ハイブリッド、及び高マンノース構造）の合計に対する、Asn297での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領域内の位置297（Fc領域残基のEuの付番、又は、Kabatsの付番における位置314）に位置するアスパラギン残基を指し、しかし、Asn297はまた、抗体における微小な配列変動に起因して、位置297から約±3アミノ酸の上流又は下流、即ち、位置294～位置300の間に位置してもよい。そのようなフコシル化変異体は、改善されたADCC機能を有し得る。いくつかの実施形態において、グリカンの不均質性を低減するために、抗体のFc領域を更に組み換え、位置297におけるアスパラギンをアラニンで置き換える（N297A）。

20

30

【0279】

いくつかの実施形態において、Fab-アーム交換を避けることで産生効率を促進するために、抗体のFc領域を更に組み換え、IgG4の位置228（EUの付番）におけるセリンを、プロリンで置き換える（S228P）。S228変異に関する詳細の説明は、例えば、Silva et al. 「The S228P mutation prevents *in vivo* and *in vitro* IgG4 Fab-arm exchange as demonstrated using a combination of novel quantitative immunoassays and physiological matrix preparation.」 *Journal of Biological Chemistry* 290.9 (2015): 5462-5469で説明されており、その全体が参照により組み込まれている。

40

【0280】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載する方法は、二重特異性抗体を作製するように設計されている。一对の抗体分子の間の界面を組み換えて、組み換え細胞培養液から回収したヘテロ二量体の割合を最大化することにより、二重特異性抗体を製造することができる。例えば、界面は、少なくとも、抗体定常ドメインのCH3ドメインの一部を含むことができる。この方法では、第1の抗体分子の界面からの1つ以上の小さいアミノ酸側鎖が、より大きな側鎖（例えばチロシン又はトリプトファン）で置き換えられる。

50

大きなアミノ酸側鎖を小さいもの（例えばアラニン又はトレオニン）で置き換えることにより、大きな側鎖と同じ又は同様のサイズの代償性「キャビティ」を、第2の抗体分子の界面に作り出す。これにより、ホモ二量体などの不要の他の最終産物よりも、ヘテロ二量体の収率を増大させるメカニズムが提供される。本方法は、例えば、WO 96/27011に記載されており、その全体が参照により組み込まれている。

【0281】

いくつかの実施形態において、ノブイントゥホール（KIH）技術を使用することができ、これは、CH3ドメインを組み換えて、各重鎖に「ノブ」又は「ホール」のいずれかを作製し、ヘテロ二量体化を促進することを伴う。KIH技術は、例えば、Xu, Yiren, et al. Production of bispecific antibodies in 'knobs-into-holes' using a cell-free expression system. MAbs. Vol. 7. No. 1. Taylor & Francis, 2015に記載されており、その全体が本明細書に参照により組み込まれている。いくつかの実施形態において、1の重鎖は、T366W、及び／又はS354C（ノブ）置換（EU付番）を有し、他の重鎖は、Y349C、T366S、L368A、及び／又は、Y407V（ホール）置換（EU付番）を有する。いくつかの実施形態において、1の重鎖は、置換Y349C及びT366W（EU付番）の1つ以上を有する。他の重鎖は、1つ以上の置換E356C、T366S、L368A、及びY407V（EU付番）を有することができる。さらに、置換（-ppcpScp- > -ppcpPcp-）を、両方の置換IgGのヒンジ領域に導入することも可能である。

10

20

【0282】

さらに、陰イオン交換クロマトグラフィーを使用して、二重特異性抗体を精製することができる。陰イオン交換クロマトグラフィーは、ジエチルアミノエチル基（DEAE）などの、正に荷電した基を含有するイオン交換樹脂を用い、それらの電荷に基づき物質を分離するプロセスである。溶液中で、樹脂に、正に帯電した対イオン（カチオン）をコーティングさせる。陰イオン交換樹脂は、負に帯電した分子に結合し、対イオンを置き換える。陰イオン交換クロマトグラフィーを使用して、等電点（pI）に基づきタンパク質を精製することができる。等電点は、タンパク質が実効電荷を有しないpHとして定義される。pH > pIであるとき、タンパク質は負の実効電荷を有し、pH < pIであるとき、タンパク質は正の実効電荷を有する。したがって、いくつかの実施形態において、異なるアミノ酸置換を2つの重鎖に導入することができ、2つのアームAを含むホモ二量体に対するpI、及び、2つのアームBを含むホモ二量体に対するpIが異なるようになる。アームA及びアームBを有する二重特異性抗体に対するpIは、ホモダイマーの2つのpIの間のどこかにある。したがって、2つのホモダイマー、及び二重特異性抗体は、異なるpH条件で放出される可能性がある。いくつかのアミノ酸残基置換を重鎖に導入して、pIを調節することができることを、本開示は示す。

30

【0283】

二重特異性抗体としては、例えば、架橋又は「ヘテロコンジュゲート」抗体もまた挙げることができる。例えば、ヘテロコンジュゲート内の抗体の一方をアビジンに、そして、他方をビオチンに、結合させることができる。ヘテロコンジュゲート抗体は、任意の便利な架橋法を用いてもまた、製造することができる。好適な架橋剤及び架橋技術が、当該技術分野において周知であり、米国特許第4,676,980号に開示されており、その全体が本明細書に参照により組み込まれている。

40

【0284】

治療方法

本明細書に記載の方法は、癌と関連する障害の治療方法を含む。一般に、方法は、治療に有効な量の、本明細書に記載する組み換え抗体、その抗原結合断片、抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）、又は抗体薬物コンジュゲートを、そのような治療を必要とする、又は、そのような治療を必要とすることが測定されている対象に投与することを含む。

50

【0285】

本文脈中で使用される場合、「治療」とは、癌と関連する障害の少なくとも1つの症状を緩和することを意味する。多くの場合、癌は死をもたらす。故に、治療は、（例えば、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12ヶ月、又は、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10年の）平均余命の増加をもたらすことができる。癌と関連する状態の治療のために、治療に有効な量の、本明細書に記載する剤を投与することによって、癌細胞の数の減少、及び／又は、症状の緩和がもたらされる。

【0286】

本明細書で使用する場合、「癌」という用語は、自律増殖能を有する細胞、即ち、急速に増殖する細胞増殖を特徴とする異常な状況又は状態を意味する。この用語は、組織変化の種類又は侵襲性のステージに関係なく、あらゆる種類の癌性増殖又は発癌性プロセス、転移性組織又は悪性形質転換細胞、組織、又は器官を含むことを意味する。本明細書で使用する場合、「腫瘍」という用語は、癌性細胞、例えば、癌性細胞の塊を意味する。本明細書に記載の方法を用いて治療又は診断可能な癌としては、肺、胸、甲状腺、リンパ系、胃腸、及び尿生殖器に影響を与えるなどの、様々な器官系の悪性腫瘍、加えて、大部分の大腸癌、腎細胞癌、前立腺癌及び／又は精巣腫瘍、肺の非小細胞癌、小腸癌、並びに食道癌などの悪性腫瘍を含む腺癌が挙げられる。いくつかの実施形態において、本明細書に記載する剤は、被験体における癌腫を治療又は診断するために設計される。「癌腫」という用語は当該技術分野において認知されており、呼吸器系癌、消化器系癌、泌尿生殖器系癌、精巣癌、乳癌、前立腺癌、内分泌系癌、及び黒色腫を含む、上皮又は内分泌腺組織の悪性腫瘍を意味する。いくつかの実施形態において、癌は腎癌又は黒色腫である。例示的な癌腫としては、食道、子宮頸、肺、前立腺、胸、頭頸、結腸、及び卵巣の組織から形成される癌腫が挙げられる。この用語は、例えば、癌性及び肉腫性組織で構成される悪性腫瘍を含む癌肉腫もまた含む。「腺癌」とは、腺組織に由来する癌腫、又は、腫瘍細胞が認識可能な腺構造を形成する癌腫を意味する。「肉腫」という用語は当該技術分野において認知されており、間葉由来の悪性腫瘍を意味する。いくつかの実施形態において、癌は、化学療法耐性癌である。

【0287】

一態様では、本開示はまた、対象における癌の治療方法、対象における腫瘍体積の増加速度を、経時的に下げる方法、転移が生じるリスクを軽減する方法、又は、対象において更なる転移が生じるリスクを軽減する方法を提供する。いくつかの実施形態において、治療によって、癌の進行を中断させる、遅くする、阻止する、又は阻害することができる。いくつかの実施形態において、治療によって、対象における癌の1つ以上の症状の数、重症度、及び／又は持続期間の軽減をもたらすことができる。

【0288】

一態様では、本開示は、治療に有効な量の、本明細書に記載する抗体、その抗原結合断片、抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）、又は抗体薬物コンジュゲートを、必要とする対象、例えば、癌、例えば、乳癌、カルチノイド、子宮頸癌、結腸直腸癌、子宮体癌、神経膠腫、頭頸癌、肝癌、肺癌、リンパ腫、黒色腫、卵巣癌、膀胱癌、前立腺癌、腎癌、皮膚癌、胃癌、食道癌腫、精巣癌、甲状腺癌、又は尿路上皮癌を有する、又は、これを有すると識別若しくは診断された対象に投与することを含む、方法に関する。

【0289】

本明細書で使用する場合、「対象」及び「患者」という用語は、明細書を通して同じ意味で用いられ、本発明の方法に従った治療が提供される動物、ヒト、又は非ヒトを表す。獣医学的及び非獣医学的用途が、本発明により想到される。ヒト患者は、成人のヒト又は若年のヒト（例えば、18歳未満のヒト）であることができる。ヒトに加えて、患者としては、マウス、ラット、ハムスター、モルモット、ウサギ、フェレット、ネコ、イヌ、及び霊長類が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、非ヒト霊長類（例えば、サル、チンパンジー、ゴリラなど）、齧歯類（例えば、ラット、マウス、スナネズミ、ハムス

ター、フェレット、ウサギ）、ウサギ科動物、ブタ科動物（例えば、ブタ、ミニブタ）、ウマ科動物、イヌ科動物、ネコ科動物、ウシ科動物、並びに、他の家庭用、家畜用、及び動物園用動物が挙げられる。いくつかの実施形態において、対象はヒトである。いくつかの実施形態において、対象はイヌである。

【0290】

いくつかの実施形態において、癌は、甲状腺癌、尿路上皮癌、乳癌、結腸直腸癌、腎癌、子宮頸癌、卵巣癌、肺癌、子宮体癌、皮膚癌、胃癌、食道癌腫、膵癌、前立腺癌、肝癌、リンパ腫、又は神経膠腫である。

【0291】

いくつかの実施形態において、癌は、子宮頸癌、前立腺癌、甲状腺癌、尿路上皮癌、頭頸癌、子宮体癌、卵巣癌、肺癌、乳癌、カルチノイド、皮膚癌、肝癌、又は精巣癌である。

10

【0292】

いくつかの実施形態において、癌は、膵臓癌、肺癌、胃癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、大腸癌、皮膚癌、又は脳腫瘍である。

【0293】

いくつかの実施形態において、本明細書で開示される組成物及び方法を、癌のリスクを有する患者の治療に用いることができる。癌を患う患者は、当該技術分野において周知の様々な方法で同定することができる。

【0294】

本明細書で使用される場合、「有効量」とは、疾患、例えば、癌の進行を中断する、遅らせる、阻止する、又は阻害することを含む、有益な、又は所望の結果をもたらすのに十分な量又は用量を意味する。有効量は、例えば、抗体、抗原結合断片、抗体薬物コンジュゲート、抗体をコードするポリヌクレオチド、そのポリヌクレオチドを含むベクター、並びに／又はその組成物が投与される対象の年齢及び体重、症状の重症度、及び投与経路に応じて変化し、故に、投与は、個別に決定することができる。

20

【0295】

有効量は、1回以上の投与で投与することができる。例えば、有効量の抗体、抗原結合断片、又は、抗体薬物コンジュゲートとは、患者における自己免疫疾患若しくは癌の進行を緩和する、停止する、安定させる、逆転させる、阻害する、遅くする、及び／若しくは遅延させるのに十分な量、又は、*in vitro*で、細胞（例えば、生検細胞、本明細書に記載される癌細胞のいずれか、若しくは細胞株（例えば、癌細胞株））の増殖を緩和する、停止する、安定させる、逆転させる、遅くする、及び／若しくは遅延させるのに十分な量である。当該技術分野において理解されるように、有効量の抗体、抗原結合断片、又は、抗体薬物コンジュゲートは、とりわけ、患者の病歴、加えて、用いた組成物の種類（及び／又は、用量）などの、他の因子に応じて変化する可能性がある。

30

【0296】

本明細書で開示される抗体、抗体をコードするポリヌクレオチド、抗体薬物コンジュゲート、及び／又は組成物を投与するための有効量及びスケジュールは、実験によって決定することができる。このような決定を行うことは、当業者の範囲内である。当業者は、投与される必要がある用量は、例えば、本明細書で開示する抗体、抗体をコードするポリヌクレオチド、抗体薬物コンジュゲート、及び／若しくは組成物を受ける哺乳動物、投与経路、抗体の具体的な種類、抗体をコードするポリヌクレオチド、抗原結合断片、抗体薬物コンジュゲート、並びに／又は、使用される、本明細書で開示する組成物、及び、哺乳動物に投与される他の薬剤に応じて変化することを理解するであろう。

40

【0297】

有効量の抗体、その抗原結合断片、抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）、又は、抗体薬物コンジュゲートの、典型的な日用量は、 $0.01\text{ mg/kg} \sim 100\text{ mg/kg}$ である。いくつかの実施形態において、用量は、 100 mg/kg 、 10 mg/kg 、 9 mg/kg 、 8 mg/kg 、 7 mg/kg 、 6 mg/kg 、 5 mg/kg 、

50

4 mg/kg、3 mg/kg、2 mg/kg、1 mg/kg、0.5 mg/kg、又は0.1 mg/kg未満であることができる。いくつかの実施形態において、用量は、10 mg/kg、9 mg/kg、8 mg/kg、7 mg/kg、6 mg/kg、5 mg/kg、4 mg/kg、3 mg/kg、2 mg/kg、1 mg/kg、0.5 mg/kg、0.1 mg/kg、0.05 mg/kg、又は0.01 mg/kg超であることができる。いくつかの実施形態において、用量は、約、又は少なくとも10 mg/kg、9 mg/kg、8 mg/kg、7 mg/kg、6 mg/kg、5 mg/kg、4 mg/kg、3 mg/kg、2 mg/kg、1 mg/kg、0.9 mg/kg、0.8 mg/kg、0.7 mg/kg、0.6 mg/kg、0.5 mg/kg、0.4 mg/kg、0.3 mg/kg、0.2 mg/kg、又は0.1 mg/kgである。

10

【0298】

本明細書に記載される方法のいずれかでは、少なくとも1つの抗体、その抗原結合断片、又は、抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）、抗体薬物コンジュゲート、又は医薬組成物（例えば、本明細書に記載する抗体、抗原結合断片、抗体薬物コンジュゲート、若しくは医薬組成物のいずれか）、並びに、任意選択的に、少なくとも1つの追加の治療剤を、対象に、少なくとも週に1回（例えば、週に1回、週に2回、週に3回、週に4回、1日1回、1日2回、又は1日3回）投与することができる。いくつかの実施形態において、少なくとも2つの異なる抗体及び／又は抗原結合断片は、同じ組成物（例えば、液体組成物）で投与される。いくつかの実施形態において、少なくとも1つの抗体、抗原結合断片、抗原結合タンパク質構築物（例えば、二重特異性抗体）、又は、抗体薬物コンジュゲート、及び、少なくとも1つの追加の治療剤は、同じ組成物（例えば、液体組成物）で投与される。いくつかの実施形態において、少なくとも1つの抗体又は抗原結合断片、及び、少なくとも1つの追加の治療剤は、2つの異なる組成物（例えば、少なくとも1つの抗体又は抗原結合断片を含有する液体組成物、及び、少なくとも1つの追加の治療剤を含有する固体口腔用組成物）で投与される。いくつかの実施形態において、少なくとも1つの追加の治療剤は、丸薬、錠剤、又はカプセルとして投与される。いくつかの実施形態において、少なくとも1つの追加の治療剤は、徐放性経口製剤で投与される。

20

【0299】

いくつかの実施形態において、1つ以上の追加の治療剤を、少なくとも1つの抗体、抗原結合抗体断片、抗体薬物コンジュゲート、又は医薬組成物（例えば、本明細書に記載する抗体、抗原結合抗体断片、若しくは医薬組成物のいずれか）を投与する前、又は、投与した後に、対象に投与することができる。いくつかの実施形態において、1つ以上の追加の治療剤、及び、少なくとも1つの抗体、抗原結合抗体断片、抗体薬物コンジュゲート、又は医薬組成物（例えば、本明細書に記載する抗体、抗原結合抗体断片、抗体薬物コンジュゲート、若しくは医薬組成物のいずれか）は、対象内で、1つ以上の追加の治療剤の生物活性期間と、少なくとも1つの抗体若しくは抗原結合断片（例えば、本明細書に記載する抗体若しくは抗原結合断片のいずれか）、又は、抗体薬物コンジュゲートの生物活性期間に、重なりが生じるように、対象に投与される。

30

【0300】

いくつかの実施形態において、長期間にわたり（例えば、少なくとも1週間、2週間、3週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、10ヶ月、11ヶ月、12ヶ月、1年、2年、3年、4年、又は5年の期間にわたり）、少なくとも1つの抗体、抗原結合抗体断片、抗体薬物コンジュゲート、又は医薬組成物（例えば、本明細書に記載する抗体、抗原結合抗体断片、若しくは医薬組成物のいずれか）を、対象に投与することができる。熟練した医療専門家は、治療の有効性を診断する、又は追跡する（例えば、癌の少なくとも1つの症状を観察する）ために、本明細書に記載の方法のいずれかを用いて治療期間の長さを決定することができる。本明細書に記載されるように、熟練した医療専門家はまた、対象に投与される抗体若しくは抗原結合抗体断片、抗体薬物コンジュゲート（及び／又は、1つ以上の追加の治療剤）の同一性及び数を変化させる（例えば、増加又は減少させる）ことができ、また、（例えば、本明細書に記載の

40

50

、及び、当該技術分野において周知の方法のいずれかを用いる）治療の有効性の評価に基づき、対象への、少なくとも1つの抗体若しくは抗原結合抗体断片（及び／又は、1つ以上の追加の治療剤）の投与用量又は頻度を調整する（例えば、増加又は減少させる）ことができる。

