

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】令和5年3月13日(2023.3.13)

【国際公開番号】WO2020/181145

【公表番号】特表2022-524337(P2022-524337A)

【公表日】令和4年5月2日(2022.5.2)

【年通号数】公開公報(特許)2022-078

【出願番号】特願2021-552717(P2021-552717)

【国際特許分類】

C 07 K 16/46(2006.01)

C 12 N 1/15(2006.01)

C 12 N 1/19(2006.01)

C 12 N 1/21(2006.01)

C 12 N 5/10(2006.01)

C 12 N 15/13(2006.01)

A 61 P 35/00(2006.01)

A 61 K 39/395(2006.01)

C 12 N 15/62(2006.01)

C 12 N 15/63(2006.01)

10

20

【F I】

C 07 K 16/46

C 12 N 1/15

C 12 N 1/19

C 12 N 1/21

C 12 N 5/10

C 12 N 15/13

A 61 P 35/00

A 61 K 39/395 T

C 12 N 15/62 Z Z N A

30

C 12 N 15/63 Z

【手続補正書】

【提出日】令和5年3月3日(2023.3.3)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

ヘテロ二量体タンパク質組成物であって、

(a) 第1のFcドメインを含む第1のFcモノマーと、

(b) 第2のFcモノマーであって、N末端からC末端に、

i) 第1の腫瘍標的抗原(TTA)に結合する第1の単一ドメイン抗原結合ドメイン(sdBBD)(sdABD-TTA)と、

ii) 任意選択的なドメインリンカーと、

iii) 拘束Fvドメインであって、

1) v h C D R 1、v h C D R 2、及びv h C D R 3を含む可変重ドメインと、

2) 可変重ドメインおよび可変軽ドメインが互いに有意に相互作用できないように2

40

50

つのドメインを結合し、生理学的条件下でヒトプロテアーゼによって有意に開裂されない拘束非開裂性リンカー (C N C L) と、

3) v 1 C D R 1、v 1 C D R 2、及び v 1 C D R 3 を含む可変軽ドメインと、を含む、前記拘束 F v ドメインと、

i v) 任意選択的なドメインリンカーと、

v) 第 2 の s d A B D - T T A と、

v i) 第 1 の開裂性リンカーと、

v i i) 偽 F v ドメインであって、

1) 不活性可変軽ドメインと、

2) 非開裂性リンカーと、

3) 不活性可変重ドメインと、を含む、前記偽 F v ドメインと、

v i i i) 任意選択的な第 2 の開裂性リンカーと、

i x) 第 2 の F c ドメインと、を含む、前記第 2 の F c モノマーと、を含み、

前記第 1 の F c ドメイン及び前記第 2 の F c ドメインが、ノブインホール修飾を含み、前記可変重ドメイン及び前記可変軽ドメインが、ヒト C D 3 に結合することが可能であるが、前記拘束 F v ドメインが、C D 3 に結合せず、前記可変重ドメイン及び前記不活性可変軽ドメインが、分子間で会合して不活性 F v を形成し、前記可変軽ドメイン及び前記不活性可変重ドメインが、分子間で会合して不活性 F v を形成する、前記ヘテロ二量体タンパク質組成物。

【請求項 2】

前記可変重ドメインが、前記可変軽ドメインの N 末端にあり、前記不活性可変軽ドメインが、前記不活性可変重ドメインの N 末端にあるか、

前記可変重ドメインが、前記可変軽ドメインの N 末端にあり、前記不活性可変重ドメインが、前記不活性可変軽ドメインの N 末端にあるか、

前記可変軽ドメインが、前記可変重ドメインの N 末端にあり、前記不活性可変軽ドメインが、前記不活性可変重ドメインの N 末端にあるか、または

前記可変軽ドメインが、前記可変重ドメインの N 末端にあり、前記不活性可変重ドメインが、前記不活性可変軽ドメインの N 末端にある、請求項 1 に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

【請求項 3】

前記第 1 の F c ドメインが、F c - ホールドメインを含み、前記第 2 の F c ドメインが、F c - ノブドメインを含む、請求項 1 または 2 に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

【請求項 4】

可変重ドメインが、配列番号 186 のアミノ酸配列を含み、前記可変軽ドメインが、配列番号 170 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

【請求項 5】

前記不活性可変重ドメインが、配列番号 190 のアミノ酸配列を含み、前記不活性可変軽ドメインが、配列番号 174 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