【0301】

いくつかの実施形態において、1つ以上の追加の治療剤を、対象に投与することができる。追加の治療剤は、B-Rafの阻害剤、EGFR阻害剤、MEKの阻害剤、ERKの阻害剤、K-Rasの阻害剤、c-Metの阻害剤、未分化リンパ腫キナーゼ（ALK）の阻害剤、ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ（PI3K）の阻害剤、Aktの阻害剤、mTORの阻害剤、二重PI3K／mTOR阻害剤、ブルトン型チロシンキナーゼ（BTK）の阻害剤、並びに、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ1（IDH1）及び／又はイソクエン酸デヒドロゲナーゼ2（IDH2）の阻害剤からなる群から選択される1つ以上の阻害剤を含むことができる。いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、インドールアミン 2, 3-ジオキシゲナーゼ-1（IDO1）の阻害剤（例えば、エパカドスタット）である。

10

【0302】

いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、HER3の阻害剤、LSD1の阻害剤、MDM2の阻害剤、BCL2の阻害剤、CHK1の阻害剤、活性化ヘッジホッグシグナル伝達経路の阻害剤、及び、エストロゲン受容体を選択的に分解する薬剤からなる群から選択される1つ以上の阻害剤を含むことができる。

20

【0303】

いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、トラベクテジン、nab-パクリタキセル、トレバニブ、パゾパニブ、セディラニブ、パルボシクリブ、エベロリムス、フルオロピリミジン、IFL、レゴラフェニブ、レオリシン、アリムタ、ジカイダ、スーテント、テムシロリムス、アキシチニブ、エベロリムス、ソラフェニブ、ヴォトリエント、パゾパニブ、IMA-901、AGS-003、カボザンチニブ、ピンフルニン、Hsp90阻害剤、Ad-GM-CSF、テモゾロミド、IL-2、IFNa、ビンブラスチン、サロミド、ダカルバジン、シクロホスファミド、レナリドマイド、アザシチジン、レナリドマイド、ボルテゾミブ、アムルピシン、カルフィルゾミブ、プララトレキサート、及びエンザスタウリンからなる群から選択される1つ以上の治療剤を含むことができる。

30

【0304】

いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、アジュバント、TLRアゴニスト、腫瘍壊死因子（TNF）、IL-1、HMGB1、IL-10アンタゴニスト、IL-4アンタゴニスト、IL-13アンタゴニスト、IL-17アンタゴニスト、HVEMアンタゴニスト、ICOSアゴニスト、CX3CL1を標的とする治療、CXCL9を標的とする治療、CXCL10を標的とする治療、CCL5を標的とする治療、LFA-1アゴニスト、ICAM1アゴニスト、及びセレクチンアゴニストからなる群から選択される1つ以上の治療剤を含むことができる。

【0305】

いくつかの実施形態において、カルボプラチン、nab-パクリタキセル、パクリタキセル、シスプラチン、ペメトレキセド、ゲムシタビン、FOLFEX、又はFOLFIRIが、対象に投与される。

40

【0306】

いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗LAG-3抗体、抗TIGIT抗体、抗BTLA抗体、又は抗GITR抗体である。

【0307】

医薬組成物及び投与経路

本明細書に記載する抗原結合タンパク質構築物、抗体（例えば、二重特異性抗体）、抗原結合断片、又は抗体薬物コンジュゲートの少なくとも1つの（例えば、1、2、3、又は4つ）を含有する医薬組成物もまた、本明細書で提供する。本明細書に記載する抗原結

50

合タンパク質構築物、抗体、抗原結合断片、又は抗体薬物コンジュゲートのいずれかの、2つ以上（例えば、2、3、又は4つ）が、任意の組み合わせで、医薬組成物に存在することができる。医薬組成物は、当該技術分野において周知の任意の様式で、製剤化することができる。

【0308】

医薬組成物は、その意図する投与経路（例えば、静脈内、動脈内、筋肉内、皮内、皮下、又は腹腔内）と適合性を有するように、製剤化される。組成物は、無菌希釈剤（例えば、無菌水若しくは生理食塩水）、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール又は他の合成溶剤、抗菌若しくは抗カビ剤（例えば、ベンジルアルコール若しくはメチルパラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなど）、酸化防止剤（アスコルビン酸若しくは亜硫酸水素ナトリウムなど）、キレート剤（エチレンジアミン四酢酸など）、緩衝剤（アセテート、シトレート、若しくはホスフェートなど）、及び、等張剤（例えば、糖類（例えば、デキストロース）、ポリアルコール（例えば、マンニトール若しくはソルビトール）、若しくは塩類（例えば、塩化ナトリウム））、又はこれらの任意の組み合わせを含むことができる。リポソーム懸濁液もまた、薬学的に許容される担体として使用可能である（例えば、米国特許第4,522,811号を参照されたい）。組成物の調製物は、アンプル、使い捨てシリンジ、又は複数回投与用バイアルに製剤化し、封入することができる。必要な場合（例えば、注射可能な製剤におけるように）、適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティング、又は界面活性剤を用いることにより、維持することができる。吸収を遅らせる剤（例えば、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチン）を含めることにより、抗体又はその抗原結合断片の吸収を長くすることができる。或いは、徐放は、インプラント及びマイクロカプセル化デリバリーシステムによって達成することができ、これらとしては、生分解性・生体適合性ポリマー（例えば、エチレンビニルアセテート、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、及びポリ乳酸；Alza Corporation及びNova Pharmaceutical, Inc.）を挙げることができる。

10

20

【0309】

本明細書に記載する抗原結合タンパク質構築物、抗体、抗原結合断片、抗体薬物コンジュゲートのいずれかの1つ以上を含有する組成物は、単位剤形（即ち、投与を容易にし、用量を均一にするための、所定量の活性化合物を含有する、物理的に別個の単位）で、非経口（例えば、静脈内、動脈内、筋肉内、皮内、皮下、又は腹腔内）投与のために製剤化することができる。

30

【0310】

組成物の毒性及び治療効果は、細胞培養液又は実験用動物（例えば、サル）における、標準的な薬学的手順により決定することができる。LD50（集団の50%に対して致死性の用量）、及び、ED50（集団の50%において治療に有効な用量）を決定することができ、治療指数は、LD50：ED50の比率である。高い治療指数を示す薬剤が好ましい。薬剤が、望ましくない副作用を示す場合、損害の可能性を最低限に抑える（即ち、望ましくない副作用を軽減する）ためのケアを取る必要がある。毒性及び治療効果は、他の標準的な薬学的手順により決定することができる。

40

【0311】

例示的な用量としては、対象の体重1キログラム当たりの、本明細書に記載する抗原結合タンパク質構築物、抗体、抗原結合断片、又は、抗体薬物コンジュゲートのいずれかの量（ミリグラム又はマイクログラム）（例えば、約1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ～約500 mg/kg ；約100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ～約500 mg/kg ；約100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ～約50 mg/kg ；約10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ～約5 mg/kg ；約10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ～約0.5 mg/kg ；又は、約0.1 mg/kg ～約0.5 mg/kg ）が挙げられる。

【0312】

医薬組成物は、容器、パック、又はディスペンサーに、投与用の取扱説明書と共に含めることができる。本開示は、本明細書に記載する様々な用途のための、抗体若しくはその

50

抗原結合断片、又は抗体薬物コンジュゲートの製造方法もまた提供する。

【実施例】

【0313】

実施例

本発明を以下の実施例で更に説明し、これらは、特許請求の範囲に記載する本発明の範囲を限定するものではない。

【0314】

実施例1. HER2及びTROP2発現の検出

機能的ゲノムRNA-seqを実施して、様々なヒト腫瘍細胞株における、HER2及びTROP2の発現レベルを測定した。結果を下表に示す。

【0315】

10

20

30

40

50

【表 1】

表 1. RNA seq 結果 (FPKMスクリーニング閾値: 15)

番号	細胞名	組織の種類	源	HER2	TROP2
1	Capan-1	膵臓	ATCC、カタログ番号: HTB-79	48	163
2	Panc 02.03	膵臓	ATCC、カタログ番号: CRL-2553	44	1236
3	NCI-H1781	肺	ATCC、カタログ番号: CRL-5894	88	370
4	NCI-H1650	肺	ATCC、カタログ番号: CRL-5883	32	1100
5	HCC827	肺	ATCC、カタログ番号: CRL-2868	28	368
6	NCI-N87	胃	ATCC、カタログ番号: CRL-5822	1444	761
7	NUGC-4	胃	Cobioer、カタログ番号: CBP60493	61	72
8	DU 145	前立腺	ATCC、カタログ番号: HTB-81	17	162
9	BT_20	胸	ATCC、カタログ番号: HTB-19	27	221
10	ZR-75-1	胸	ATCC、カタログ番号: CRL-1500	69	70
11	SK-BR-3	胸	ATCC、カタログ番号: HTB-30	811	336
12	HCC70	胸	ATCC、カタログ番号: CRL-2315	20	1187
13	BT-474	胸	ATCC、カタログ番号: HTB-20	519	22
14	HCC1954	胸	ATCC、カタログ番号: CRL-2338	1005	1057
15	OVCAR-3	卵巣	ATCC、カタログ番号: HTB-161	15	150
16	SK-OV-3	卵巣	ATCC、カタログ番号: HTB-77	331	145
17	DLD-1	結腸	ATCC、カタログ番号: CCL-221	19	137
18	COLO 205	結腸	ATCC、カタログ番号: CCL-222	33	52
19	COLO 201	結腸	ATCC、カタログ番号: CCL-224	47	102
20	HCT-8	結腸	ATCC、カタログ番号: CCL-244	26	35
21	A-431	肌	ATCC、カタログ番号: CRL-1555	18	1797

FPKM: 100万当たりの1キロベース当たりの読み取り値の、マッピングされた読み取り値

【0316】

さらに、フローサイトメトリー (FACS) を使用して、以下のヒト腫瘍細胞において、HER2及びTROP2のタンパク質の発現を検出した。抗hTROP2-PE (R&D Systems, Inc., カタログ番号: FAB650P)、及び、PE抗ヒトCD340 (erbB2/HER-2) (Biolegend Inc., カタログ番号: 324406) を含む標識抗体を使用した。幾何平均蛍光強度 (MFI) の結果を下表に示す。

【0317】

10

20

30

40

50

【表 2】

表 2. 様々な細胞株における、HER2 及び TROP 発現の結果

番号	細胞株	組織の種類	源	HER2	TROP2
1	NCI-H1650	肺	ATCC、カタログ番号 : CRL-5883	25741	123249
2	HCC827	肺	ATCC、カタログ番号 : CRL-2868	11094	82675
3	NCI-N87	胃	ATCC、カタログ番号 : CRL-5822	392949	14348
4	DU 145	前立腺	ATCC、カタログ番号 : HTB-81	9788	19741
5	ZR-75-1	胸	ATCC、カタログ番号 : CRL-1500	45502	43987
6	BT-474	胸	ATCC、カタログ番号 : HTB-20	309012	17643
7	HCC1954	胸	ATCC、カタログ番号 : CRL-2338	229418	161383
8	A-431	肌	ATCC、カタログ番号 : CRL-1555	15353	280176
9	NCI-H1975	肺	ATCC、カタログ番号 : CRL-5908	14768	12442
10	MDA-MB-23	胸	ATCC、カタログ番号 : HTB-26	6803	2477
11	NCI-H292	肺	ATCC、カタログ番号 : CRL-1848	11963	224754
12	U-87 MG	脳	ATCC、カタログ番号 : HTB-14	584	373
13	SNU-5	胃	ATCC、カタログ番号 : CRL-5973	15301	533
14	Hs 746T	胃	ATCC、カタログ番号 : HTB-135	161	172
15	MDA-MB-46	胸	上海生命科学研究院	617	13546
16	BxPC-3	膵臓	ATCC、カタログ番号 : CRL-1687	7968	14495
17	A549	肺	ATCC、カタログ番号 : CCL-185	8542	183
18	MCF7	胸	ATCC、カタログ番号 : HTB-22	6814	57151
19	LoVo	結腸	ATCC、カタログ番号 : CCL-229	6455	166

【0318】

HER2 及び TROP2 が、様々な腫瘍細胞株で非常に発現したことを、データは示した。

【0319】

実施例 2. 抗 HER2 抗体

抗 HER2 抗体の生成

ヒト HER2 タンパク質 (ACRO Biosystems Inc., カタログ番号 : HE2-H5253、ヒト HER2 タンパク質の配列番号 64 の位置 23 ~ 652 を含む)、又は、このタンパク質をコードする DNA を、アジュバントで乳化し、これを使用

して、RenLite（商標）マウス（Biocytogen、in situでの、共通の軽鎖置換と組み合わせさせた、完全ヒト重鎖可変ドメイン）を免疫付与した。マウスは、例えば、PCT/CN2021/097652に記載されており、その全体が参照により本明細書に組み込まれている。免疫付与の前に、陰性対照として後眼窩血液を採取した。

【0320】

最初の免疫付与には、フロイントの完全アジュバントCFAを使用し、2回目、3回目、及び4回目の免疫付与には、フロイントの不完全アジュバントIFAを使用した。合計4回の免疫付与を行った。最初及び2回目の免疫付与は2週間の間隔をあけ、残りの免疫付与は1週間の間隔をあけた。4回目の免疫付与の1週間後に、後眼窩血を採取し、血清の抗体力価をELISAにより検出した。1週間後に、刺激免疫付与のために、力価の大きいマウスに、尾静脈を通して、ヒトHER2タンパク質を更に注射した。

【0321】

抗原特異的免疫細胞を、免疫付与したマウスから単離し、更に、抗HER2抗体を得た、又は、抗HER2抗体の軽鎖及び重鎖可変領域配列を得た。例えば、シングルセル技術（例えば、Beacon（登録商標）Optofluidic System, Berkeley Lights Inc. を使用する）を使用して、抗原特異的モノクローナル抗体を分泌する形質細胞をスクリーニングして発見し、逆転写及びPCR配列決定を使用して、抗体可変領域配列を入手した。入手した可変領域配列を抗体発現のために使用し、FACSを用いて、HER2に対する結合親和性を検証した。本方法により入手した例示的抗体は、H-2A10、H-1H2、H-2B2、H-3E5、H-3C6、及びH-3C8を含んだ。これらの抗体は、実質的に同じ軽鎖を含有し、これらのVL及びVLCDR 1～3配列を、図8及び図9に示す。H-1H2、H-2B2、H-3E5、H-3C6、及びH-3C8のVH及びVL領域を、図10に示す。

【0322】

様々なIgG1、IgG2、及びIgG4抗体を作製した。抗体の名前に関して、抗体VH\VLが様々なアイソタイプに連結するときに、アイソタイプを名前に加える。例えば、H-1H2のVH及びVLをIgG1定常領域に連結するとき、抗体は、H-1H2-IgG1と名付ける。他のアイソタイプの例は、以下のとおりである：H-1H2-IgG2、H-1H2-IgG4。

【0323】

抗HER2抗体エンドサイトーシス試験

試料抗HER2抗体（2.5 µg/mL）、及び、pHAbヤギ抗ヒトIgG二次抗体（Promega（Beijing）Biotech Co., Ltd., カタログ番号：G9845）を、HER2発現が高いBT-474細胞に添加した。1時間インキュベートした後、細胞を遠心分離にかけ、FACS緩衝液で洗浄した。MFI値をフローサイトメーターで測定し、抗HER2抗体のエンドサイトーシス比率を計算した。結果を下表（表3）に示す。アイソタイプコントロールに対しては、無関係な標的タンパク質を標的とする抗体を使用した。

【0324】

【表 3】

表3. 抗HER2抗体のエンドサイトーシス比率

抗体	MFI	陽性の割合 (%)
アイソタイプコントロール	9841	1.1%
トラスツズマブ類似体	50377	88.0%
ペルツズマブ類似体	100376	97.1%
H-1H2-IgG1	364980	99.9%
H-2B2-IgG1	282143	99.9%
H-3E5-IgG1	290833	99.8%
H-3C6-IgG1	324006	99.9%
H-3C8-IgG1	269321	99.9%
H-2A10-IgG1	115617	99.8%

10

【0325】

トラスツズマブは、HER2標的化ヒト化モノクローナル抗体であり、その重鎖及び軽鎖配列を、配列番号65～66に示す。

【0326】

ペルツズマブは、HER2標的化抗体でもあり、その重鎖及び軽鎖配列を、配列番号67～68に示す。

20

【0327】

H-1H2-IgG1、H-2B2-IgG1、H-3E5-IgG1、H-3C6-IgG1、及びH-3C8-IgG1は、アイソタイプコントロール（ISO）、陽性対照トラスツズマブ及びペルツズマブと比較して、良好な細胞エンドサイトーシス比率を有することを、データは示した。

【0328】

抗HER2抗体の種間結合分析

ヒトHER2（hHER2）を発現するBT-474細胞、サルHER2（fasHER2）を発現するCHO-S細胞（CHO-fasHER2）、及び、Canis lupus familiaris HER2（dHER2）を発現するNIH3T3細胞（NIH3T3-dHER2）を、 5×10^4 細胞／ウェルの密度で、96ウェルプレートに移した。連続希釈した試料抗HER2抗体を96ウェルプレートに移し、4℃で30分間インキュベートした。次に、細胞を、15分間暗室で、4℃で、二次抗体抗hIgG-Fc-Alexa Fluor 647（RL1-H）（Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., 109-606-170）によりインキュベートし、その後フローサイトメトリー分析をした。

30

【0329】

Macaca fascicularis（カニクイザル）HER2アミノ酸配列（配列番号74）の、位置174～804にCHO-S細胞を移すことにより、CHO-fasHER2細胞を入手した。NIH3T3（ATCC, カタログ番号：CRL1658）細胞に、Canis lupus familiaris（イヌ）HER2（配列番号75）のアミノ酸配列を含有する構築物（構築物は、CAGプロモーター-イヌHER2 CDS-P2A-EGFP-WPRE-PAを含有する）をトランスフェクトすることにより、NIH3T3-dHER2細胞を入手した。

40

【0330】

試験結果は以下の表に示されている。5つの抗HER2抗体全てが、hHER2及びfasHER2に結合することができる。これら5つの抗体のうち、H-1H2-IgG1、H-2B2-IgG1、及びH-3C8-IgG1は、hHER2、fasHER2、及びdHER2との種間結合もまた示した。

【0331】

50

【表 4】

表 4. 抗HER2抗体の種間結合分析

抗体	HER2タンパク質	陽性細胞の割合 (%)	評価
H-1H2-IgG1	hHER2	100%	結合
	fasHER2	46.6%	結合
	dHER2	79.6%	結合
H-2B2-IgG1	hHER2	99.9%	結合
	fasHER2	42.3%	結合
	dHER2	90.3%	結合
H-3E5-IgG1	hHER2	100%	結合
	fasHER2	43.4%	結合
	dHER2	1.87%	結合せず
H-3C6-IgG1	hHER2	99.9%	結合
	fasHER2	67.1%	結合
	dHER2	2.66%	結合せず
H-3C8-IgG1	hHER2	100%	結合
	fasHER2	48.1%	結合
	dHER2	95.6%	結合

10

【0332】

20

抗HER2抗体親和性試験

ヒト (hHER2, ACROBiosystems Inc., カタログ番号: HE2-H5225) (配列番号64の位置23~652)、マウス (mHER2, ACROBiosystems Inc., カタログ番号: ER2-M5220) (配列番号76)、イヌ (dHER2, Sino Biological Inc., カタログ番号: 70024-D08H) (配列番号75の位置1~652)、又は、サル (fasHER2, ACROBiosystems Inc., カタログ番号: HE2-C52Hb) (配列番号74) のHisタグ化HER2タンパク質に対する抗HER2抗体の親和性を、30℃で、ForteBio Octetシステムを用いて、バイオレイヤー干渉法 (BLI) により測定した。合計5つのモノクローナル抗体: H-1H2-IgG1、H-2B2-IgG1、H-3E5-IgG1、H-3C6-IgG1、及びH-3C8-IgG1を試験した。

30

【0333】

10 µg/mLで、AHCバイオセンサー (ForteBio Inc., カタログ番号: 18-5060) に抗HER2抗体をロードし、1.0 nmの応答を得た。12.5 nM、25 nM、50 nM、100 nM、200 nM、及び400 nMの濃度の、組み換えHisタグ化HER2タンパク質で、速度論的測定を実施した。会合段階は180秒続き、解離段階は300秒続き、その後、10 mMのグリシン-HCl (pH 1.7) で再生工程を行った。標準的な1:1結合モデルを用いる、Octetデータ分析プログラム (Data Analysis 11) を用いて、データ分析を行った。親和性値を、運動速度定数の商から推定した ($KD = k_{off} / k_{on}$)。

40

【0334】

当業者が理解するように、パラメーター (例えば、抗体濃度) を適切に調整した同じ方法を、各試験抗HER2抗体に対して実施した。試験抗体に対する結果を、下表にまとめる。

【0335】

50

【表 5】

表 5. 親和性試験の結果

抗体	HER2タンパク質	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	KD (M)
H-1H2-IgG1	hHER2	4.19E+05	1.65E-02	3.93E-08
	f a sHER2	4.16E+05	1.67E-02	4.00E-08
	mHER2	結合せず	—	—
	dHER2	4.71E+05	1.50E-03	3.19E-09
H-2B2-IgG1	hHER2	2.33E+05	1.05E-02	4.49E-08
	f a sHER2	2.51E+05	9.59E-03	3.82E-08
	mHER2	結合せず	—	—
	dHER2	3.49E+05	1.52E-02	4.36E-08
H-3E5-IgG1	hHER2	1.56E+05	6.56E-04	4.20E-09
	f a sHER2	1.24E+05	9.07E-04	7.33E-09
	mHER2	結合せず	—	—
	dHER2	結合せず	—	—
H-3C6-IgG1	hHER2	1.50E+05	2.32E-04	1.55E-09
	f a sHER2	1.63E+05	2.94E-04	1.80E-09
	mHER2	結合せず	—	—
	dHER2	結合せず	—	—
H-3C8-IgG1	hHER2	4.56E+05	2.36E-03	5.19E-09
	f a sHER2	4.60E+05	2.38E-03	5.16E-09
	mHER2	結合せず	—	—
	dHER2	4.78E+05	2.92E-03	6.11E-09

【0336】

5つの抗HER2抗体全てが、ヒトHER2及びサルHER2に対して良好な結合親和性を示したことを、結果は示した。これら5つの抗体のうち、H-1H2-IgG1、H-2B2-IgG1、H-3C8-IgG1は、イヌHER2に対する良好な結合親和性もまた示した。

【0337】

実施例3. 抗TROP2抗体の調製及び分析

抗TROP2抗体の生成

hTrop2-Fc (ACROBiosystems Inc., カタログ番号: TR2-H5253, ヒトTROP2タンパク質配列番号69のアミノ酸31~274を含む)、及び、mTrop2-his (ACROBiosystems Inc., カタログ番号: TR2-M52H6, ハツカネズミTROP2タンパク質配列番号79のアミノ酸25~270を含む)を用いて、RenLite (商標) マウスを交差免疫した。免疫付与の前に、陰性対照として後眼窩血液をマウスから採取した。最初の免疫付与には、フロイントの完全アジュバントCFAを使用し、2回目、3回目、及び4回目の免疫付与には、フロイントの不完全アジュバントIFAを使用した。合計4回の免疫付与を行った。1週間後に3回目の免疫付与を行い、後眼窩血を採取して、抗ヒトTROP2抗体及び抗マウスTROP2抗体の血清力価を、ELISAにより検出した。1週間後、高力価のマウスを、mTrop2-hisの皮下注射による4回目の免疫付与に選択した。4回目の免疫付与の後、ヒトTROP2抗原を発現するCHO-S細胞を、尾静脈注射による刺激免疫付与に選択し、hTROP2-Fcを、腹腔内注射による刺激免疫付与に選択した。

【0338】

抗原特異的免疫細胞を(免疫付与したマウスの免疫臓器から)単離し、更に、抗TROP2抗体を得た、又は、抗TROP2抗体の軽鎖及び重鎖V領域配列を得た。単一細胞技術(Beacon (登録商標) Optofluidic System, Berkeley Lights Inc. など)を使用して、抗原特異的モノクローナル抗体を分泌す

る形質細胞をスクリーニングして発見し、次に、逆転写及びPCR配列決定を使用して、抗体可変領域配列を入手した。可変領域配列を、抗体発現のためのヒトIgG定常領域を含有する骨格ベクターにクローニングし、FACSにより、発現した抗体の、TROP2への結合を検証した。本方法により入手した例示的な完全ヒト抗体は、T-3A4、T-4B9、T-4C12、T-5C8、及びT-6F7を含んだ。これらの抗体は同じ軽鎖を有し、配列は、抗HER2抗体の、共通の軽鎖配列と一致する。T-3A4、T-4B9、及びT-6F7の、CDR配列、並びに、VH及びVL配列を、図11～13に示す。

【0339】

様々なIgG1、IgG2、及びIgG4抗体を作製した。定常領域は、いくつかの変異もまた含有することができる。例えば、SI変異（EU付番：S239D及びI332E変異）を、T-6F7-IgG1のFc領域に導入し、得られた抗体を、T-6F7-IgG1-SIと名付ける。

【0340】

抗TROP2抗体のエンドサイトーシス検出

抗TROP2抗体（1.25 µg/mL）、及び、pHAbヤギ抗ヒトIgG二次抗体を、ヒトTROP2（配列番号69）を非常に発現するCHO細胞（CHO-hTROP2）に添加した。1時間インキュベートした後、細胞を遠心分離にかけ、FACS緩衝液で洗浄した。MFIをフローサイトメーターで検出し、抗TROP2抗体のエンドサイトーシス速度を計算した。結果は以下の表に示されている。

【0341】

【表6】

表6. 抗TROP2抗体のエンドサイトーシス速度

抗体	MFI	陽性の割合 (%)
サシツズマブゴビテカン抗体類似体	22965	51.2%
DS-1062抗体類似体	21847	43.9%
T-3A4-IgG1-SI	23169	69.0%
T-4B9-IgG1-SI	20844	62.7%
T-4C12-IgG1-SI	23929	71.9%
T-5C8-IgG1-SI	29914	82.9%
T-6F7-IgG1-SI	29478	92.2%

【0342】

サシツズマブゴビテカン（Trodelvy（商標））は、ヒト化抗TROP2モノクローナル抗体薬物コンジュゲートである。サシツズマブゴビテカン類似体の重鎖及び軽鎖配列を、配列番号70～71として示す。

【0343】

DS-1062は、TROP2指向抗体薬物コンジュゲートであり、これは、進行性又は転移性非小細胞肺癌（NSCLC）の患者において、第III相臨床試験中である。DS-1062の重鎖及び軽鎖配列を、配列番号72～73として示す。

【0344】

比較のために、サシツズマブゴビテカンとDS-1062の抗体部分を用いた。対照（サシツズマブゴビテカン抗体類似体、及び、DS-1062抗体類似体）と比較して、T-3A4-IgG1、T-4B9-IgG1、T-4C12-IgG1、T-5C8-IgG1、及びT-6F7-IgG1は全て、良好なエンドサイトーシス速度を有することを、データは示した。

【0345】

抗TROP2の種間結合分析

CHO-hTROP、Macaca fascicularis（カニクイザル）TR

OP2 (fastROP2, 配列番号77)を発現するCHO-S細胞(CHO-fastROP2)、及び、Canis lupus familiaris (イヌ) TROP2 (dTROP2, 配列番号78) (CHO-dTROP2)を発現するCHO-S細胞を、 5×10^4 細胞/ウェルの密度で、96ウェルプレートに移した。試料抗体の勾配希釈液を96ウェルプレートに加え、4℃で30分間インキュベートした。その後、細胞を、15分間暗室で、4℃で、抗hIgG-Fc-Alexa Fluor 647 (RL1-H) (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., カタログ番号: 109-606-170)によりインキュベートし、その後フローサイトメトリー分析をした。結果を下表に示す:

【0346】

【表7】

表7. 抗TROP2抗体の種間結合分析

抗体	TROP2タンパク質	陽性細胞の割合 (%)	評価
T-3A4-IgG1-SI	hTROP2	57.1%	結合
	fastROP2	82.8%	結合
	dTROP2	37.3%	結合
T-4B9-IgG1-SI	hTROP2	72.6%	結合
	fastROP2	73.4%	結合
	dTROP2	68.3%	結合
T-4C12-IgG1-SI	hTROP2	64.0%	結合
	fastROP2	67.4%	結合
	dTROP2	70.6%	結合
T-5C8-IgG1-SI	hTROP2	63.9%	結合
	fastROP2	75.7%	結合
	dTROP2	23.1%	結合
T-6F7-IgG1-SI	hTROP2	65.0%	結合
	fastROP2	70.9%	結合
	dTROP2	39.0%	結合

【0347】

T-6F7-IgG1-SI、T-4C12-IgG1-SI、T-3A4-IgG1-SI、T-5C8-IgG1-SI、及びT-4B9-IgG1-SIは全て、ヒトTROP2、サルTROP2、及びイヌTROP2に結合可能であることを、結果は示した。

【0348】

抗TROP2抗体親和性試験

ヒト(hTROP2, ACROBiosystems Inc., カタログ番号: TR2-H5223)、イヌ(dTROP2, ACROBiosystems Inc., カタログ番号: TR2-C52H4)、及び、アカゲザル/カニクイザル(fastROP2, ACROBiosystems Inc., カタログ番号: R52H3)の、Hisタグ化TROP2タンパク質に対する抗TROP2抗体の親和性を、Biacore (Biacore, INC, Piscataway N. J.)を用いる表面プラズモン共鳴 (SPR)により測定した。予め固定化したプロテインAセンサチップを装着した8Kバイオセンサー。

【0349】

精製した抗TROP2抗体を $0.5 \mu\text{g/mL}$ まで希釈し、その後、約50秒間、 $10 \mu\text{L/分}$ で、Biacore 8Kバイオセンサに注入して、所望のタンパク質密度 (例えば、約120応答単位 (RU))を達成した。200nMの濃度の、Hisタグ化TROP2タンパク質を、次に、180秒間、 $30 \mu\text{L/分}$ で注射した。解離を600秒間モニタリングした。各滴定液の最後の注入の後に、チップをグリシンで再生した (pH2.0)。

0、30 μL / 分で30秒間)。

【0350】

Biacore 8K Evaluationソフトウェア3.0を用いて、データ全体を、1:1のラングミュア結合モデル(Karlsson, R. Roos, H. Fagerstam, L. Petersson, B., 1994. Methods Enzymology 6. 99-110)に適合させることにより、運動会合速度(kon)及び解離速度(koff)を同時に入手した。親和性を、運動速度定数の商から推定した($KD = koff / kon$)。

【0351】

当業者が理解するように、パラメーター(例えば、抗体濃度)を適切に調整した同じ方法を、各試験抗体に対して実施した。試験抗体に対する結果を、下表にまとめる。

【0352】

【表8】

表8. 抗TROP2抗体親和性試験の結果

抗体	TROP2タンパク質	kon (1/Ms)	koff (1/s)	KD (M)	評価
T-3A4	hTROP2	9.70E+04	4.58E-03	4.72E-08	結合
-IgG1	fasTROP2	5.98E+04	2.55E-03	4.27E-08	結合
-SI	dTROP2	8.62E+03	1.89E-04	2.19E-08	結合
T-4B9	hTROP2	5.68E+05	5.82E-03	1.02E-08	結合
-IgG1	fasTROP2	7.81E+05	5.56E-03	7.12E-09	結合
-SI	dTROP2	4.34E+06	5.75E-02	1.32E-08	結合
T-4C1	hTROP2	7.65E+04	7.34E-03	9.59E-08	結合
2-IgG	fasTROP2	5.84E+04	8.65E-03	1.48E-07	結合
1-SI	dTROP2	9.35E+05	2.75E-03	2.93E-09	結合
T-5C8	hTROP2	6.40E+04	3.44E-03	5.38E-08	結合
-IgG1	fasTROP2	7.18E+04	1.59E-03	2.21E-08	結合
-SI	dTROP2	結合せず	—	—	結合せず
T-6F7	hTROP2	1.65E+05	4.28E-03	2.60E-08	結合
-IgG1	fasTROP2	1.17E+05	2.21E-03	1.90E-08	結合
-SI	dTROP2	4.71E+04	9.23E-05	1.96E-09	結合

【0353】

試験した抗体は全て、ヒトTROP2に対する良好な結合親和性を有することを、結果は示している。試験した抗体のうち、T-3A4-IgG1-SI、T-4B9-IgG1-SI、及びT-6F7-IgG1-SIは、サル及びイヌTROP2に対する種間結合親和性もまた有する。

【0354】

実施例4. 抗HER2/TROP2二重特異性抗体

抗HER2/TROP2二重特異性抗体の調製

【0355】

抗HER2抗体(H-1H2、H-2B2、H-3E5、H-3C6、及びH-3C8)、並びに、抗TROP2抗体(T-3A4、T-4B9、T-4C12、T-5C8、及びT-6F7)を対形成し、様々な二重特異性抗体を形成することができる。抗体の軽鎖及び重鎖に対するベクターを作製した。3つのベクターを、CHO-S細胞に同時トランスフェクトした。14日間培養した後、細胞上清を収集し、プロテインA親和性クロマトグラフィーにより精製した。

【0356】

様々な方法を使用して、2つの重鎖間の、間違っただ対形成の可能性を減らすことができる。Fc領域では、ノブイントゥホール変異を、抗TROP2アーム重鎖、及び、抗HER2アーム重鎖に導入した。得られた例示的な二重特異性抗体は、H-1H2-T-6F7、H-2B2-T-6F7、H-3C8-T-6F7、及びT-6F7-H-1H2を

含んだ。二重特異性抗体の結合親和性を検証するために、抗HER2、又は、抗TROP
対照二重特異性抗体もまた構築し、ここでは、対照二重特異性抗体の1つのアームは、H
ER2又はTROPを認識し、他のアームは、CD28を認識する（CD28RenLi
te共軽鎖抗体）。これらの対照二重特異性抗体は、H-2B2-CD28、H-3C8
-CD28、CD28-H-1H2、及びCD28-T-6F7と名付けた。

【0357】

これらの抗体は全て、ノブイントゥホール変異を有する。H-1H2-T-6F7では
、H-1H2の重鎖定常領域はノブ変異を有し、T-6F7の定常領域はホール変異を有
する。T-6F7-H-1H2では、T-6F7の重鎖定常領域はノブ変異を有し、H-
1H2の重鎖定常領域はホール変異を有する。例示的な抗体構造を図1に示し、ここでは
、標的1及び標的2は、それぞれHER2及びTROP2、又は、それぞれTROP2及
びHER2、又は、それぞれHER2及びCD28、又は、それぞれCD28及びHER
2、又は、それぞれCD28及びTROP2であることができる。

【0358】

軽鎖定常領域、ノブ変異を有する重鎖定常領域、及び、ホール変異を有する重鎖定常領
域の配列を、図14に示す。

【0359】

非還元SDS-PAGE（ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動
）、及び、SEC-HPLC（サイズ排除クロマトグラフィー-高速液体クロマトグラフ
ィー）により、精製した抗HER2/TROP2二重特異性抗体を分析した。

【0360】

4～12%のアクリルアミドゲルを用いて、非還元SDS-PAGEを行った。タンパ
ク質試料を以下のとおりに調製した。まず、2.4μLのタンパク質試料を、6μLのT
ris-グリシンSDS試料緩衝液（2×）（Invitrogen LC2676）と
3.6μLの蒸留水で混合した。次に、混合物を2分間煮沸し、ロードする前に即座に遠
心分離にかけた。4μgの各試料をゲルにロードした。

【0361】

SEC-HPLC法において、抗体試料を、精製水によって1mg/mLまで希釈し、
Agilent 1290クロマトグラフシステム（XBridge（商標）Prote
in BEH SECカラム（200Å、Waters Corporation）を接
続）を用いた。以下のパラメーターを使用した：移動相：25mmol/Lのリン酸緩衝
液（PB）+300mmol/LのNaCl、pH6.8；流速：1.8mL/分；カ
ラム温度：25℃；検出波長：280nm；注入量：10μL；試料トレイ温度：約4℃；
及び実効時間：7分。結果を下の表にまとめる。

【0362】

【表9】

表9. 抗HER2/TROP2二重特異性抗体の調製

ID	試料	収量（μg/mL）	SEC-HPLC
1	H-2B2-T-6F7	431.15	90.01%
2	H-3C8-T-6F7	517.96	91.30%
3	H-1H2-T-6F7	716.54	90.80%
4	H-1H2-T-4B9	188.31	60.07%
5	H-2B2-T-4B9	48.00	38.31%
6	H-3C8-T-4B9	20.73	36.77%
7	H-1H2-T-3A4	255.00	85.53%
8	H-2B2-T-3A4	331.46	60.12%
9	H-3C8-T-3A4	567.69	62.87%
10	T-6F7-H-1H2	657.69	96.67%

【0363】

抗HER2／TROP2二重特異性抗体の結合活性の検証

抗HER2／TROP2抗体の、NCI-H292細胞及びNCI-N87細胞への結合活性を、フローサイトメトリーにより検証した。実験で用いた二次抗体は、AF647コンジュゲートヤギ抗ヒトIgG（Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc. カタログ番号：109-606-170）であった。結果を下の表にまとめる。

【0364】

【表10】

表10. 複合フローサイトメトリー試験の結果

抗体	NCI-H292	NCI-N87
NC	0.78%	1.72%
NC+二次抗体	1.21%	2.97%
トラスツズマブ類似体	97.8%	98.5%
サシツズマブ類似体	97.4%	98.7%
H-2B2-T-6F7	97.1%	98.9%
T-6F7-H-1H2	97.6%	98.7%

10

【0365】

H-2B2-T-6F7及びT-6F7-H-1H2は、HER2及びTROP2を同時に発現することができる、NCI-H292細胞及びNCI-N87細胞に結合することができることを、結果は示している。