【請求項 6】

前記偽可変重ドメインが、配列番号 194 のアミノ酸配列を含み、前記偽可変軽ドメインが、配列番号 178 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

【請求項 7】

前記不活性可変重ドメインが、配列番号 198 のアミノ酸配列を含み、前記不活性可変軽ドメインが、配列番号 182 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

【請求項 8】

10

20

30

40

50

前記TTAが、EGFR、FOLR1、B7H3、EpCAM、Trop2、及びCA9からなる群から選択される、請求項1～7のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

【請求項9】

前記第1及び前記第2のsdABDが同じTTAに結合するか、または前記第1及び前記第2のsdABDが異なるTTAに結合する、請求項1～8のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

【請求項10】

前記第1及び前記第2のsdABD-TTAが同じであるか、または前記第1及び前記第2のsdABD-TTAが異なる、請求項1～9のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

【請求項11】

前記sdABD(複数可)が、配列番号50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98、102、106、110、114、118、122、126、130、134、138、142、146、150、154、158、162、及び166からなる群から選択される、請求項1～10のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

【請求項12】

前記開裂性リンカー及び/または前記任意選択的な開裂性リンカーが、MMP2、MMP9、Cathepsin S、Cathepsin K、Cathepsin L、Granzyme B、uPA、Kallikrein7、マトリプターゼ、及びトロンビンからなる群から選択されるヒトプロテアーゼによって開裂される、請求項1～11のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

【請求項13】

前記第1のFcモノマーが、Pro574(配列番号41)及びPro688(配列番号47)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項1～12のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

【請求項14】

前記第2のFcモノマーが、Pro575(配列番号42)、Pro576(配列番号43)、及びPro689(配列番号48)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項1～13のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

【請求項15】

Pro574+Pro575、Pro574+Pro576、Pro688+Pro689、Pro574+Pro689、Pro688+Pro575、及びPro688+Pro576からなる群から選択されるヘテロ二量体タンパク質対のうちのいずれか1つを含む、請求項1～14のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

【請求項16】

(a)請求項1～15のいずれか一項に記載の第1のFcモノマーをコードする第1の核酸、及び/または(b)請求項1～15のいずれか一項に記載の第2のFcモノマーをコードする第2の核酸を含む、核酸組成物。

【請求項17】

請求項16に記載の第1の核酸及び/または請求項16に記載の第2の核酸を含む、発現ベクター組成物。

【請求項18】

請求項17に記載の発現ベクター組成物を含む、請求項1～14のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物を発現するための宿主細胞。

【請求項19】

ヘテロ二量体タンパク質を作製する方法であって、請求項18に記載の宿主細胞を、前記ヘテロ二量体タンパク質を発現する条件下で培養することと、前記ヘテロ二量体タンパク質を回収することと、を含む、前記方法。

10

20

30

40

50

【請求項 20】

がんを治療する方法における使用のための、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0301

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0301】

別の様態では、本明細書に記載の任意のプロドラッグ組成物を投与することを含む、がんの治療を必要とするヒト対象においてそれを行う方法が、本明細書に提供される。 10

本開示は、例えば、以下に関する。

【1】

ホモ二量体タンパク質組成物であって、

a) 2つのモノマーであって、各々がN末端からC末端に、

i) 第1の腫瘍標的抗原(TT A)に結合する第1の単一ドメイン抗原結合ドメイン(s d A B D) (s d A B D - T T A)と、

ii) 任意選択的なドメインリンカーと、

iii) 拘束F vドメインであって、

1) v h C D R 1、v h C D R 2、及びv h C D R 3を含む可変重ドメインと、 20

2) 拘束非開裂性リンカー(C N C L)と、

3) v l C D R 1、v l C D R 2、及びv l C D R 3を含む可変軽ドメインと、を含む、前記拘束F vドメインと、

iv) 任意選択的なドメインリンカーと、

v) 第2のs d A B D - T T Aと、

vi) 開裂性リンカーと、

vii) 偽F vドメインであって、

1) 偽可変軽ドメインと、

2) 非開裂性リンカーと、

3) 偽可変重ドメインと、を含む、前記偽F vドメインと、 30

viii) 任意選択的な開裂性リンカーと、

ix) F c ドメインと、を含む、前記2つのモノマーを含み、

前記可変重ドメイン及び第1の可変軽ドメインが、ヒトC D 3に結合することが可能であるが、前記拘束F vドメインが、C D 3に結合せず、前記可変重ドメイン及び前記偽可変軽ドメインが、分子間で会合して不活性F vを形成し、前記可変軽ドメイン及び前記偽可変重ドメインが、分子間で会合して不活性F vを形成する、前記ホモ二量体タンパク質組成物。