20

【0366】

イヌ腫瘍細胞株への抗体結合の検証

HER2抗体、抗TROP抗体、及び、抗HER2／TROP2抗体の、イヌ乳癌細胞株CMT-U27（ATCC, カタログ番号：CRL-3456）への結合活性を、フローサイトメトリーにより測定した。実験で用いた二次抗体は、FITCコンジュゲートヤギ抗ヒトIgG（Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc. カタログ番号：109-096-170）であった。結果を下の表にまとめる。

30

【0367】

【表11】

表11. 複合フローサイトメトリー試験の結果

抗体	CMT-U27
NC	0.74%
NC+二次抗体	0.82%
ヒトIgG1対照	1.59%
H-1H2-IgG1	97.6%
H-2B2-IgG1	98.0%
H-3C8-IgG1	97.8%
T-6F7-IgG1-SI	1.74%
T-6F7-H-1H2	82.9%
H-2B2-T-6F7	96.8%
H-3C8-T-6F7	98.3%

40

【0368】

抗HER2モノクローナル抗体のH-1H2-IgG1、H-2B2-IgG1、及びH-3C8-IgG1、並びに、抗HER2／TROP2二重特異性抗体のT-6F7-H-1H2、H-2B2-T-6F7、及びH-3C8-T-6F7は全て、イヌ細胞株

50

CMT-U27に結合可能であることを、結果は示した。

【0369】

抗HER2／TROP2二重特異性抗体エンドサイトーシス試験

抗HER2抗体、抗TROP2抗体、又は、抗HER2／TROP2二重特異性抗体、及び／又は、ヤギ抗ヒトIgG二次抗体を、それぞれ、ヒトHER2及びTROP2を非常に発現するNCI-N87細胞に加え、1時間インキュベートした。細胞を遠心分離にかけ、FACS緩衝液で洗浄した。MFIをフローサイトメーターにより測定した。NCI-N87に対する抗体のエンドサイトーシス比率を計算した。結果を以下の下表（表12）に示す。アイソタイプコントロールに対しては、無関係な標的タンパク質を標的とする抗体を使用した。

【0370】

直接検出のために、一次抗体（例えば、抗HER2抗体、抗TROP2抗体、又は、抗HER2／TROP2二重特異性抗体）を、pH感受性マーカーで直接標識し、これらのエンドサイトーシス比率を検出した。間接検出のために、pH感受性マーカーで標識したヤギ抗ヒトIgG二次抗体を使用して、一次抗体（例えば、抗HER2抗体、抗TROP2抗体、又は、抗HER2／TROP2二重特異性抗体）のエンドサイトーシスを検出した。

【0371】

【表12】

表12. 抗体のエンドサイトーシス比率

抗体	直接検出 (一次抗体)		間接検出 (一次抗体＋二次抗体)	
	MFI	陽性集団の割合 (%)	MFI	陽性集団の割合 (%)
NC	4778	1.39%	4871	1.11%
アイソタイプコントロール	4899	1.86%	4924	1.88%
トラスツマブ類似体	18924	82.5%	23420	87.3%
ペルツマブ類似体	15748	74.7%	20988	79.5%
サシツマブ類似体	16622	70.1%	16087	72.2%
H-2B2-IgG1	25903	90.8%	33590	91.5%
H-3C8-IgG1	24575	91.1%	36342	92.8%
H-1H2-IgG1	20192	88.2%	34929	92.2%
T-6F7-IgG1-SI	12177	45.1%	33652	89.9%
H-2B2-CD28	7988	10.4%	41603	88.2%
H-3C8-CD28	11483	46.0%	50727	93.5%
CD28-H-1H2	7061	6.27%	58524	96.2%
CD28-T-6F7	5120	1.86%	19808	68.4%
H-2B2-T-6F7	20290	82.8%	54948	95.5%
H-3C8-T-6F7	27439	88.8%	49078	93.5%
T-6F7-H-1H2	17498	78.6%	59289	92.8%
H-1H2-T-6F7	19963	86.3%	57243	94.0%

【0372】

結果は、エンドサイトーシス比率に関して、以下の結果を示した：二重特異性抗体において、H-3C8-T-6F7>H-2B2-T-6F7>T-6F7-H-1H2。二重特異性抗体は、対応するモノクローナル抗体と同様の、又は、これよりも高いエンドサイトーシス比率を示した。シングルアーム対照二重特異性抗体（H-2B2-CD28、H-3C8-CD28、CD28-H-1H2、及びCD28-T-6F7）は、対応する二重特異性抗体又はモノクローナル抗体よりも著しく低いエンドサイトーシス比率を示した。

【0373】

間接検出に関して、マーカー標識ヤギ抗ヒト二次抗体は、一次抗体（例えば、抗HER2抗体、抗TROP2抗体、又は、抗HER2／TROP2二重特異性抗体）の架橋を引き起こし、エンドサイトーシスの増強をもたらし得る。

【0374】

さらに、精製抗体H-1H2-T-6F7、H-2B2-T-6F7、H-3C8-T-6F7、及びT-6F7-H-1H2を、それぞれ、NCI-N87細胞又はNCI-H292細胞により、細胞培養液中でインキュベートした。Incucyte（Sartorius AG, Incucyte（登録商標）S3）を24時間インキュベートして、抗体のエンドサイトーシスを検出した。NCI-N87及びNCI-H292細胞のエンドサイトーシス結果を、図2～5に示す。

10

【0375】

NCI-N87細胞におけるエンドサイトーシス結果を、図2及び図3に示す。

【0376】

NCI-N87細胞株において、24時間のエンドサイトーシス効率の観点から、二重特異性抗体は、対応するモノクローナル抗体と同様の、又は、これより高いエンドサイトーシスを示し、対照二重特異性抗体は、著しく低下したエンドサイトーシス活性を示した。二重特異性抗体のエンドサイトーシス比率は、以下のとおりである：H-3C8-T-6F7>H-2B2-T-6F7>T-6F7-H-1H2。

【0377】

NCI-H292細胞におけるエンドサイトーシス結果を、図4及び図5に示す。

20

【0378】

NCI-H292細胞株では、24時間以内のエンドサイトーシス比率は、以下のとおりである：二重特異性抗体のエンドサイトーシス効率は、T-6F7-IgG1-SIモノクローナル抗体のそれよりも弱い、抗HER2モノクローナル抗体及び対照二重特異性抗体のそれよりも強い。

【0379】

抗HER2／TROP2二重特異性抗体の安定性

4つの抗HER2／TROP2抗体であるH-1H2-T-6F7、H-2B2-T-6F7、T-6F7-H-1H2、及びH-3C8-T-6F7を、pH6.0の緩衝液（3mg/mLのヒスチジン、80mg/mLのスクロース、及び、0.2mg/mLのTween（登録商標）80）を用いて、5mg/mLまで希釈した。希釈した抗体を、4±3℃（以下、4℃と呼ぶ）で7日間、又は、40±3℃（以下、40℃と呼ぶ）で7日間、密閉したエッペンドルフチューブで保持し、熱安定性を評価した。

30

【0380】

具体的には、以下の試験を行った：（1）溶液の外観、及び、目視可能な非可溶性対象物の存在の観察；（2）サイズ排除高速液体クロマトグラフィー（SEC-HPLC）による、抗体の純度変化の検出（ピーク面積全ての合計に対する、主要ピーク面積の割合（純度、%）として示す）；（3）疎水性相互作用クロマトグラフィー（HIC-HPLC）法を用いる、抗体の公称疎水性の変化の検出（主要ピークの保持時間（HIC、分）として示す）；（4）還元（CE-SDS（R））及び非還元（CE-SDS（NR））条件下で、キャピラリー電気泳動ードデシル硫酸ナトリウム（CE-SDS）による、抗体の純度割合の検出（ピーク面積全ての合計に対する、主要ピーク面積の割合（純度、%）として示す）；（5）キャピラリー等電点電気泳動（cIEF）法による、抗体における電荷変異体の検出（主成分、酸性成分、及びアルカリ性成分の割合（%）として示す）。

40

【0381】

SEC-HPLC実験において、抗体試料を、精製水によって1mg/mLまで希釈し、Agilent 1290クロマトグラフシステム（XBridge（商標）Protein BEH SECカラム（200Å、Waters Corporation）を接続）を用いた。以下のパラメーターを使用した：移動相：25mmol/Lのリン酸緩

50

衝液 (PB) + 300 mmol/L の NaCl、pH 6.8；流速：1.8 mL/分；カラム温度：25℃；検出波長：280 nm；注入量：10 µL；試料トレー温度：約 4℃；及び実効時間：7 分。

【0382】

HIC-HPLC 実験では、Agilent 1260 クロマトグラフシステム (ProPasc (商標) HIC-10 カラム (4.6 x 250 mm, Thermo Scientific) を接続) を使用し、試料を、移動相 A を用いて 0.5 mg/mL まで希釈した。以下のパラメーターを使用した：移動相 A：1.0 M の硫酸アンモニウム、20 mM の酢酸ナトリウム、10% のアセトニトリル (pH 6.5)；移動相 B：20 mM の酢酸ナトリウム、10% のアセトニトリル (pH 6.5)；流速：0.8 mL/分；勾配：0 分 100% A、2 分 100% A、32 分 100% B、34 分 100% B、35 分 100% A、及び、45 分 100% A；カラム温度：30℃；検出波長：280 nm；注入量：10 µL；試料トレー温度：約 10℃；及び実行時間：30 分。

【0383】

cIEF 実験では、試料調製のために、Maurice cIEF 法開発キット (Protein Simple, カタログ番号：PS-MDK01-C) を使用した。具体的には、8 µL のタンパク質試料を、キットの中で、以下の試薬と混合した：1 µL の Maurice cIEF pI Marker-4.05、1 µL の Maurice cIEF pI Marker-9.99、35 µL の 1% メチルセルロース溶液、2 µL の Maurice cIEF 500 mM アルギニン、4 µL の両性電解質 (Pharmalyte pH 範囲 3~10)、及び、水 (加えて 100 µL の終体積にする)。Maurice 分析器 (Protein Simple, Santa Clara, CA) で、Maurice cIEF カートリッジ (PS-MC02-C) を使用して、イメージングキャピラリー等電点電気泳動スペクトルを生成した。試料に、合計 10 分間焦点を合わせた。機器にインストールした解析ソフトウェアを使用して、280 nm に焦点を合わせたタンパク質の吸光度を積分した。

【0384】

CE-SDS 実験では、Maurice (Protein simple, Maurice (商標)) 及び Maurice CE-SDS サイズ適用キット (Protein simple, カタログ番号：PS-MAK02-S) を使用した。

【0385】

CE-SDS (NR) において、54 µL の試料緩衝液、6 µL の抗体試料、2.4 µL の 25 x 内標準、3 µL の 250 nM ヨードアセトアミド (SIGMA, カタログ番号：16125) を、微細遠心分離管に加え、続けて、3000 rpm にて 1 分間遠心分離にかけ、70℃ の水浴で 10 分間加熱した。次に、試料を室温まで冷却し、続けて、10000 rpm で 3 分間遠心分離にかけた。次に、上清試料調製物を 96 ウェルプレートに移し、Maurice で試験した。以下のパラメーターを使用した：注入電圧 4.6 kV、注入時間 20 秒、分離電圧 5.75 kV、及び、分離時間 40 分。

【0386】

CE-SDS (R) において、54 µL の試料緩衝液、6 µL の抗体試料、2.4 µL の 25 x 内標準、3 µL の 2-メルカプトエタノール (SIGMA, カタログ番号：M6250) を、微細遠心分離管に加え、続けて、3000 rpm にて 1 分間遠心分離にかけ、70℃ の水浴で 10 分間加熱した。次に、試料を室温まで冷却し、続けて、10000 rpm で 3 分間遠心分離にかけた。次に、50 µL の上清試料調製物を 96 ウェルプレートに移し、Maurice で試験した。注入電圧は 4.6 kV であり、注入時間は 20 秒であり、分離電圧は 5.75 kV であり、分離時間は 30 分であった。

【0387】

H-1H2-T-6F7、H-2B2-T-6F7、T-6F7-H-1H2、及び H-3C8-T-6F の詳細の結果を、図 6 に示す。

【0388】

H-3C8-T-6F7-IgG1及びH-2B2-T-6F7-IgG1は、より良い安定性、並びに物理的及び化学的性質を有することを、結果は示した。

【0389】

実施例5．抗体薬物コンジュゲート

プロテインAの精製後に、H-2B2-IgG1、H-3C8-IgG1、H-1H2-IgG1、T-6F7-IgG1-SI、H-2B2-CD28、H-3C8-CD28、CD28-T-6F7、CD28-H-1H2、H-2B2-T-6F7、H-3C8-T-6F7、H-1H2-T-6F7、及びT-6F7-H-1H2を透析し、限外濾過により、PBS緩衝液に濃縮した。濃度を、UV吸収により測定した。これらの抗体を、その後の抗体薬物カップリング反応に用いた。

10

【0390】

抗体の、薬物分子とのカップリング

精製した抗体のH-2B2-IgG1、H-3C8-IgG1、H-1H2-IgG1、T-6F7-IgG1-SI、H-2B2-CD28、H-3C8-CD28、CD28-T-6F7、CD28-H-1H2、H-2B2-T-6F7、H-3C8-T-6F7、H-1H2-T-6F7、及びT-6F7-H-1H2を、マレイミドカプロイル-バリニン-シトルリン-p-アミノベンジルオキシカルボニル（VC）リンカーによって、MMAE（モノメチルオーリスタチンE）又はMMAF（モノメチルオーリスタチンF）とカップリングした。入手したADCの薬物抗体比率（DAR）は、3～4であった。

20

【0391】

抗体薬物コンジュゲートの名前に対して、「ADC」を、抗体名の直後に加える。例えば、H-2B2-IgG1がMMAEにカップリングすると、H-2B2-IgG1-ADCという名前になる。

【0392】

HPLC及びHIC-HPLCを使用して、抗体の、薬物分子とのカップリングを検出した。SEC-HPLCの試験結果は以下の表に示されている（表13）。アイソタイプコントロールADCに関して、ヒトIgG1アイソタイプコントロールをMMAEにカップリングし、アイソタイプコントロールADCを形成した。

【0393】

30

40

50

【表 13】

表 13. SECクロマトグラフィー

ADC	ADC			抗体	抗体		
	HMW	メインピーク	LMW		HMW	メインピーク	LMW
H-2B2-IgG1-ADC	1.71	98.29	/	H-2B2-IgG1	2.17	97.83	/
H-3C8-IgG1-ADC	/	100.0	/	H-3C8-IgG1	/	100.0	/
H-1H2-IgG1-ADC	/	100.0	/	H-1H2-IgG1	/	100.0	/
T-6F7-IgG1-SI-ADC	2.33	94.53	3.13	T-6F7-IgG1-SI	0.81	98.15	1.04
H-2B2-CD28-ADC	3.41	69.93	26.66	H-2B2-CD28	3.87	77.39	18.74
H-3C8-CD28-ADC	1.80	74.61	23.59	H-3C8-CD28	2.71	79.96	17.33
CD28-T-6F7-ADC	1.97	71.04	26.99	CD28-T-6F7	5.41	81.87	12.72
CD28-H-1H2-ADC	1.18	94.41	4.41	CD28-H-1H2	2.74	94.73	2.53
H-1H2-T-6F7-ADC	1.55	88.25	10.20	H-1H2-T-6F7	2.38	93.40	4.22
H-3C8-T-6F7-ADC	2.28	90.16	7.56	H-3C8-T-6F7	2.67	95.30	2.03
H-2B2-T-6F7-ADC	1.31	90.82	7.87	H-2B2-T-6F7	1.93	92.55	5.52
T-6F7-H-1H2-ADC	0.70	97.77	1.53	T-6F7-H-1H2	1.18	98.09	0.73
サシツズマブ-SI-ADC	5.16	94.84	/	サシツズマブ-SI	1.26	98.74	/
トラスツズマブ-ADC	1.43	98.57	/	トラスツズマブ	6.32	93.68	/
アイソタイプコントロールADC	2.22	97.78	/	アイソタイプコントロール	3.29	96.71	/

【0394】

HIC-HPLCの検出結果を表14に示す。ADCのDARは約3であることを、結果は示した。ここで、平均DARは、0、2、4、6、又は8の、対応する薬物負荷を乗じ、100を除したPA%（PA%は、280nmピークの元の面積により測定される、ピーク面積の割合（%）である）を乗ずることにより測定される。例えば、H-2B2-IgG1-ADCの平均DARは、 $[(7.81 \times 0) + (36.65 \times 2) + (39.81 \times 4) + (12.01 \times 6) + (3.71 \times 8)] / 100 = 3.34$ である。

【0395】

10

20

30

40

50

【表 14】

表 14. HIC-HPLCの試験結果

	各DARピークにおけるPA%					平均DAR
	D0	D2	D4	D6	D8	
H-2B2-IgG1-ADC	7.81	36.65	39.81	12.01	3.71	3.34
H-3C8-IgG1-ADC	4.69	31.40	43.70	15.22	4.99	3.69
H-1H2-IgG1-ADC	8.19	38.70	41.12	9.82	2.16	3.18
T-6F7-IgG1-SI-ADC	9.85	38.72	33.14	9.79	8.51	3.37
H-2B2-CD28-ADC	13.04	37.50	26.82	15.46	7.18	3.32
H-3C8-CD28-ADC	9.23	34.88	32.82	15.31	7.76	3.55
CD28-T-6F7-ADC	9.37	31.49	25.66	23.94	9.55	3.86
CD28-H-1H2-ADC	8.05	37.07	36.09	14.42	4.36	3.40
H-1H2-T-6F7-ADC	6.63	33.01	35.83	17.71	6.82	3.70
H-3C8-T-6F7-ADC	10.74	35.32	32.55	15.84	5.55	3.40
H-2B2-T-6F7-ADC	12.20	40.16	32.26	12.07	3.32	3.08
T-6F7-H-1H2-ADC	8.49	37.06	37.83	13.13	3.49	3.32
サシツズマブ-SI-ADC	15.41	42.55	28.41	7.71	5.92	2.92
トラスツズマブ-ADC	4.52	28.80	40.08	18.08	8.52	3.95
アイソタイプコントロールADC	10.42	36.75	36.59	12.91	3.32	3.24

10

20

30

【0396】

in vitro 殺傷活性

様々な濃度の精製ADC（10000ng/mL、2000ng/mL、400ng/mL、80ng/mL、16ng/mL、3.2ng/mL、0.64ng/mL、0.13ng/mL）を使用して、細胞培養プレートで培養した、ヒト胃癌細胞株NCI-N87、又は、ヒト肺癌細胞株NCI-H292を治療し、Incucyte（Sartorius AG, Incucyte（登録商標）S3）で72時間インキュベーションした後に、殺傷活性を検出した。結果は以下の表に示されている。

【0397】

40

50

【表 15】

表 15. *in vitro* 殺傷結果

ADC	IC50 (ng/mL)	
	NCI-N87	NCI-H292
H-3C8-IgG1-ADC	2.56	65581
H-2B2-IgG1-ADC	2.24	2743
H-1H2-IgG1-ADC	3.96	20813
T-6F7-IgG1-SI-ADC	11.2	126
H-2B2-CD28-ADC	265	2853
H-3C8-CD28-ADC	82.7	2945
CD28-T-6F7-ADC	1500	1505
CD28-H-1H2-ADC	128	3260
H-1H2-T-6F7-ADC	21.8	929
H-2B2-T-6F7-ADC	22.7	167
H-6F7-T-1H2-ADC	19.8	675.5
H-3C8-T-6F7-ADC	17.6	208.5
トラスツズマブ-ADC	14.8	289288
アイソタイプコントロール	2180	36207

10

【0398】

20

NCI-N87細胞株では、HER2/TROP2二重特異性抗体ADCは、より強力な殺傷能力を示し、これは、対照二重特異性抗体のADCよりも強力であった（IC50 > 10倍）。NCI-H292細胞株では、HER2/TROP2二重特異性抗体ADC殺傷は、TROP2モノクローナル抗体ADCよりも低い、HER2モノクローナル抗体ADC、及び、対照二重特異性抗体ADCよりも強力である。HER2/TROP2二重特異性抗体ADCは、HER2/TROP2二重標的発現細胞株を選択的に殺傷したことを、データは示した。加えて、H-2B2-T-6F7-ADCの*in vitro*細胞殺傷能は、親T-6F7-IgG1-SI-ADCの*in vitro*細胞殺傷能と同様であり、H-2B2-T-6F7-ADCが、TROP2高/HER2低腫瘍に対して潜在的な有効性を有することを示唆している。

30

【0399】

実施例6. NCI-H1975異種移植片モデルにおける抗腫瘍活性

肺腺癌のモデルにおいて、*in vivo*での腫瘍増殖における効果に関して、ADCを試験した。約 5×10^6 個のNCI-H1975（肺腺癌細胞）を、B-NDGマウス（Biocytogen Pharmaceuticals (Beijing) Co., Ltd., Beijing, China; カタログ番号B-CM-002）に皮下注射した。マウスでの腫瘍体積が、約 100 mm^3 に達したら、腫瘍体積に基づき、マウスを無作為に異なる群に分けた。次に、マウスに、リン酸緩衝液生理食塩水（PBS）又はADCを、静脈内（i.v.）投与により注射した。

【0400】

40

注入体積は、マウスの体重、及び、 3 mg/kg の所望の用量に基づき計算した。腫瘍の長軸及び短軸を測定し、腫瘍の体積を、 $0.5 \times (\text{長軸}) \times (\text{単軸})^2$ として計算した。マウスの体重もまた、週に2回測定した。

【0401】

腫瘍増殖阻害割合（TGI%）は、以下の式を用いて計算される： $[1 - (Ti - T0) / (Vi - V0)] \times 100$ 。Tiは、i日目における、治療群での平均腫瘍体積である。T0は、0日目における、治療群での平均腫瘍体積である。Viは、i日目における、対照群での平均腫瘍体積である。V0は、0日目における、対照群での平均腫瘍体積である。

【0402】

50

統計分析のためにT検定を実施した。60%を超えるTGI%は、腫瘍増殖のはっきりとした抑制を示す。P<0.05は、有意差を示すための閾値である。

【0403】

【表16】

表16. 群の割り当て

群	マウスの数	ADC	投与量	経路	頻度	投与総数
G1	5	PBS	—	i. v.	QW	2
G2	5	アイソタイプコントロールADC	3mg/kg	i. v.	QW	2
G3	5	トラスツマブ-ADC	3mg/kg	i. v.	QW	2
G4	5	サシツマブ-SI-ADC	3mg/kg	i. v.	QW	2
G5	5	T-6F7-H-1H2-ADC	3mg/kg	i. v.	QW	2
G6	5	H-3C8-T-6F7-ADC	3mg/kg	i. v.	QW	2
G7	5	H-2B2-T-6F7-ADC	3mg/kg	i. v.	QW	2
G8	5	H-1H2-IgG1-ADC	3mg/kg	i. v.	QW	2
G9	5	H-2B2-IgG1-ADC	3mg/kg	i. v.	QW	2
G10	5	H-3C8-IgG1-ADC	3mg/kg	i. v.	QW	2
G11	5	T-6F7-IgG1-ADC	3mg/kg	i. v.	QW	2
G12	5	CD28-H-1H2-ADC	3mg/kg	i. v.	QW	2
G13	5	H-3C8-CD28-ADC	3mg/kg	i. v.	QW	2
G14	5	H-2B2-CD28-ADC	3mg/kg	i. v.	QW	2
G15	5	CD28-T-6F7-ADC	3mg/kg	i. v.	QW	2

【0404】

異なる群におけるマウスの体重は全て、増加した。群を割り当てた日（0日目）に、各群の平均体重は、22.0g~22.6gの範囲であった。実験の終了時（28日目）に、各群の平均体重は、21.3g~24.1gの範囲であり、各群の平均体重は、94.1%~112.2%の範囲であった。試験したADCは全て、十分認容され、マウスに対してははっきりと、毒性を有しないことを、結果は示した。

【0405】

ADCで治療した群における腫瘍サイズを、図7に示す。下表は、本実験に対する結果を一覧にまとめており、グルーピングの日（0日目）、グルーピングの11日後（11日目）、グルーピングの21日後（21日目）、及び、実験の終了時（28日目）における腫瘍体積；マウスの生存率；腫瘍増殖阻害値（TGI）；治療群と対照群とでの、腫瘍体積と体重の統計学的差異（P値）を含む。

【0406】

【表 17】

表 17. 腫瘍サイズの変化

		腫瘍体積 (mm ³)				生残	TGI %	P 値	
		0日目	11日目	21日目	28日目			体重	腫瘍体積
対照	G1	99±3	702±77	1898±221	2745±204	4/5	NA	NA	NA
	G2	99±3	352±35	1138±101	1882±167	5/5	32.6	0.175	0.013
治療	G3	99±3	158±20	478±57	1250±135	5/5	56.5	0.088	3.86E-04
	G4	99±3	128±24	367±36	940±121	5/5	68.2	0.021	9.16E-05
	G5	99±3	70±9	23±3	68±17	5/5	101.2	0.376	1.50E-06
	G6	99±4	51±5	25±2	101±15	5/5	99.9	0.287	1.62E-06
	G7	99±4	56±9	24±3	106±10	5/5	99.7	0.478	1.61E-06
	G8	99±4	80±17	54±24	181±36	5/5	96.9	0.965	2.29E-06
	G9	99±4	67±20	54±14	245±67	5/5	94.5	0.986	4.02E-06
	G10	99±4	41±3	38±6	234±35	5/5	94.9	0.735	2.62E-06
	G11	99±4	87±7	181±35	619±40	5/5	80.4	0.040	8.45E-06
	G12	99±3	101±29	166±31	640±110	5/5	79.6	0.418	2.74E-05
	G13	99±3	90±29	198±38	595±60	5/5	81.3	0.126	9.94E-06
	G14	99±4	104±13	316±49	743±56	5/5	75.7	0.014	1.51E-05
	G15	99±3	261±24	731±137	1097±226	5/5	62.3	0.109	1.16E-03

【0407】

全ての治療群 (G3～G15) における腫瘍体積は、対照群 (G1及びG2) における腫瘍体積よりも小さかった。治療群は、様々な腫瘍阻害効果を有した。T-6F7-H-1H2-ADC (G5)、H-3C8-T-6F7-ADC (G6)、及びH-2B2-T-6F7-ADC (G7) を含む3つの二重特異性抗体ADCは、持続し、かつ強力な腫瘍抑制効果を示した。

【0408】

対応するモノクローナル抗体ADC (G8～G11)、及び、G15を除く対照ADC (G12～G14) もまた、強力な癌抑制因子効果を有した。アイソタイプコントロール (G2) は、強力な腫瘍阻害効果もまた示し、これは、不安定なリンカー、又は、アイソタイプコントロールの非特異的結合に因るものであり得、マウスでのvc-MMAE放出をもたらし、非特異的な殺傷をもたらした。

【0409】

別の実験では、約 5×10^6 個のNCI-H1975細胞を、B-NDGマウスに皮下注射し、腫瘍体積が約300mm³まで成長したら、細胞を対照群と、腫瘍サイズに基づき様々な治療群 (群当たりマウス5匹) に分けた。H-2B2-T-6F7治療 (G2 (3mg/kg) 及びG3 (10mg/kg))、H-2B2-T-6F7-ADC治療 (G4、3mg/kg)、又は、MMAE治療 (G5、0.06mg/kg、G4と等モル用量) のために、治療群を無作為に選択した。対照群のマウスにはPBSを注射した (G1)。投与頻度は、週に1回であった (合計で、2回の投与)。腫瘍体積は週に2回測定し、マウスの体重も同様に測った。

【0410】

抗体で治療した群の腫瘍サイズを図15と表18に示す。これは、対照群と比較して、治療群における腫瘍増殖は、異なる程度まで阻害され、10mg/kgの用量の抗HER2/TROP2二重特異性抗体H-2B2-T-6F7と比較して、3mg/kgの用量での、抗HER2/TROP2二重特異性抗体ADC H-2B2-T-6F7-ADCは、より良い腫瘍阻害効果を得たことを示す。MMAE治療群では、限定的な腫瘍増殖阻害が得られ、H-2B2-T-6F7-ADCのin vivo有効性が、HER2及びTROP2抗原の結合に依存したことを示唆している。

【0411】

10

20

30

40

50

【表 18】

表 18. 腫瘍サイズの変化

群	腫瘍体積 (mm ³)			生残	TGI %	腫瘍体積 のP値
	0日目	11日目	18日目			
G1	307±5	899±29	2169±145	5/5	NA	NA
G2	308±11	833±57	1862±119	5/5	16.5	0.142
G3	307±9	685±18	1735±141	5/5	23.3	0.065
G4	308±10	373±47	201±20	5/5	105.7	9.18E-07
G5	307±6	710±43	1391±49	5/5	41.8	0.001

10

【0412】

別の実験では、約 1×10^6 個のNCI-H1975細胞を、B-NDGマウスに皮下注射し、腫瘍体積が約 300 mm^3 まで成長したら、細胞を、腫瘍サイズに基づき様々な治療群に分けた。投与スキームの詳細を下表に示す。

【0413】

【表 19】

表 19. 群の割り当て

群	マウスの数	抗体	投与量 (mg/kg)	経路	頻度	投与総数
G1	5	PBS	—	i. v.	QW	2
G2	5	H-2B2-T-6F7-ADC	0.3 mg/kg	i. v.	QW	2
G3	5	H-2B2-T-6F7-ADC	1 mg/kg	i. v.	QW	2
G4	5	H-2B2-T-6F7-ADC	3 mg/kg	i. v.	QW	2
G5	5	サシツズマブゴビテカン類似体	1 mg/kg	i. v.	QW	2
G6	5	サシツズマブゴビテカン類似体	3 mg/kg	i. v.	QW	2
G7	5	ジシタマブベドチン	1 mg/kg	i. v.	QW	2
G8	5	ジシタマブベドチン	3 mg/kg	i. v.	QW	2
G9	5	トラスツズマブデルクステカン	1 mg/kg	i. v.	QW	2
G10	5	トラスツズマブデルクステカン	3 mg/kg	i. v.	QW	2

20

【0414】

ジシタマブベドチン (RC48, RemeGen Co., Ltd., 配列番号83; 配列番号84) は、RemeGenにより開発された、HER2及びMMAEペイロードに対する組み換えヒト化モノクローナル抗体を含むADCである。2021年には、HER2発現局所進行性/転移性胃癌 (胃食道接合部癌腫) の治療のために、製品が中国で条件付きで承認された。

30

【0415】

トラスツズマブデルクステカン (Enhertu (登録商標), Daiichi Sankyo Company, Limited., 配列番号85; 配列番号86) は、テトラペプチドリンカーによりトポイソメラーゼI阻害剤ペイロードに結合した、ヒト化抗HER2抗体を含むADCである。製品はまず、転移設定において、以前に抗HER2ベースのレジメンを2回以上受けた、切除不能な、又は、転移性のHER2陽性乳癌を有する成人患者の治療に対して、米国で2020年に発売された。

40

【0416】

腫瘍体積を週に2回測定し、結果を図16及び表20に示す。これらは、同じ用量及び投与頻度で、抗HER2/TROP2二重特異性抗体ADC H-2B2-T-6F7-ADCは、サシツズマブゴビテカン類似体、ジシタマブベドチン、又は、トラスツズマブデルクステカンのものよりも高いTGI%で、腫瘍増殖を阻害したことを示す。加えて、H-2B2-T-6F7-ADCの腫瘍阻害は、用量の増加に伴う、相関傾向を示した。

【0417】

50

【表 20】

表 20. 腫瘍サイズの変化

群	腫瘍体積 (mm ³)			生残	TGI %	腫瘍体積 のP値
	0日目	11日目	18日目			
G1	308±12	1351±108	2391±225	5/5	NA	NA
G2	308±19	925±124	1678±289	5/5	34.2	0.087
G3	309±17	464±81	632±167	5/5	84.5	2.35E-04
G4	308±22	289±30	194±26	5/5	105.5	1.05E-05
G5	308±14	1546±196	2448±424	5/5	-2.7	0.909
G6	309±15	1216±190	2210±420	5/5	8.7	0.713
G7	309±16	1486±111	2553±167	5/5	-7.7	0.580
G8	309±16	633±65	869±183	5/5	73.1	0.001
G9	309±16	1214±206	2004±369	5/5	18.6	0.396
G10	309±20	1004±149	1660±313	5/5	35.1	0.094

10

【0418】

実施例 7. SK-OV-3 異種移植片モデルにおける抗腫瘍活性

卵巣癌のモデルにおいて、*in vivo*での腫瘍増殖における効果に関して、ADCを試験した。約 5×10^6 個の SK-OV-3 細胞を、B-NDG マウスに皮下注射した。マウスでの腫瘍体積が、約 200~250 mm³ に達したら、腫瘍体積に基づき、マウスを無作為に異なる群に分けた。次に、マウスに、PBS 又は ADC を、静脈内 (i.v.) 投与により注射した。投与頻度は、週に 1 回であった (合計で、3 回の投与)。第 1 及び第 2 投与の用量は、共に 3 mg/kg であり、最後の投与は 5 mg/kg であった。投与スキームの詳細を下表に示す。

20

【0419】

【表 21】

表 21. 群の割り当て

群	マウスの数	抗体	経路	頻度	投与総数
G1	5	PBS	i.v.	QW	3
G2	5	H-2B2-T-6F7-ADC	i.v.	QW	3
G3	5	H-2B2-IgG1-ADC	i.v.	QW	3
G4	5	T-6F7-IgG1-SI-ADC	i.v.	QW	3
G5	5	トラスツズマブデルクステカン類似体	i.v.	QW	3
G6	5	DS-1062 類似体	i.v.	QW	3

30

【0420】

腫瘍体積を週に 2 回測定し、結果を図 17 及び表 22 に示す。これらは、抗 HER2/TROP2 二重特異性抗体である ADC H-2B2-T-6F7-ADC が、卵巣癌モデルにおいて、3 mg/kg で最大の腫瘍増殖阻害を有したことを示す。さらに、抗 HER2 モノクローナル抗体である ADC H-2B2-IgG1-ADC からは、陽性対照であるトラスツズマブデルクステカン類似体よりも良い有効性が得られ、抗 TROP2 モノクローナル抗体である ADC H-2B2-T-6F7-ADC からは、陽性対照である DS-1062 類似体よりも良い有効性が得られた。

40

【0421】

50

【表 2 2】

表 2 2. 腫瘍サイズの変化

群	腫瘍体積 (mm ³)				T G I %	腫瘍体積 の P 値
	0 日目	1 3 日目	2 3 日目	3 3 日目		
G 1	2 3 0 ± 1 2	5 6 0 ± 3 6	7 4 6 ± 5 4	1 0 9 7 ± 6 6	NA	NA
G 2	2 3 0 ± 1 2	3 3 4 ± 2 1	2 3 2 ± 2 9	3 1 9 ± 5 6	8 9. 7	8. 0 9 E - 0 6
G 3	2 3 0 ± 1 5	3 0 6 ± 1 6	2 4 6 ± 3 3	3 6 2 ± 3 4	8 4. 7	2. 5 6 E - 0 6
G 4	2 3 0 ± 1 5	4 7 2 ± 2 6	4 9 0 ± 4 6	6 8 2 ± 7 3	4 7. 8	0. 0 0 3
G 5	2 2 9 ± 1 5	3 6 1 ± 2 4	3 9 2 ± 3 2	5 8 3 ± 5 1	5 9. 2	1. 5 1 E - 0 4
G 6	2 3 0 ± 1 5	6 2 3 ± 6 8	8 3 3 ± 7 8	1 2 1 3 ± 1 1 5	- 1 3. 4	0. 4 2 9

10

【0 4 2 2】

別の実験では、約 5×10^6 個の SK-OV-3 細胞を、B-NDG マウスに皮下注射し、腫瘍体積が約 $200 \sim 250 \text{ mm}^3$ まで成長したら、細胞を対照群と、腫瘍サイズに基づき 4 つの治療群（群当たりマウス 5 匹）に分けた。0.3 mg/kg (G 2)、1 mg/kg (G 3)、3 mg/kg (G 4)、又は、10 mg/kg (G 5) における、H-2B2-T-6F7-ADC の静脈内 (i. v.) 投与のために、治療群マウスを無作為に選択した。対照群マウスに等体積の PBS (G 1) を注射した。投与頻度は、週に 1 回であった（合計で、2 回の投与）。腫瘍体積を週に 2 回測定し、結果を表 2 3 に示す。これは、H-2B2-T-6F7-ADC が、用量依存的に、持続した腫瘍阻害活性を示すことを示す。

20

【0 4 2 3】

【表 2 3】

表 2 3. 腫瘍サイズの変化

群	腫瘍体積 (mm ³)				T G I %	腫瘍体積 の P 値
	0 日目	1 1 日目	2 1 日目	3 5 日目		
G 1	2 0 8 ± 8	4 9 7 ± 3 2	9 3 7 ± 6 1	1 2 9 1 ± 1 1 5	NA	NA
G 2	2 0 7 ± 1 0	4 8 2 ± 4 1	7 5 2 ± 5 1	1 1 6 9 ± 6 9	1 1. 2	0. 3 9 2
G 3	2 0 7 ± 1 3	3 7 8 ± 1 8	6 0 4 ± 1 9	9 5 2 ± 7 7	3 1. 3	0. 0 5 5
G 4	2 0 7 ± 1 2	3 2 1 ± 3 2	4 3 3 ± 4 7	5 6 8 ± 7 0	6 6. 7	0. 0 0 1
G 5	2 0 7 ± 1 2	1 3 2 ± 1 1	3 8 ± 7	5 9 ± 2 4	1 1 3. 6	6. 0 6 E - 0 6