【2】

第1の可変重ドメインが、前記第1の可変軽ドメインのN末端にあり、前記偽可変軽ドメインが、前記偽可変重ドメインのN末端にある、前記【1】に記載のホモ二量体タンパク質組成物。 40

【3】

前記第1の可変軽ドメインが、第1の可変重ドメインのN末端にあり、前記偽可変軽ドメインが、前記偽可変重ドメインのN末端にある、前記【1】に記載のホモ二量体タンパク質組成物。

【4】

前記第1の可変軽ドメインが、第1の可変重ドメインのN末端にあり、前記偽可変重ドメインが、前記偽可変軽ドメインのN末端にある、前記【1】に記載のホモ二量体タンパク質組成物。

【5】

10

20

30

40

50

第1の可変重ドメインが、前記第1の可変軽ドメインのN末端にあり、前記偽可変重ドメインが、前記偽可変軽ドメインのN末端にある、前記〔1〕に記載のホモ二量体タンパク質組成物。

〔6〕

可変重鎖が、配列番号186のアミノ酸配列を含み、前記可変軽ドメインが、配列番号170のアミノ酸配列を含む、前記〔1〕～〔5〕のいずれか一項に記載のホモ二量体タンパク質組成物。

〔7〕

前記偽可変重ドメインが、配列番号190のアミノ酸配列を含み、前記偽可変軽ドメインが、配列番号174のアミノ酸配列を含む、前記〔1〕～〔6〕のいずれか一項に記載のホモ二量体タンパク質組成物。

10

〔8〕

前記偽可変重ドメインが、配列番号194のアミノ酸配列を含み、前記偽可変軽ドメインが、配列番号178のアミノ酸配列を含む、前記〔1〕～〔6〕のいずれか一項に記載のホモ二量体タンパク質組成物。

〔9〕

前記偽可変重ドメインが、配列番号198のアミノ酸配列を含み、前記偽可変軽ドメインが、配列番号182のアミノ酸配列を含む、前記〔1〕～〔6〕のいずれか一項に記載のホモ二量体タンパク質組成物。

20

〔10〕

前記TTAが、EGFR、FOLR1、B7H3、EpCAM、Trp2、及びCA9からなる群から選択される、前記〔1〕～〔9〕のいずれか一項に記載のホモ二量体タンパク質組成物。

〔11〕

前記第1及び前記第2のsdABDが、同じTTAに結合する、前記〔1〕～〔10〕のいずれか一項に記載のホモ二量体タンパク質組成物。

〔12〕

前記第1及び前記第2のsdABDが、異なるTTAに結合する、前記〔1〕～〔10〕のいずれか一項に記載のホモ二量体タンパク質組成物。

30

〔13〕

前記第1及び前記第2のsdABD-TTAが、同じである、前記〔1〕～〔11〕のいずれか一項に記載のホモ二量体タンパク質組成物。

〔14〕

前記第1及び前記第2のsdABD-TTAが、異なる、前記〔1〕～〔12〕のいずれか一項に記載のホモ二量体タンパク質組成物。

〔15〕

前記sdABD(複数可)が、配列番号50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98、102、106、110、114、118、122、126、130、134、138、142、146、150、154、158、162、及び166からなる群から選択される、前記〔1〕～〔14〕のいずれか一項に記載のホモ二量体タンパク質組成物。

40

〔16〕

第1の開裂性リンカー及び/または前記任意選択的な開裂性リンカーが、MMP2、MMP9、Cathepsin S、Cathepsin K、Cathepsin L、Granzyme B、uPA、Kallikrein 7、マトリプターゼ、及びトロンビンからなる群から選択されるヒトプロテアーゼによって開裂される、前記〔1〕～〔15〕のいずれか一項に記載のホモ二量体タンパク質組成物。