30

【0 4 2 4】

実施例 8. NCI-N87 モデルにおける抗腫瘍活性

胃癌のモデルにおいて、in vivo での腫瘍増殖における効果に関して、ADC を試験した。約 5×10^6 個の NCI-N87 細胞を、B-NDG マウスに皮下注射した。マウスでの腫瘍体積が、約 150 mm^3 に達したら、腫瘍体積に基づき、マウスを無作為に異なる群に分けた。次に、マウスに、PBS 又は ADC を、静脈内 (i. v.) 投与により注射した。投与スキームの詳細を下表に示す。

40

【0 4 2 5】

50

【表 2 4】

表 2 4. 群の割り当て

群	マウスの数	抗体	投与量 (mg/kg)	経路	頻度	投与総数
G 1	5	PBS	—	i. v.	QW	1
G 2	5	H-2B2-T-6F7-ADC	1 mg/kg	i. v.	QW	1
G 3	5	H-2B2-T-6F7-ADC	3 mg/kg	i. v.	QW	1
G 4	5	H-2B2-IgG1-ADC	1 mg/kg	i. v.	QW	1
G 5	5	H-2B2-IgG1-ADC	3 mg/kg	i. v.	QW	1
G 6	5	T-6F7-IgG1-SI-ADC	1 mg/kg	i. v.	QW	1
G 7	5	T-6F7-IgG1-SI-ADC	3 mg/kg	i. v.	QW	1
G 8	5	サシツズマブゴビテカン類似体	1 mg/kg	i. v.	QW	1
G 9	5	サシツズマブゴビテカン類似体	3 mg/kg	i. v.	QW	1
G 10	5	ジシタマブベドチン	1 mg/kg	i. v.	QW	1
G 11	5	ジシタマブベドチン	3 mg/kg	i. v.	QW	1
G 12	5	トラスツズマブデルクステカン	1 mg/kg	i. v.	QW	1
G 13	5	トラスツズマブデルクステカン	3 mg/kg	i. v.	QW	1

10

【0 4 2 6】

腫瘍体積を週に 2 回測定し、結果を表 2 5 に示す。これは、抗HER2/TROP2 二重特異性抗体であるADC H-2B2-T-6F7-ADCが、胃癌NCI-N87モデルにおいて、3 mg/kgで最大の腫瘍増殖阻害を有したことを示す。抗TROP2モノクローナル抗体ADCの中でも、T-6F7-IgG1-SI-ADCでは、1 mg/kg及び3 mg/kgの用量の両方において、陽性対照であるサシツズマブゴビテカン類似体よりも良い有効性が得られた。抗HER2モノクローナル抗体であるADC H-2B2-IgG1-ADCではまた、1 mg/kg及び3 mg/kgの用量の両方において、陽性対照であるジシタマブベドチン及びトラスツズマブデルクステカンよりも良い有効性が得られた。

20

【0 4 2 7】

【表 2 5】

表 2 5. 腫瘍サイズの変化

群	腫瘍体積 (mm ³)				TGI %	腫瘍体積 のP値
	0日目	11日目	21日目	32日目		
G 1	142±3	269±18	297±21	409±40	NA	NA
G 2	143±4	141±6	103±7	133±14	103. 7	1. 87E-04
G 3	142±3	92±5	42±6	48±6	135. 2	2. 10E-05
G 4	142±4	153±6	118±11	181±20	85. 6	0. 001
G 5	142±6	91±14	50±11	64±18	129. 6	4. 99E-05
G 6	143±5	206±22	197±22	269±32	52. 6	0. 026
G 7	142±4	120±4	84±5	124±13	106. 8	1. 50E-04
G 8	143±4	222±14	237±25	337±31	27. 1	0. 196
G 9	143±5	193±11	232±17	313±20	36. 3	0. 063
G 10	142±5	207±19	210±22	335±55	27. 7	0. 310
G 11	143±4	122±11	98±15	116±11	110. 1	1. 10E-04
G 12	143±6	162±7	147±7	250±13	59. 7	0. 006
G 13	143±6	105±9	89±11	116±20	109. 9	1. 87E-04

40

【0 4 2 8】

実施例 9. BT474モデルにおける抗腫瘍活性

乳癌のモデルにおいて、in vivoでの腫瘍増殖における効果に関して、ADCを

50

試験した。約 1×10^7 個の B T - 4 7 4 細胞を、B - N D G マウスに皮下注射した。マウスでの腫瘍体積が、約 200 mm^3 に達したら、腫瘍体積に基づき、マウスを無作為に異なる群に分けた。次に、マウスに、P B S 又は A D C を、静脈内 (i . v .) 投与により注射した。投与スキームの詳細を下表に示す。

【 0 4 2 9 】

【表 2 6】

表 2 6. 群の割り当て

群	マウスの数	抗体	投与量 (mg / kg)	経路	頻度	投与総数
G 1	6	P B S	—	i . v .	QW	2
G 2	6	アイソタイプコントロールADC	3 mg / kg	i . v .	QW	2
G 3	6	H - 2 B 2 - T - 6 F 7 - ADC	3 mg / kg	i . v .	QW	2
G 4	6	H - 2 B 2 - I g G 1 - ADC	3 mg / kg	i . v .	QW	2
G 5	6	T - 6 F 7 - I g G 1 - S I - ADC	3 mg / kg	i . v .	QW	2
G 6	6	サシツズマブゴビテカン類似体	3 mg / kg	i . v .	QW	2
G 7	6	ジシタマブベドチン	3 mg / kg	i . v .	QW	2
G 8	6	トラスツズマブデルクステカン	3 mg / kg	i . v .	QW	2

10

【 0 4 3 0 】

腫瘍体積を週に 2 回測定し、結果を図 1 8 に示す。これは、抗 H E R 2 / T R O P 2 二重特異性抗体である A D C H - 2 B 2 - T - 6 F 7 - A D C が、H E R 2 高発現乳癌 B T - 4 7 4 モデルにおいて、 3 mg / kg で最大の腫瘍増殖阻害を有したことを示す (2 3 日目において、 $\text{TGI} \% = 122.0 \%$)。抗 T R O P 2 モノクローナル抗体 A D C の中でも、T - 6 F 7 - I g G 1 - S I - A D C では、陽性対照であるサシツズマブゴビテカン類似体よりも良い有効性が得られた (それぞれ、 $\text{TGI} \% = 68.7 \%$ 及び 51.4%)。抗 H E R 2 モノクローナル抗体である A D C H - 2 B 2 - I g G 1 - A D C ではまた、陽性対照であるジシタマブベドチン及びトラスツズマブデルクステカンよりも良い有効性が得られた (それぞれ、 $\text{TGI} \% = 121.9 \%$ 、 94.4% 、及び 92.9%)。

20

【 0 4 3 1 】

実施例 1 0 . N C I - H 2 9 2 モデルにおける抗腫瘍活性

N C I - H 2 9 2 肺癌モデルにおける、腫瘍増殖での A D C の影響を試験した。約 5×10^6 個の N C I - H 2 9 2 細胞を、B - N D G マウスに皮下注射した。マウスでの腫瘍体積が、約 300 mm^3 に達したら、腫瘍体積に基づき、マウスを無作為に異なる群に分けた。次に、マウスに、P B S 又は A D C を、静脈内 (i . v .) 投与により注射した。投与スキームの詳細を下表に示す。

30

【 0 4 3 2 】

40

50

【表 2 7】

表 2 7. 群の割り当て

群	マウスの数	抗体	投与量 (mg/kg)	経路	頻度	投与総数
G 1	5	PBS	—	i. v.	QW	1
G 2	5	H-2B2-T-6F7-ADC	1 mg/kg	i. v.	QW	1
G 3	5	H-2B2-T-6F7-ADC	3 mg/kg	i. v.	QW	2
G 4	5	H-2B2-T-6F7-ADC	10 mg/kg	i. v.	QW	1
G 5	5	サシツズマブゴビテカン類似体	1 mg/kg	i. v.	QW	1
G 6	5	サシツズマブゴビテカン類似体	3 mg/kg	i. v.	QW	2
G 7	5	サシツズマブゴビテカン類似体	10 mg/kg	i. v.	QW	1
G 8	5	トラスツズマブデルクステカン	1 mg/kg	i. v.	QW	1
G 9	5	トラスツズマブデルクステカン	3 mg/kg	i. v.	QW	2
G 10	5	トラスツズマブデルクステカン	10 mg/kg	i. v.	QW	1

【0 4 3 3】

腫瘍体積を週に 2 回測定し、結果を表 2 8 に示す。これは、抗 HER2/TROP2 二重特異性抗体である ADC H-2B2-T-6F7-ADC が、用量依存的に腫瘍増殖を阻害し、それぞれ、1 mg/kg、3 mg/kg、及び 10 mg/kg において、治療群において最大の TGI % を得たことを示す。抗 HER2/TROP2 二重特異性抗体である ADC H-2B2-T-6F7-ADC は、HER2 低発現腫瘍の治療に対する治療の可能性を有することを、結果は示す。

【0 4 3 4】

【表 2 8】

表 2 8. 腫瘍サイズの変化

群	腫瘍体積 (mm ³)				TGI %	腫瘍体積 の P 値
	0 日目	1 1 日目	2 1 日目	3 2 日目		
G 1	311±14	918±88	1492±144	1914±205	NA	NA
G 2	311±20	656±67	1097±157	1484±104	26.9	0.098
G 3	311±25	452±48	546±81	925±76	61.7	0.005
G 4	311±19	140±21	323±38	605±17	81.6	2.20E-04
G 5	311±19	710±51	1291±149	1629±161	17.8	0.305
G 6	311±17	574±46	801±14	1132±43	48.8	0.006
G 7	311±20	487±51	833±39	1118±37	49.7	0.005
G 8	311±14	743±68	1286±71	1927±156	-0.7	0.963
G 9	311±18	529±45	714±11	1141±84	48.2	0.016
G 10	310±18	252±31	549±31	899±42	63.3	0.001

【0 4 3 5】

実施例 1 1. ヒト脾臓の患者由来の異種移植片 (PDX) モデルにおける in vivo 有効性

【0436】

2つのヒト膵臓PDX（PDX001及びPDX002）モデルにおける、ADCの効果を試験した。患者由来の膵臓腫瘍断片の、免疫蛍光染色を行い、HALO3.2バージョンで、画像を分析した。PDX001における、HER2陽性細胞及びTROP2陽性細胞は、それぞれ84.72%及び89.09%であることを、結果は示した。PDX002では、HER2陽性細胞及びTROP2陽性細胞は、それぞれ、86.34%及び89.17%であった。

【0437】

PDX001モデルでは、患者由来の膵臓腫瘍断片（2mm×2mm×2mm）を、B-NDGマウスの右脇腹に移植した。マウスでの腫瘍体積が、約300～400mm³に達したら、腫瘍体積に基づき、マウスを無作為に異なる群に分けた。次に、マウスに、PBS又はADCを、静脈内（i.v.）投与により注射した。投与スキームの詳細を下表に示す。

【0438】

【表29】

表29. 群の割り当て

群	マウスの数	抗体	投与量 (mg/kg)	経路	頻度	投与総数
G1	6	PBS	—	i.v.	QW	1
G2	6	H-2B2-T-6F7-ADC	5 mg/kg	i.v.	QW	1
G3	6	H-2B2-IgG1-ADC	5 mg/kg	i.v.	QW	1
G4	6	T-6F7-IgG1-SI-ADC	5 mg/kg	i.v.	QW	1
G5	6	サシツズマブゴビテカン類似体	5 mg/kg	i.v.	QW	1
G6	6	ジシタマブベドチン	5 mg/kg	i.v.	QW	1
G7	6	トラスツズマブデルクステカン	5 mg/kg	i.v.	QW	1

【0439】

腫瘍体積を週に2回測定し、結果を図19に示す。これは、H-2B2-T-6F7-ADC（G2）、H-2B2-IgG1-ADC（G3）、及びT-6F7-IgG1-SI-ADC（G4）での治療によって、HER2/TROP2同時発現ヒト膵臓PDXモデルにおける、著しい腫瘍増殖阻害がもたらされたことを示し、TGI%は、38日目（グループ分けの38日後）において、それぞれ、100.5%、88.2%、及び66.4%であった。

【0440】

PDX002モデルでは、マウスの腫瘍が、約250～300mm³の体積に達したときに、細胞を対照群と、腫瘍サイズに基づき様々な治療群（群当たりマウス5匹）に分けた。3mg/kgのH-2B2-T-6F7-ADC治療（G2）、H-2B2-IgG1-ADC治療（G3）、T-6F7-IgG1-SI-ADC治療（G4）、サシツズマブゴビテカン類似体治療（G5）、ジシタマブベドチン治療（G6）、又は、トラスツズマブデルクステカン治療（G7）のために、治療群を無作為に選択した。対照群のマウスにはPBSを注射した（G1）。投与頻度は、週に1回であった（合計で、1回の投与）。

【0441】

ADCで治療した群における腫瘍サイズを、図20に示す。上記のin vivoでの発見に一致して、H-2B2-T-6F7-ADC（G2）、H-2B2-IgG1-ADC（G3）、及びT-6F7-IgG1-SI-ADC（G4）によって、実質的な抗腫瘍活性がもたらされ、TGI%は、21日目（グループ分けの21日後）において、それぞれ、107.5%、91.9%、及び88.2%であった。

【0442】

実施例12. 毒性学的研究

B-N D Gマウスにおける毒性学的研究

B-N D Gマウスにおいて、抗HER2／TROP2二重特異性抗体ADCの毒性を測定した。具体的には、マウスを6つの群に配置し（1群当たりマウス12匹）、静脈内注射により、生理食塩水（G1）、又は、10mg／kg（G2）、30mg／kg（G3）、50mg／kg（G4）、70mg／kg（G5）、若しくは100mg／kg（G6）で、H-2B2-T-6F7-ADCを投与した。投与頻度は、週に1回であった（合計で、1回の投与）。投与スキームの詳細を下表に示す。

【0443】

【表30】

表30. 群の割り当て

群	マウスの数	抗体	投与量 (mg／kg)	経路	頻度	投与総数
G1	12	生理食塩水	—	i. v.	単回投与	1
G2	12	H-2B2-T-6F7-ADC	10 mg／kg	i. v.	単回投与	1
G3	12	H-2B2-T-6F7-ADC	30 mg／kg	i. v.	単回投与	1
G4	12	H-2B2-T-6F7-ADC	50 mg／kg	i. v.	単回投与	1
G5	12	H-2B2-T-6F7-ADC	70 mg／kg	i. v.	単回投与	1
G6	12	H-2B2-T-6F7-ADC	100 mg／kg	i. v.	単回投与	1

【0444】

体重を、最初の週は毎日測定し、その後、4週間後に実験が終了するまでは、週に2回測定した。図21A～21Bに示すように、G5群及びG6群のマウスは、著しい体重減少を示し、他の治療群のマウスでは、対照群マウスと比較して、体重の有意差は示されなかった。100mg／kgのH-2B2-T-6F7-ADCを受けるG6群において、マウスが1匹死亡した。

【0445】

C57BL／6マウス及びhHER2／TROP2マウスにおける、毒性学的研究

前回の実験と同様に、C57BL／6マウス、及びhHER2／TROP2マウスにおける、抗HER2／TROP2二重特異性抗体ADCの毒性を測定した。

【0446】

HER2ヒト化マウスを、TROP2ヒト化マウスと交差させることにより、hHER2／TROP2マウスを生成した。HER2ヒト化マウスを組み換え、キメラHER2タンパク質（配列番号87）を発現させ、ここで、マウスHER2タンパク質の細胞外及び膜貫通領域は、対応するヒトTNFR2細胞外及び膜貫通領域で置き換えた。TROP2ヒト化マウスを組み換え、ヒトTROP2タンパク質（配列番号88）を発現させ、ここで、マウスTROP2遺伝子のコード領域は、対応するヒトTROP2コード領域で置き換えた。HER2ヒト化マウス及びTROP2ヒト化マウスに関する詳細の説明は、CN202110959814.8及びCN202111119814.3に見出すことができ、これらそれぞれの全体が、本明細書に参照により組み込まれている。

【0447】

hHER2／TROP2マウス及びC57BL／6マウスを、体重に基づいて異なる群（群当たり6匹のマウス）に分け、静脈内注射により、生理食塩水、H-2B2-T-6F7-ADC（10mg／kg、30mg／kg、90mg／kg）、又は、MMAE（0.19mg／kg、0.57mg／kg、1.14mg／kg、及び1.71mg／kg、それぞれ、10mg／kg、30mg／kg、60mg／kg、及び90mg／kg

でのH-2B2-T-6F7-ADCと等量)を投与した。投与頻度は、週に1回であった(合計で、1回の投与)。投与スキーム、及び7日目での生存の詳細を下表に示す。

【0448】

【表31】

表31. 群の割り当て

群	マウスの数	マウス	抗体	投与量 (mg/kg)	頻度	生残
G1	6	C57BL/6マウス	生理食塩水	—	QW	6/6
G2	6	C57BL/6マウス	H-2B2-T-6F7-ADC	10 mg/kg	QW	6/6
G3	6	C57BL/6マウス	H-2B2-T-6F7-ADC	30 mg/kg	QW	6/6
G4	6	C57BL/6マウス	H-2B2-T-6F7-ADC	90 mg/kg	QW	6/6
G5	6	C57BL/6マウス	MMAE	0.19 mg/kg	QW	6/6
G6	6	C57BL/6マウス	MMAE	0.57 mg/kg	QW	6/6
G7	6	C57BL/6マウス	MMAE	1.14 mg/kg	QW	5/6
G8	6	C57BL/6マウス	MMAE	1.71 mg/kg	QW	5/6
G9	6	hHER2/TROP2マウス	H-2B2-T-6F7-ADC	10 mg/kg	QW	6/6
G10	6	hHER2/TROP2マウス	H-2B2-T-6F7-ADC	30 mg/kg	QW	6/6
G11	6	hHER2/TROP2マウス	H-2B2-T-6F7-ADC	90 mg/kg	QW	5/6

【0449】

体重は、1週間後の実験終了時まで毎日測定した。G1～G6、及びG9～G10において、マウス全てが生存したことを、結果は示した。しかし、治療群G7、G8、及びG11は、若干の毒性を示した。

【0450】

実施例13. ヒト結腸直腸癌PDXモデルにおけるin vivo有効性

ヒト結腸直腸癌患者由来の異種移植片モデルにおける、ADCの効果を試験した。患者由来の結腸腫瘍断片の、免疫蛍光染色を行い、HALO3.2バージョンで、画像を分析した。ヒト結腸腫瘍組織における、HER2陽性細胞及びTROP2陽性細胞の割合は、それぞれ13.28%及び15.30%であることを、結果は示した。患者由来の結腸腫瘍断片(2mm×2mm×2mm)を、B-NDGマウスの右脇腹に移植した。マウスでの腫瘍体積が、約250～300mm³に達したら、腫瘍体積に基づき、マウスを無作為に異なる群に分けた。次に、マウスに、PBS又はADCを、静脈内(i.v.)投与により注射した。投与スキームの詳細を下表に示す。