〔17〕

各モノマーが、Pro556(配列番号36)、Pro587(配列番号38)、Pro588(配列番号39)、及びPro589(配列番号40)からなる群から選択され

50

るアミノ酸配列を含む、前記〔1〕～〔16〕のいずれか一項に記載のホモ二量体タンパク質組成物。

〔18〕

前記〔1〕～〔17〕のいずれか一項に記載のモノマーをコードする核酸を含む、核酸組成物。

〔19〕

前記〔18〕に記載の核酸を含む、発現ベクター組成物。

〔20〕

前記〔19〕に記載の発現ベクター組成物を含む、宿主細胞。

〔21〕

前記〔1〕～〔17〕のいずれか一項に記載のホモ二量体タンパク質を作製する方法であって、前記〔20〕に記載の宿主細胞を、前記ホモ二量体タンパク質を発現する条件下で培養することと、ヘテロ二量体タンパク質を回収することと、を含む、前記方法。

10

〔22〕

前記〔1〕～〔17〕のいずれか一項に記載のホモ二量体タンパク質を投与することを含む、がんを治療する方法。

〔23〕

ヘテロ二量体タンパク質組成物であって、

(a) 第1のFcドメインを含む第1のFcモノマーと、

(b) 第2のFcモノマーであって、N末端からC末端に、

20

i) 第1の腫瘍標的抗原(TTA)に結合する第1の単一ドメイン抗原結合ドメイン(sdABD)(sdABD-TTA)と、

ii) 任意選択的なドメインリンカーと、

iii) 拘束Fvドメインであって、

1) vHCDR1、vHCDR2、及びvHCDR3を含む可変重ドメインと、

2) 拘束非開裂性リンカー(CNCL)と、

3) v1CDR1、v1CDR2、及びv1CDR3を含む可変軽ドメインと、を含む、前記拘束Fvドメインと、

iv) 任意選択的なドメインリンカーと、

v) 第2のsdABD-TTAと、

30

vi) 第1の開裂性リンカーと、

vii) 偽Fvドメインであって、

1) 偽可変軽ドメインと、

2) 非開裂性リンカーと、

3) 偽可変重ドメインと、を含む、前記偽Fvドメインと、

viii) 任意選択的な第2の開裂性リンカーと、

ix) 第2のFcドメインと、を含む、前記第2のFcモノマーと、を含み、

前記第1のFcドメイン及び前記第2のFcドメインが、ノブインホール修飾を含み、前記可変重ドメイン及び前記可変軽ドメインが、ヒトCD3に結合することが可能であるが、前記拘束Fvドメインが、CD3に結合せず、前記可変重ドメイン及び前記偽可変軽ドメインが、分子間で会合して不活性Fvを形成し、前記可変軽ドメイン及び前記偽可変重ドメインが、分子間で会合して不活性Fvを形成する、前記ヘテロ二量体タンパク質組成物。

40

〔24〕

前記可変重ドメインが、前記可変軽ドメインのN末端にあり、前記偽可変軽ドメインが、前記偽可変重ドメインのN末端にある、前記〔23〕に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

〔25〕

前記可変重ドメインが、前記可変軽ドメインのN末端にあり、前記偽可変重ドメインが、前記偽可変軽ドメインのN末端にある、前記〔23〕に記載のヘテロ二量体タンパク質

50

組成物。

[2 6]

前記可変軽ドメインが、前記可変重ドメインのN末端にあり、前記偽可変軽ドメインが、前記偽可変重ドメインのN末端にある、前記[2 3]に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

[2 7]

前記可変軽ドメインが、前記可変重ドメインのN末端にあり、前記偽可変重ドメインが、前記偽可変軽ドメインのN末端にある、前記[2 3]に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

[2 8]

前記第1のFcドメインが、Fc-ホールドメインを含み、前記第2のFcドメインが、Fc-ノブドメインを含む、前記[2 3]～[2 7]のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

10

[2 9]

可変重鎖が、配列番号186のアミノ酸配列を含み、前記可変軽ドメインが、配列番号170のアミノ酸配列を含む、前記[2 3]～[2 8]のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

[3 0]

前記偽可変重ドメインが、配列番号190のアミノ酸配列を含み、前記偽可変軽ドメインが、配列番号174のアミノ酸配列を含む、前記[2 3]～[2 9]のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

20

[3 1]

前記偽可変重ドメインが、配列番号194のアミノ酸配列を含み、前記偽可変軽ドメインが、配列番号178のアミノ酸配列を含む、前記[2 3]～[2 9]のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

[3 2]