【0451】

10

20

30

40

50

【表 3 2】

表 3 2. 群の割り当て

群	マウスの数	抗体	投与量 (mg/kg)	経路	頻度	投与総数
G 1	5	PBS	—	i. v.	QW	2
G 2	5	H-2B2-T-6F7-ADC	6 mg/kg	i. v.	QW	2
G 3	5	サシツズマブゴビテカン	10 mg/kg	i. v.	BIW	4
G 4	5	ジシタマブベドチン	6 mg/kg	i. v.	QW	2
G 5	5	トラスツズマブデルクステカン	6 mg/kg	i. v.	QW	2

10

【0 4 5 2】

腫瘍体積を週に 2 回測定し、結果を表 3 3 及び図 2 2 に示す。PBS (G 1) 及びサシツズマブゴビテカン (G 3) と比較して、H-2B2-T-6F7-ADC (G 2)、ジシタマブベドチン (G 4)、及びトラスツズマブデルクステカン (G 5) は、顕著な抗腫瘍効果を示し、H-2B2-T-6F7-ADC は、39 日目に、96.4% の高い TGI % で腫瘍増殖を阻害した。加えて、H-2B2-T-6F7-ADC 治療群、及びトラスツズマブデルクステカン治療群は、グループ分けの後 49 日間続き (49 日目)、H-2B2-T-6F7-ADC は、HER2 低発現のヒト結腸 PDX モデルにおいて、トラスツズマブデルクステカン治療群よりも良好な腫瘍阻害を示した。

20

【0 4 5 3】

【表 3 3】

表 3 3. 腫瘍サイズの変化

群	腫瘍体積 (mm ³)				生残 (39 日目)	TGI % (39 日目)	腫瘍体積 の P 値
	0 日目	14 日目	28 日目	39 日目			
G 1	270±17	933±141	1938±287	2040±88	3/5	NA	NA
G 2	270±20	151±54	181±109	333±172	5/5	96.4	3.71E-04
G 3	270±18	682±57	1726±151	2520±379	5/5	-27.1	0.383
G 4	270±19	291±74	600±154	1022±249	5/5	57.5	0.024
G 5	270±24	133±10	212±33	544±77	5/5	84.5	1.67E-05

30

【0 4 5 4】

実施例 1 4. ヒト肺癌 PDX モデルにおける in vivo 有効性

ヒト肺癌患者由来の異種移植片モデルにおける、ADC の効果を試験した。患者由来の肺腫瘍断片の、免疫蛍光染色を行い、HALO 3. 2 バージョンで、画像を分析した。ヒト肺腫瘍組織における、HER2 陽性細胞及び TROP 2 陽性細胞の割合は、それぞれ 67.05% 及び 72.04% であることを、結果は示した。患者由来の肺腫瘍断片 (2 mm×2 mm×2 mm) を、B-NDG マウスの右脇腹に移植した。マウスでの腫瘍体積が、約 250~300 mm³ に達したら、腫瘍体積に基づき、マウスを無作為に異なる群に分けた。次に、マウスに、PBS 又は ADC を、静脈内 (i. v.) 投与により注射した。投与スキームの詳細を下表に示す。

40

【0 4 5 5】

50

【表 3 4】

表 3 4. 群の割り当て

群	マウスの数	抗体	投与量 (mg/kg)	経路	頻度	投与総数
G ₁	5	PBS	—	i. v.	QW	2
G ₂	5	H-2B2-T-6F7-ADC	3 mg/kg	i. v.	QW	2
G ₃	5	H-2B2-T-6F7-ADC	6 mg/kg	i. v.	QW	2
G ₄	5	H-2B2-IgG1-ADC	3 mg/kg	i. v.	QW	2
G ₅	5	T-6F7-IgG1-SI-ADC	3 mg/kg	i. v.	QW	2
G ₆	5	サシツズマブゴビテカン	10 mg/kg	i. v.	BIW	4
G ₇	5	ジシタマブベドチン	6 mg/kg	i. v.	QW	2
G ₈	5	トラスツズマブデルクステカン	6 mg/kg	i. v.	QW	2

【0 4 5 6】

腫瘍体積を週に2回測定し、結果を表35及び図23に示す。3 mg/kgのH-2B2-T-6F7-ADC (G₂)では、親モノクローナル抗体H-2B2-IgG1-ADC (G₄)及びT-6F7-IgG1-SI-ADC (G₅)よりも良い抗腫瘍活性が得られた。加えて、H-2B2-IgG1-ADCでは、HER2低発現ヒト肺PDXモデルにおける、6 mg/kgの用量での、陽性対照ジシタマブベドチン及びトラスツズマブデルクステカンよりも、3 mg/kgの用量においてさえも、顕著な腫瘍増殖阻害が得られた。

【0 4 5 7】

【表 3 5】

表 3 5. 腫瘍サイズの変化

群	腫瘍体積 (mm ³)			TGI % (28日目)	腫瘍体積 のP値
	0日目	14日目	28日目		
G ₁	270±8	1221±97	3309±451	NA	NA
G ₂	270±15	337±22	372±116	96.7	2.06E-04
G ₃	270±15	208±17	95±11	105.8	8.40E-05
G ₄	270±11	572±79	1238±214	68.2	0.003
G ₅	270±10	558±64	1291±199	66.4	0.003
G ₆	270±14	568±31	1639±122	55.0	0.005
G ₇	270±13	555±54	865±207	80.4	0.001
G ₈	270±13	420±11	1051±167	74.3	0.001

【0 4 5 8】

マウス腫瘍体積及び生存を、28日目以降も引き続き監視した。実験の終了時(63日目)に、過剰の腫瘍体積のため、群G₁~G₈(G₃を除く)のマウス全てを安楽死させ、群G₃では、マウス全てが、514±172 mm³の平均腫瘍体積で生存し、H-2B2-T-6F7-ADCが強力な治療可能性を有することを示している。

【0 4 5 9】

実施例15. ヒト胃癌PDXモデルにおけるin vivo有効性

ヒト胃癌患者由来の異種移植片モデルにおける、ADCの効果を試験した。患者由来の

胃腫瘍断片の、免疫蛍光染色を行い、HER2陽性細胞及びTROP2陽性細胞の割合は、それぞれ0.08%及び0.34%であることを、結果は示した。患者由来の胃癌腫瘍断片(2mm×2mm×2mm)を、B-NDGマウスの右脇腹に移植した。マウスでの腫瘍体積が、約150～200mm³に達したら、腫瘍体積に基づき、マウスを無作為に異なる群に分けた。次に、マウスに、PBS又はADCを、静脈内(i.v.)投与により注射した。投与スキームの詳細を下表に示す。

【0460】

【表36】

表36. 群の割り当て

群	マウスの数	抗体	投与量 (mg/kg)	経路	頻度	投与総数
G1	5	PBS	—	i.v.	QW	2
G2	5	H-2B2-T-6F7-ADC	3 mg/kg	i.v.	QW	2
G3	5	H-2B2-T-6F7-ADC	6 mg/kg	i.v.	QW	2
G4	5	サシツズマブゴビテカン	10 mg/kg	i.v.	BIW	4
G5	5	ジシタマブペドチン	6 mg/kg	i.v.	QW	2
G6	5	トラスツズマブデルクステカン	6 mg/kg	i.v.	QW	2

10

【0461】

腫瘍体積を週に2回測定し、結果を表37及び図24に示す。H-2B2-T-6F7-ADCでは、HER2低発現ヒト胃PDXモデルにおける、6mg/kgの用量での、陽性対照ジシタマブペドチン及びトラスツズマブデルクステカンの抗腫瘍活性よりも良い抗腫瘍活性が得られたことを、実験結果は示している。

20

【0462】

【表37】

表37. 腫瘍サイズの変化

群	腫瘍体積 (mm ³)			TGI% (28日目)	腫瘍体積 のP値
	0日目	14日目	28日目		
G1	165±13	635±63	1202±163	NA	NA
G2	166±13	177±35	381±116	79.3	0.004
G3	165±15	101±20	180±36	98.6	2.42E-04
G4	166±20	282±20	554±69	62.5	0.005
G5	166±18	160±39	341±56	83.2	0.001
G6	166±14	263±44	655±126	52.8	0.031

30

【0463】

実施例16. 抗HER2/TROP2 ADCの、in vitro血漿安定性試験
H-2B2-T-6F7-ADC、ヒト血漿、サル血漿、及び0.5% BSA PBS溶液をそれぞれ、滅菌のために、0.22µmフィルターに通して濾過した。H-2B2-T-6F7-ADCを、0.1mg/mLの終濃度で、滅菌した血漿、又は、PBS中の0.5% BSA溶液に添加し、反応溶液を、37℃で、インキュベーター内でインキュベートした。インキュベーション日を0日目として記し、試料を、LC-MS(液体クロマトグラフ-質量分析計)による遊離MMAEの検出のために、それぞれ、1、2、6、8、11、及び14日目に採取した。抗体MMAE全てに対する遊離MMAEの比率(以下、MMAE放出率(%)と呼ぶ)を、計算した。

40

【0464】

結果を図25に示した。これは、H-2B2-T-6F7-ADCが、ヒト及びサル血漿の両方、加えて、PBS中の0.5% BSAの溶液においてかなり安定していることを示し、最大でも1.0%以下の遊離MMAEの放出率であった。

【0465】

50

他の実施形態

本発明をその詳細な説明と併せて説明してきたが、上記の説明は例示を目的とするものであり、添付の特許請求の範囲によって規定される本発明の範囲を限定するものではないことを理解されたい。他の態様、利点、及び修正は、以下の特許請求の範囲内である。

【図面】

【図 1】

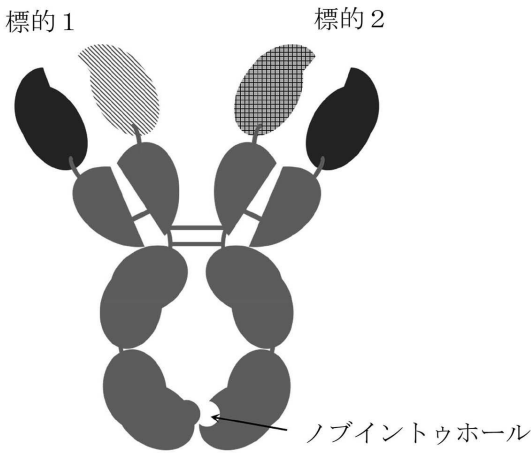


図 1

【図 2】

抗体	NCI-N87		
	8時間	16時間	24時間
アイソタイプコントロール	57632	93854	158699
トラスツマブ類似体	2884434	5384491	7215002
サシツマブ類似体	1974395	3382836	4278047
H-2B2-IgG1	4632887	8131793	1.13E+07
H-3C8-IgG1	7346094	1.22E+07	1.63E+07
H-1H2-IgG1	5150890	9140307	1.26E+07
T-6F7-IgG1-S1	3497961	7016642	9101610
H-2B2-CD28	483864	2586718	4572333
H-3C8-CD28	3030699	8611865	1.17E+07
CD28-H-1H2	918841	4082744	6293248
CD28-T-6F7	85759	232552.6	436094
H-2B2-T-6F7	5967678	1.25E+07	1.70E+07
H-3C8-T-6F7	6824880	1.23E+07	1.68E+07
T-6F7-H-1H2	4412660	9359578	1.30E+07
H-1H2-T-6F7	6010682	1.38E+07	1.79E+07

図 2

【図 3】

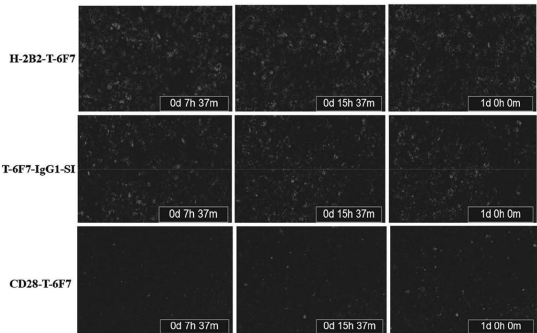


図 3

【図 4】

抗体	NCI-H292		
	8時間	16時間	24時間
アイソタイプコントロール	223005	247905	214310
トラスツマブ類似体	295895	338663	315231
サシツマブ類似体	743533	705831	645196
H-2B2-IgG1	243514	318710	347336
H-3C8-IgG1	337763	408426	377375
H-1H2-IgG1	298504	372993	350599
T-6F7-IgG1-S1	2634529	2627292	2426588
H-2B2-CD28	338839	313975	259500
H-3C8-CD28	334354	365161	336414
CD28-H-1H2	304927	365330	347106
CD28-T-6F7	318732	388145	357796
H-2B2-T-6F7	1325852	1377931	1216676
H-3C8-T-6F7	1149936	1130128	986298
T-6F7-H-1H2	856261	922485	814115
H-1H2-T-6F7	724068	903573	977152

図 4

【図 9】

抗HER2抗体のChothia CDR

Ab	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	配列番号	VH CDR3	配列番号	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	配列番号
H-1 H2	GFTF DDY	22 DS	NWNG DS	23	DIGSSGHN WFD	24	RASQSV SYLA	DASN RAT	5	QQRSNW PPT
H-2 B2	GFTF DDY	25 DS	NWNG DS	26	DEGPATGWN WFD	27	RASQSV SYLA	DASN RAT	5	QQRSNW PPT
H-3 E3	GFTF SSY	28 SE	KGDE SE	29	ENNYGFDH SE	30	RASQSV SYLA	DASN RAT	5	QQRSNW PPT
H-3 C6	GFTF SSY	31 SY	SRFI SY	32	DLHDSGDSV Y	33	RASQSV SYLA	DASN RAT	5	QQRSNW PPT
H-3 C8	GFTF DDH	34 GS	NWNG GS	35	DQGMATGYN WFD	36	RASQSV SYLA	DASN RAT	5	QQRSNW PPT

図 9

【図 1 1】

抗TROP2抗体のKabata CDR

Ab	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	配列番号	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	配列番号
T-3 A4	SSSY WG	43 SLKS	HDEYN FDI	44	RASQS VSSYL A	DASN RAT	2 T	QQRS NWPP
T-4 B9	STGY WG	46 SLKS	HDEYY TTYGA FDI	47	RASQS VSSYL A	DASN RAT	2 T	QQRS NWPP
T-6 F7	SGYY WG	49 SLKS	QPITY AGHDA FDI	50	RASQS VSSYL A	DASN RAT	2 T	QQRS NWPP

図 1 1

【図 1 0】

抗TROP2抗体のChothia CDR

Ab	説明	アミノ酸配列	配列番号
H-1H2 ("1H2")	重鎖可変領域	EVQLVQSGGIVRPGGSLRLSCAASGFTFDYDGMSWVRQAPGKG LEWVSGLNWNGDSTGYDYSYKGRFTIFRDNAKNSLYLENNSLRA EDTAFYTCARDIGFSSGHNWFDPWGQTPVTYSS	38
H-1H2 ("1H2")	軽鎖可変領域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYSLAWYQQKPGQAP RLIYDASNRAIGIPARFSGSGGTDFLTISSELEDFAVYVC QQRSNWPPTFGQGTKEIK	37
H-2B2 ("2B2")	重鎖可変領域	EVQLVQSGGIVRPGGSLRLSCAASGFTFDYDGMSWVRQAPGKG LEWVSGIWNWGDSTGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQNNSLRA EDTALYYCARDGEPATGWNWDPWGQTLVTYSS	39
H-2B2 ("2B2")	軽鎖可変領域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYSLAWYQQKPGQAP RLIYDASNRAIGIPARFSGSGGTDFLTISSELEDFAVYVC QQRSNWPPTFGQGTKEIK	37
H-3E5 ("3E5")	重鎖可変領域	EVQLVQSGGIVRPGGSLRLSCAASGFTFSYWMWVRQAPGKG LEWVANIKGDESEKYVDYSYKGRFTISRDNAKNSLYLQNNSLRA EDTAVYYCARENNYVGFHWGQGTTLVTSS	40
H-3E5 ("3E5")	軽鎖可変領域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYSLAWYQQKPGQAP RLIYDASNRAIGIPARFSGSGGTDFLTISSELEDFAVYVC QQRSNWPPTFGQGTKEIK	37
H-3C6 ("3C6")	重鎖可変領域	QVQLVQSGGIVRPGGSLRLSCAASGFTFSYTMNWRQAPGKG LEWVSSISRFIYIYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQNNSLRA EDTAVYYCARDLHDSGDSYVWGQTLVTSS	41
H-3C6 ("3C6")	軽鎖可変領域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYSLAWYQQKPGQAP RLIYDASNRAIGIPARFSGSGGTDFLTISSELEDFAVYVC QQRSNWPPTFGQGTKEIK	37
H-3C8 ("3C8")	重鎖可変領域	QVQLVQSGGIVRPGGSLRLSCVASGFTFDHGMWVRQAPGKG LEWVSGIWNWGDSTGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQNNSLRA GDTALYYCYRDQGMATGYNWDPWGTLVTYSS	42
H-3C8 ("3C8")	軽鎖可変領域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYSLAWYQQKPGQAP RLIYDASNRAIGIPARFSGSGGTDFLTISSELEDFAVYVC QQRSNWPPTFGQGTKEIK	37

図 1 0

10

20

【図 1 2】

図 1 2

Ab	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	配列番号	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	配列番号
T-3 A4	GGSISS SSY	52 FYNGN	HDEYNWN YGAFDI	53	RASQSV SSYLA	DASNR AT	5 R3	QQRSN WPPT
T-4 B9	GYSITS TGY	55 FYNGD	HDEYYTT YGAFDI	56	RASQSV SSYLA	DASNR AT	5 R3	QQRSN WPPT
T-6 F7	GGSID GYY	58 YYICT	QPITYAG HDAFDI	59	RASQSV SSYLA	DASNR AT	5 R3	QQRSN WPPT