前記偽可変重ドメインが、配列番号198のアミノ酸配列を含み、前記偽可変軽ドメインが、配列番号182のアミノ酸配列を含む、前記[2 3]～[2 9]のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

30

[3 3]

前記TTAが、EGFR、FOLR1、B7H3、EpCAM、Trp2、及びCA9からなる群から選択される、前記[2 3]～[3 2]のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

[3 4]

前記第1及び前記第2のsdABDが、同じTTAに結合する、前記[2 3]～[3 3]のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

[3 5]

前記第1及び前記第2のsdABDが、異なるTTAに結合する、前記[2 3]～[3 3]のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

40

[3 6]

前記第1及び前記第2のsdABD-TTAが、同じである、前記[2 3]～[3 4]のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

[3 7]

前記第1及び前記第2のsdABD-TTAが、異なる、前記[2 3]～[3 5]のいずれか一項に記載のホモ二量体タンパク質組成物。

[3 8]

前記sdABD(複数可)が、配列番号50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98、102、106、110、114、118、122、126、130、134、138、142、146、150、154、158、162、及び166からなる群から選択される、前記[2 3]～[3 7]のいずれか一項に記

50

載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

[3 9]

前記開裂性リンカー及び／または前記任意選択的な開裂性リンカーが、MMP2、MMP9、Cathepsin S、Cathepsin K、Cathepsin L、Granzyme B、uPA、Kallikrein7、マトリプターゼ、及びトロンビンからなる群から選択されるヒトプロテアーゼによって開裂される、前記[23]～[38]のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

[4 0]

前記第1のFcモノマーが、Pro574(配列番号41)及びPro688(配列番号47)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、前記[23]～[39]のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

10

[4 1]

前記第2のFcモノマーが、Pro575(配列番号42)、Pro576(配列番号43)、及びPro689(配列番号48)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、前記[23]～[40]のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

[4 2]

Pro574+Pro575、Pro574+Pro576、Pro688+Pro689、Pro574+Pro689、Pro688+Pro575、及びPro688+Pro576からなる群から選択されるヘテロ二量体タンパク質対のうちのいずれか1つを含む、前記[23]～[41]のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

20

[4 3]

(a) 前記[23]～[42]のいずれか一項に記載の第1のFcモノマーをコードする第1の核酸、及び／または(b)前記[23]～[42]のいずれか一項に記載の第2のFcモノマーをコードする第2の核酸を含む、核酸組成物。

[4 4]

前記[43]に記載の第1の核酸及び／または前記[43]に記載の第2の核酸を含む、発現ベクター組成物。

[4 5]

前記[44]に記載の発現ベクター組成物を含む、前記[23]～[41]のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物を発現するための宿主細胞。

30

[4 6]

ヘテロ二量体タンパク質を作製する方法であって、前記[45]に記載の宿主細胞を、前記ヘテロ二量体タンパク質を発現する条件下で培養することと、前記ヘテロ二量体タンパク質を回収することと、を含む、前記方法。

[4 7]

前記[23]～[42]のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質を投与することとを含む、がんを治療する方法。

[4 8]

ヘテロ二量体タンパク質組成物であって、
(a) 第1のFcモノマーであって、N末端からC末端に、
i) 第1の腫瘍標的抗原(TTA)に結合する第1の単一ドメイン抗原結合ドメイン(sdABD)(sdABD-TTA)と、
ii) 任意選択的なドメインリンカーと、
iii) 第1の拘束Fvドメインであって、
1) v h C D R 1、v h C D R 2、及びv h C D R 3を含む第1の可変重ドメインと、
2) 第1の拘束非開裂性リンカー(CNC L)と、
3) v l C D R 1、v l C D R 2、及びv l C D R 3を含む第1の可変軽ドメインと、
を含む、前記第1の拘束Fvドメインと、
iv) 任意選択的なドメインリンカーと、

40

50

v) 第 2 の s d A B D - T T A と、
 v i) 第 1 の 開裂性 リンカー と、
 v i i) 第 1 の 偽 F v ドメイン であって、
 1) 第 1 の 偽 可変 軽 ドメイン と、
 2) 非 開裂性 リンカー と、
 3) 第 1 の 偽 可変 重 ドメイン と、を 含む、前記 第 1 の 偽 F v ドメイン と、
 v i i i) 第 1 の 任意選択的 開裂性 リンカー と、
 i x) 第 1 の F c - ホールド メイン と、を 含む、前記 第 1 の F c モノマー と、
 (b) 第 2 の F c モノマー であって、N 末端 から C 末端 に、
 i) 第 3 の s d A B D - T T A と、
 i i) 任意選択的 ドメイン リンカー と、
 i i i) 第 2 の 拘束 F v ドメイン であって、
 1) v h C D R 1 、v h C D R 2 、及び v h C D R 3 を 含む 第 2 の 可変 重 ドメイン と、
 2) 第 2 の C N C L と、
 3) v l C D R 1 、v l C D R 2 、及び v l C D R 3 を 含む 第 2 の 可変 軽 ドメイン と、
 を 含む、前記 第 2 の 拘束 F v ドメイン と、
 i v) 任意選択的 ドメイン リンカー と、
 v) 第 4 の s d A B D - T T A と、
 v i) 第 2 の 開裂性 リンカー と、
 v i i) 第 2 の 偽 F v ドメイン であって、
 1) 第 2 の 偽 可変 軽 ドomain と、
 2) 非 開裂性 リンカー と、
 3) 第 2 の 偽 可変 重 ドomain と、を 含む、前記 第 2 の 偽 F v ドomain と、
 v i i i) 第 2 の 任意選択的 開裂性 リンカー と、
 i x) 第 2 の F c - ノブ ドomain と、を 含む、前記 第 2 の F c モノマー と、を 含み、
 前記 第 1 の 可変 重 ドomain 及び 前記 第 1 の 可変 軽 ドomain 、ならびに 前記 第 2 の 可変 重
 ドomain 及び 前記 第 2 の 可変 軽 ドomain が、ヒト C D 3 に 結合 する こと が 可能 で ある が、
 前記 拘束 F v ドomain が、C D 3 に 結合 せ ず、前記 可変 重 ドomain 及び 前記 偽 可変 軽 ド
 メイン が、分子 間 で 会合 し 不活性 F v を 形成 し、前記 可変 軽 ドomain 及び 前記 偽 可変 重
 ドomain が、分子 間 で 会合 し 不活性 F v を 形成 す る、前記 ヘテロ二量体 タンパク質 組成 物
 。

[4 9]

前記 第 1 の 可変 重 ドomain が、前記 第 1 の 可変 軽 ドomain の N 末端 に あり、前記 第 1 の
 偽 可変 軽 ドomain が、前記 第 1 の 偽 可変 重 ドomain の N 末端 に あり、かつ / または 前記 第
 2 の 可変 重 ドomain が、前記 第 2 の 可変 軽 ドomain の N 末端 に あり、前記 第 2 の 偽 可変 軽
 ドomain が、前記 第 2 の 偽 可変 重 ドomain の N 末端 に ある、前記 [4 8] に 記載 の ヘテロ
 二量体 タンパク質 組成 物。

[5 0]

前記 第 1 の 可変 軽 ドomain が、前記 第 1 の 可変 重 ドomain の N 末端 に あり、前記 第 1 の
 偽 可変 軽 ドomain が、前記 第 1 の 偽 可変 重 ドomain の N 末端 に あり、かつ / または 前記 第
 2 の 可変 軽 ドomain が、前記 第 2 の 可変 重 ドomain の N 末端 に あり、前記 第 2 の 偽 可変 軽
 ドomain が、第 2 の 第 1 の 偽 可変 重 ドomain の N 末端 に ある、前記 [4 8] に 記載 の ヘテ
 ロ 二量体 タンパク質 組成 物。

[5 1]

前記 第 1 の 可変 重 ドomain が、前記 第 1 の 可変 軽 ドomain の N 末端 に あり、前記 第 1 の
 偽 可変 重 ドomain が、前記 第 1 の 偽 可変 軽 ドomain の N 末端 に あり、かつ / または 前記 第
 2 の 可変 重 ドomain が、前記 第 2 の 可変 軽 ドomain の N 末端 に あり、前記 第 2 の 偽 可変 重
 ドomain が、前記 第 2 の 偽 可変 軽 ドomain の N 末端 に ある、前記 [4 8] に 記載 の ヘテロ
 二量体 タンパク質 組成 物。

[5 2]

10

20

30

40

50

前記第1の可変軽ドメインが、前記第1の可変重ドメインのN末端にあり、前記第1の偽可変重ドメインが、前記第1の偽可変軽ドメインのN末端にあり、かつ／または前記第2の可変軽ドメインが、前記第2の可変重ドメインのN末端にあり、前記第2の偽可変重ドメインが、前記第2の偽可変軽ドメインのN末端にある、前記〔48〕に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