30

40

50

【図 17】

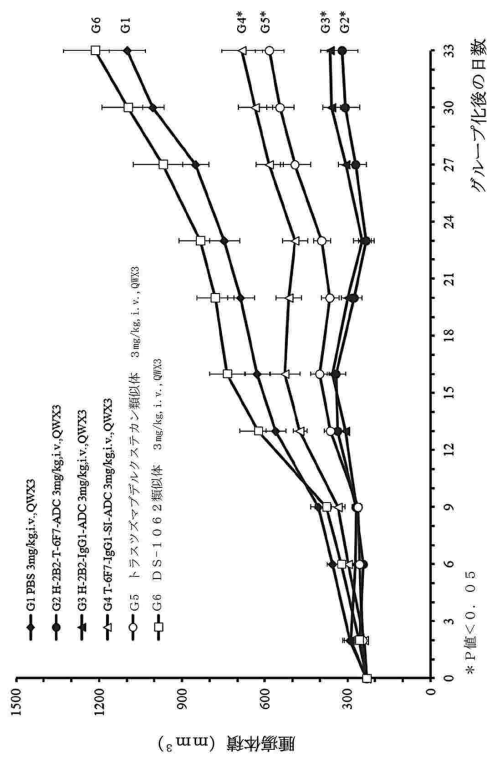


図 17

【図 18】

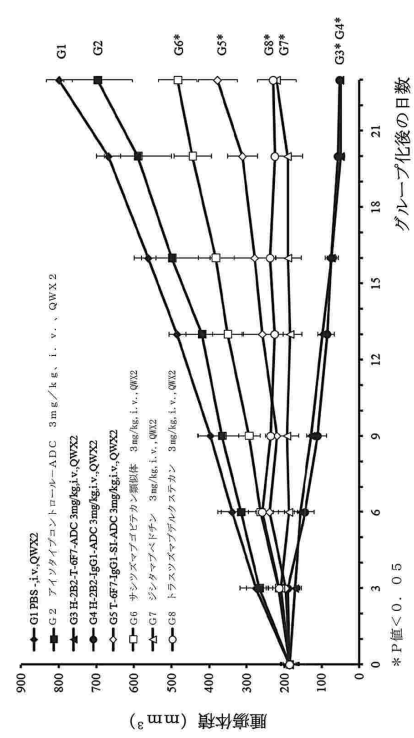


図 18

【図 19】

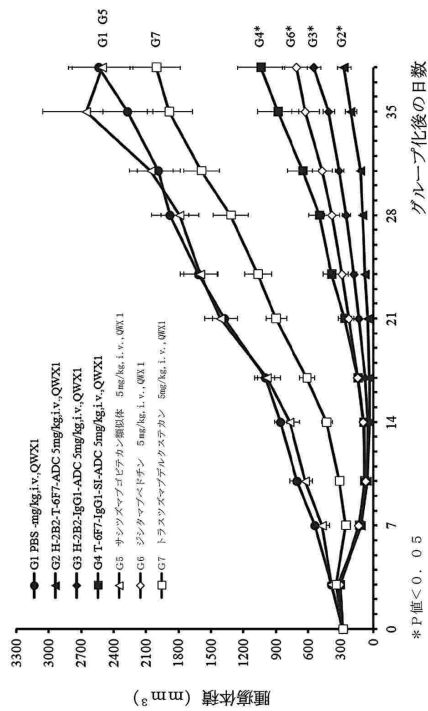


図 19

【図 20】

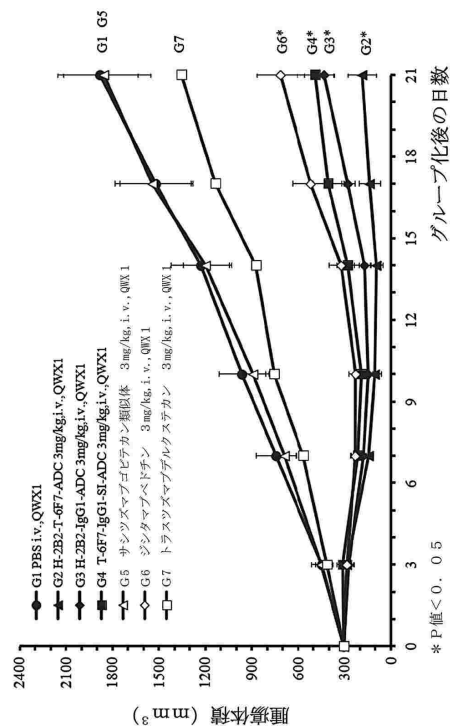


図 20

10

20

30

40

50

【図 2 1 A】

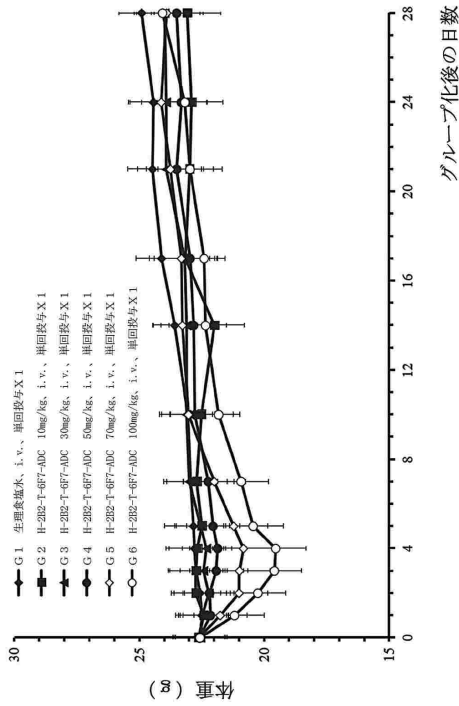


図 2 1 A

【図 2 1 B】

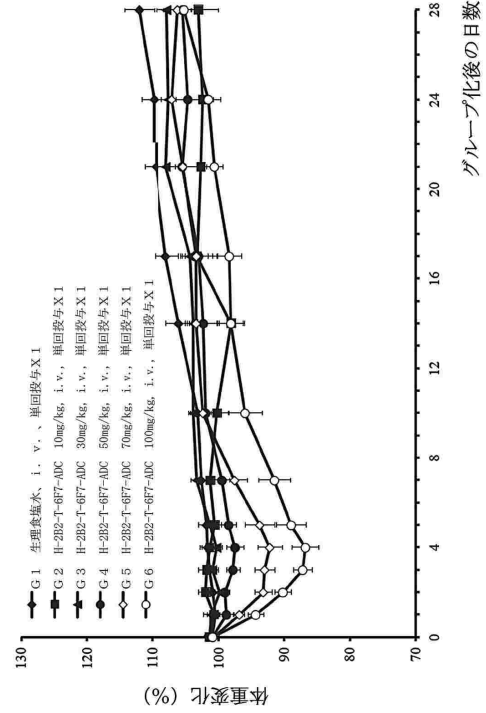


図 2 1 B

【図 2 2】

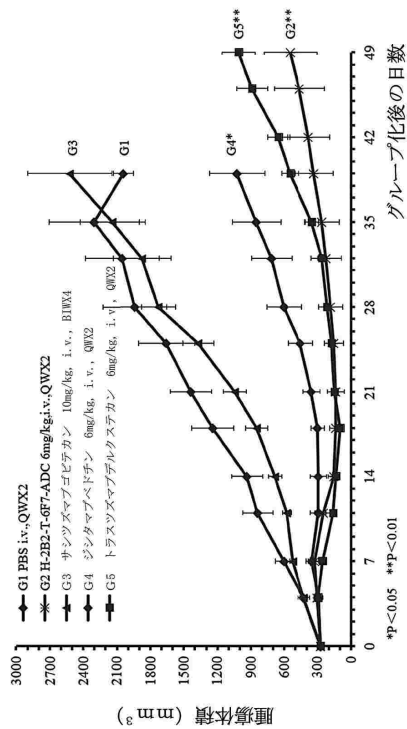


図 2 2

【図 2 3】

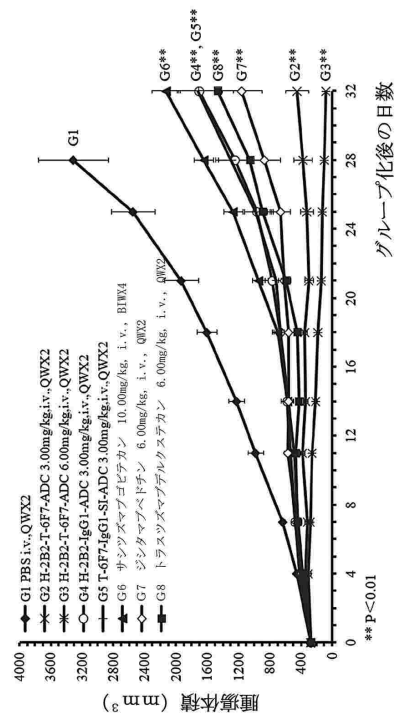


図 2 3

10

20

30

40

50

【図 2 4】

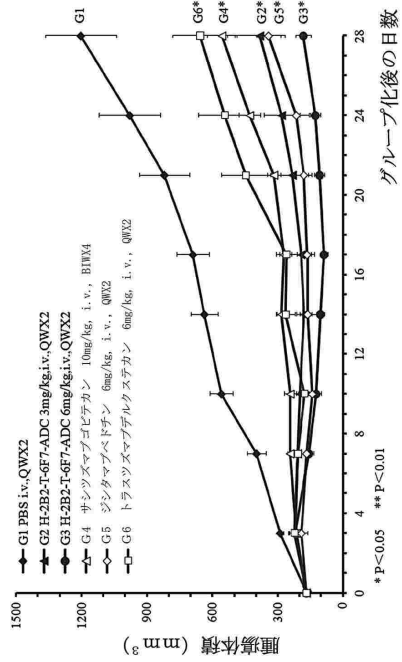


図 2 4

【図 2 5】

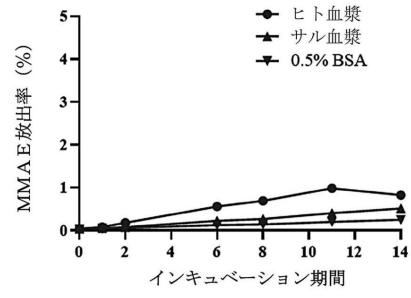


図 2 5

【配列表】

2025503229000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2023/073039
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07K16/30(2006.01)i;A61K39/395(2006.01)i;A61P35/00(2006.01)i 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) C07K A61K A61P 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) CNTXT, WPABS, DWPI, ENTXT, CNKI, WanFang, Baidu Scholar, Pubmed, ISI web of science, STNnext, NCBI, GenBank, EMBL: HER2 human epidermal growth factor receptor2, TROP2, trophoblast cell surface antigen2, antibody, mAb, SEQ ID NO:1-88		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	WO 2022159984 A1 (BIONEURE THERAPEUTICS, INC.) 28 July 2022 (2022-07-28) Claims 1-2	59,60,79,81,82
PX	SHANG, C.Z. "Abstract 4256: YH012, a novel bispecific anti-HER2 and TROP2 antibody-drug conjugate, exhibits potent antitumor efficacy" <i>Cancer Res</i> , Vol. 82, No. 12_Supplement, 15 June 2022 (2022-06-15), 4256 Abstract	59,60,79,81,82
A	US 2017151341 A1 (PFIZER INC.) 01 June 2017 (2017-06-01) Claim 1	1-98
A	US 2016313339 A1 (IMMUNOMEDICS, INC.) 27 October 2016 (2016-10-27) Abstract, claim 5	1-98
A	WO 2020142659 A2 (TRIO PHARMACEUTICALS, INC.) 09 July 2020 (2020-07-09) abstract, claim 4, SEQ ID NO:40	1-98
A	WO 2018059502 A1 (BEIJING HANMI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 05 April 2018 (2018-04-05) Claim 20; examples 5,12	1-98
☐ 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 "D" document cited by the applicant in the international application "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 23 April 2023		Date of mailing of the international search report 10 May 2023
Name and mailing address of the ISA/CN CHINA NATIONAL INTELLECTUAL PROPERTY ADMINISTRATION 6, Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing 100088, China		Authorized officer MA,YanLin Telephone No. (+86) 010-53961981

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/073039

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.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),
☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/073039

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.: **89-97**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 89-95 relate to a method of treating a subject having cancer, claim 96 relates to a method of decreasing the rate of tumor growth, claim 97 relates to a method of killing a tumor cell, namely, claims 89-97 relate to the subject-matter that does not require retrieval by International Search Units under PCT Rule 39.1. The international search was carried out based on the use of the antibody, the antigen-binding protein construct, or the antibody-drug conjugate in preparation the medicament for the treatment of cancer.
2. ☐ Claims Nos.:
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:
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).

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/073039

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)
WO	2022159984	A1	28 July 2022	None		
US	2017151341	A1	01 June 2017	US	10689458 B2	23 June 2020
				JP	2018537975 A	27 December 2018
				JP	6979950 B2	15 December 2021
				BR	112018010102 A2	13 November 2018
				IL	259651 A	30 August 2018
				IL	259651 B	01 January 2023
				KR	20200122423 A	27 October 2020
				KR	102312149 B1	12 October 2021
				SG	11201803676 PA	28 June 2018
				CO	2018005433 A2	31 May 2018
				EP	3383918 A1	10 October 2018
				CA	2949032 A1	30 May 2017
				US	2020377615 A1	03 December 2020
				WO	2017093844 A1	08 June 2017
				TW	202023624 A	01 July 2020
				TWI	727380 B	11 May 2021
				ZA	201803205 B	27 February 2019
				TW	201731531 A	16 September 2017
				TWI	726942 B	11 May 2021
				AU	2016363373 A1	24 May 2018
				RU	2018119683 A3	09 January 2020
				RU	2018119683 A	29 March 2021
				PH	12018501043 A1	28 January 2019
				SG	10202005102 YA	29 July 2020
				KR	20180088435 A	03 August 2018
				KR	102208317 B1	27 January 2021
				TW	202142265 A	16 November 2021
				TWI	778491 B	21 September 2022
				MX	2018006582 A	19 December 2018
US	2016313339	A1	27 October 2016	AU	2016252771 A1	10 August 2017
				AU	2016252771 B2	16 December 2021
				US	2018149657 A1	31 May 2018
				US	10436788 B2	08 October 2019
				JP	2018517888 A	05 July 2018
				JP	6746845 B2	26 August 2020
				US	2019369103 A1	05 December 2019
				WO	2016172427 A1	27 October 2016
				CA	2981543 A1	27 October 2016
				EP	3286224 A1	28 February 2018
				EP	3286224 A4	14 November 2018
				US	9797907 B2	24 October 2017
WO	2020142659	A2	09 July 2020	None		
WO	2018059502	A1	05 April 2018	MY	194994 A	30 December 2022
				ECSP	19022190 A	31 May 2019
				CL	2019000836 A1	02 August 2019
				AU	2017336867 A1	28 February 2019
				BR	112019006074 A2	18 June 2019
				IL	265605 A	30 May 2019

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/073039

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		CA 3035681 A1	05 April 2018
		DOP 2019000079 A	15 November 2019
		US 2019284299 A1	19 September 2019
		US 11498977 B2	15 November 2022
		CO 2019003133 A2	12 April 2019
		PE 20190576 A1	22 April 2019
		EA 201990285 A1	30 December 2019
		JP 2019535650 A	12 December 2019
		KR 20190055813 A	23 May 2019
		KR 102242990 B1	22 April 2021
		SG 11201901307 VA	28 March 2019
		TN 2019000055 A1	15 July 2020
		MX 2019003563 A	12 August 2019
		ZA 201901708 B	30 November 2022
		EP 3504234 A1	03 July 2019
		EP 3504234 A4	02 December 2020
		SA 519401441 B1	27 December 2022
		PH 12019500655 A1	05 August 2019
		SG 10201913263 SA	30 March 2020

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 1/15 (2006.01)
C 1 2 N 1/19 (2006.01)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)
C 1 2 N 5/10 (2006.01)
C 1 2 P 21/02 (2006.01)
C 1 2 P 21/08 (2006.01)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)
A 6 1 P 5/14 (2006.01)
A 6 1 P 13/02 (2006.01)
A 6 1 P 15/00 (2006.01)
A 6 1 P 1/04 (2006.01)
A 6 1 P 13/12 (2006.01)
A 6 1 P 11/00 (2006.01)
A 6 1 P 17/00 (2006.01)
A 6 1 P 1/16 (2006.01)
A 6 1 P 1/18 (2006.01)
A 6 1 P 13/08 (2006.01)
A 6 1 P 25/00 (2006.01)
A 6 1 P 1/02 (2006.01)
A 6 1 P 11/02 (2006.01)
A 6 1 P 11/04 (2006.01)
A 6 1 P 35/02 (2006.01)
A 6 1 P 19/08 (2006.01)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)
A 6 1 K 47/68 (2017.01)
A 6 1 K 38/07 (2006.01)
A 6 1 K 38/08 (2019.01)

C 1 2 N 15/63
C 1 2 N 1/15
C 1 2 N 1/19
C 1 2 N 1/21
C 1 2 N 5/10
C 1 2 P 21/02
C 1 2 P 21/08
A 6 1 K 39/395
A 6 1 K 39/395
A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 5/14
A 6 1 P 13/02
A 6 1 P 15/00
A 6 1 P 1/04
A 6 1 P 13/12
A 6 1 P 11/00
A 6 1 P 17/00
A 6 1 P 1/16
A 6 1 P 1/18
A 6 1 P 13/08
A 6 1 P 25/00
A 6 1 P 1/02
A 6 1 P 11/02
A 6 1 P 11/04
A 6 1 P 35/02
A 6 1 P 19/08
A 6 1 K 45/00
A 6 1 K 47/68
A 6 1 K 38/07
A 6 1 K 38/08

Z 4 H 0 4 5

C

N

L

(32)優先日 令和4年11月1日(2022.11.1)

(33)優先権主張国・地域又は機関

中国(CN)

(81)指定国・地域 AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,R
 U,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,ME,
 MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
 E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
 CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,J
 M,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,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,T
 J,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100141977

弁理士 中島 勝

(74)代理人 100138210

弁理士 池田 達則

(72)発明者 シャン チョンチャン

中華人民共和国, ベイジン 1 0 2 6 0 0, ターシン ディストリクト, ターシン バイオーメディ
 スン インダストリー パーク, パオシェン サウス ストリート, ナンバー 1 2

(72)発明者 ヤン リウ

中華人民共和国, ベイジン 1 0 2 6 0 0, ターシン ディストリクト, ターシン バイオーメディ
 スン インダストリー パーク, パオシェン サウス ストリート, ナンバー 1 2

(72)発明者 ハン イェンフェイ

中華人民共和国， Beijing 102600， Tashin District， Tashin Bio-Medical
Industry Park， Pao Shien South Street， Number 12

(72) Inventor Shen Yuelei

中華人民共和国， Beijing 102600， Tashin District， Tashin Bio-Medical
Industry Park， Pao Shien South Street， Number 12

F Term (Reference) 4B064 AG27 CA10 CA19 CC24 DA01
4B065 AB01 AC14 BA02 CA25 CA44
4C076 CC01 CC10 CC14 CC15 CC16 CC17 CC18 CC27 CC30 EE41
EE59 FF34
4C084 AA17 BA44 CA59 DA32 NA10 NA14 ZA011 ZA341 ZA591 ZA661
ZA671 ZA751 ZA811 ZA891 ZA961 ZB261 ZB271 ZC061
4C085 AA14 AA16 AA25 AA27 CC23 DD62 EE01
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 BA72 CA40 DA76 EA20 FA74