〔53〕

可変重鎖が、配列番号186のアミノ酸配列を含み、前記可変軽ドメインが、配列番号170のアミノ酸配列を含む、前記〔48〕～〔52〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

〔54〕

前記偽可変重ドメインが、配列番号190のアミノ酸配列を含み、前記偽可変軽ドメインが、配列番号174のアミノ酸配列を含む、前記〔48〕～〔53〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

〔55〕

前記偽可変重ドメインが、配列番号194のアミノ酸配列を含み、前記偽可変軽ドメインが、配列番号178のアミノ酸配列を含む、前記〔48〕～〔53〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

〔56〕

前記偽可変重ドメインが、配列番号198のアミノ酸配列を含み、前記偽可変軽ドメインが、配列番号182のアミノ酸配列を含む、前記〔48〕～〔53〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

〔57〕

前記TTAが、EGFR、FOLR1、B7H3、EpCAM、Trp2、及びCA9からなる群から選択される、前記〔48〕～〔56〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

〔58〕

前記第1及び前記第2のsdABDが、同じTTAに結合し、かつ／または前記第3及び前記第4のsdABDが、同じTTAに結合する、前記〔48〕～〔57〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

〔59〕

前記第1、前記第2、前記第3、及び前記第4のsdABDが、同じTTAに結合する、前記〔48〕～〔58〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

〔60〕

前記第1及び前記第2のsdABD-TTAが、同じであり、かつ／または前記第3及び前記第4のsdABD-TTAが、同じである、前記〔48〕～〔59〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

〔61〕

前記第1及び前記第2のsdABD-TTAが、異なり、かつ／または前記第3及び前記第4のsdABD-TTAが、異なる、前記〔48〕～〔59〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

〔62〕

前記第1、前記第2、前記第3、及び前記第4のsdABDが、異なるTTAに結合する、前記〔48〕～〔57〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

〔63〕

前記sdABD(複数可)が、配列番号50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98、102、106、110、114、118、122、126、130、134、138、142、146、150、154、158、162、及び166からなる群から選択される、前記〔48〕～〔62〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

〔64〕

10

20

30

40

50

前記第1及び／または前記第2の開裂性リンカーが、MMP2、MMP9、Cathepsin S、Cathepsin K、Cathepsin L、Granzyme B、uPA、Kallikrein7、マトリプターゼ、及びトロンビンからなる群から選択されるヒトプロテアーゼによって開裂される、前記〔48〕～〔63〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

〔65〕

前記第1及び／または前記第2の任意選択的な開裂性リンカーが、MMP2、MMP9、Cathepsin S、Cathepsin K、Cathepsin L、Granzyme B、uPA、Kallikrein7、マトリプターゼ、及びトロンビンからなる群から選択されるヒトプロテアーゼによって開裂される、前記〔48〕～〔64〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

10

〔66〕

前記第1のFcモノマーが、Pro584（配列番号44）、Pro585（配列番号45）、及びPro586（配列番号46）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、前記〔48〕～〔65〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

〔67〕

前記第2のFcモノマーが、Pro575（配列番号412またはPro576（配列番号43））のアミノ酸配列を含む、前記〔48〕～〔66〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物。

20

〔68〕

(a) 前記〔48〕～〔67〕のいずれかに記載の第1のモノマーをコードする第1の核酸、及び／または(b) 前記〔48〕～〔67〕のいずれか一項に記載の第2のモノマーをコードする第2の核酸を含む、核酸組成物。

〔69〕

前記〔68〕に記載の第1の核酸及び／または前記〔68〕に記載の第2の核酸を含む、発現ベクター組成物。

〔70〕

前記〔69〕に記載の発現ベクター組成物を含む、前記〔47〕～〔67〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質組成物を発現するための宿主細胞。

30

〔71〕

前記〔48〕～〔67〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質を作製する方法であって、前記〔70〕に記載の宿主細胞を、前記ヘテロ二量体タンパク質を発現する条件下で培養することと、前記ヘテロ二量体タンパク質を回収することと、を含む、前記方法。

〔72〕

前記〔48〕～〔67〕のいずれか一項に記載のヘテロ二量体タンパク質を投与することを含む、がんを治療する方法。

40

50