

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-516596
(P2025-516596A)

(43)公表日 令和7年5月30日(2025.5.30)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46	Z N A	4 B 0 6 4
C 0 7 K	16/30 (2006.01)	C 0 7 K	16/30		4 B 0 6 5
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28		4 C 0 8 5
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15		4 H 0 4 5
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全113頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-566352(P2024-566352)	(71)出願人	597160510	リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. アメリカ合衆国10591-6707 ニューヨーク州タリータウン、オールド・ソー・ミル・リバー・ロード777番 100105957 弁理士 恩田 誠 100068755 弁理士 恩田 博宣 100142907 弁理士 本田 淳 100152489	
(86)(22)出願日	令和5年5月10日(2023.5.10)				
(85)翻訳文提出日	令和6年12月26日(2024.12.26)				
(86)国際出願番号	PCT/US2023/066841				
(87)国際公開番号	WO2023/220647				
(87)国際公開日	令和5年11月16日(2023.11.16)				
(31)優先権主張番号	63/340,891				
(32)優先日	令和4年5月11日(2022.5.11)				
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(31)優先権主張番号	63/481,291				
(32)優先日	令和5年1月24日(2023.1.24)				
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(31)優先権主張番号	63/489,812			最終頁に続く	

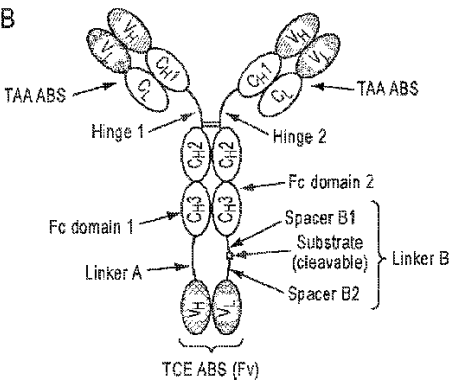
(54)【発明の名称】 多重特異性結合分子プロタンパク質及びその使用

(57)【要約】

本開示は、多重特異性結合分子 (MBM) を含む、抗原結合分子のプロタンパク質を提供する。抗原結合分子プロタンパク質は、抗原結合部位と、抗原結合部位のその標的への結合を阻害する1つ以上の成分と、プロテアーゼによって切断されることができ、その切断が抗原結合部位のその標的への結合の阻害を除去するプロテアーゼ切断可能リンカーと、を含む。プロテアーゼ切断可能リンカーの切断に起因するMBMプロタンパク質及びMBM、例えば、タンデムFab MBMは、T細胞係合抗原結合部位及び腫瘍関連抗原抗原結合部位を含む。MBMプロタンパク質は、T細胞係合抗原結合部位のその標的への結合を阻害する成分と、腫瘍環境内のプロテアーゼによって切断されることができ、その切断がT細胞係合抗原結合部位のその標的への結合の阻害を除去するプロテアーゼ切断可能リンカーと、を更に含む。本開示は、抗原結合分子プロタンパク質を含む薬学的組成物、及び療法における抗原結合分子プロタンパク質の使用方

法、並びに抗原結合分子プロタンパク質をコードする核酸、抗原結合分子プロタンパク質を発現する組換え細胞

FIG. 3B



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

結合分子であって、

(a) 第 1 の F c ドメインと、

(b) 第 2 の F c ドメインと、

(c) プロテアーゼ切断可能リンカー (PCL) を介して前記第 1 の F c ドメインに接続された第 1 の抗原結合部位 (ABS) の第 1 の成分と、を含み、

(i) 前記 PCL が、25 アミノ酸長以下であり、かつ／又は (ii) 前記第 1 の ABS が、その標的に結合することを立体的に障害される、結合分子。

【請求項 2】

前記第 1 の ABS のその標的への前記結合が、前記 PCL のプロテアーゼ切断後に増強される、請求項 1 に記載の結合分子。

【請求項 3】

前記第 1 の ABS が、前記 PCL のプロテアーゼ切断前に、その標的に結合することを立体的に障害され、立体的障害が、前記 PCL のプロテアーゼ切断後に解除される、請求項 1 に記載の結合分子。

【請求項 4】

前記 PCL が、20 アミノ酸長以下である、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 5】

前記 PCL が、15 アミノ酸長以下である、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 6】

前記 PCL が、10 アミノ酸長以下である、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 7】

前記 PCL のプロテアーゼ切断後、前記第 1 の ABS が、その標的への結合を少なくとも 10 倍増強している、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 8】

前記 PCL のプロテアーゼ切断後、前記第 1 の ABS が、その標的への結合を少なくとも 100 倍増強している、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 9】

前記第 1 の ABS が、Fab である、請求項 1～8 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 10】

前記第 1 の ABS が、Fv である、請求項 1～8 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 11】

前記第 1 の成分が、VH である、請求項 1～10 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 12】

前記第 1 の成分が、VL である、請求項 1～10 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 13】

前記結合分子が、少なくとも 2 つのポリペプチド鎖を含み、第 1 のポリペプチド鎖が、前記第 1 の F c ドメイン及び前記第 1 の ABS の前記第 1 の成分を含み、第 2 のポリペプチド鎖が、前記第 2 の F c ドメインを含む、請求項 1～12 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 14】

前記第 2 のポリペプチド鎖が、前記第 1 の ABS の第 2 の成分を含む、請求項 13 に記載の結合分子。

【請求項 15】

前記第 1 の成分及び前記第 2 の成分が、前記第 1 の ABS を形成するために会合する、請求項 14 に記載の結合分子。

10

20

30

40

50

【請求項 16】

前記第1の成分が、VHであり、前記第2の成分が、VLである、請求項14又は15に記載の結合分子。

【請求項 17】

(1) 前記第1のポリペプチド鎖が、前記VHに対するC末端のCH1を更に含み、(2) 前記第2のポリペプチド鎖が、前記VLに対するC末端のCLを更に含む、請求項16に記載の結合分子。

【請求項 18】

前記第1のABSの第3の成分を含む第3のポリペプチド鎖を更に含む、請求項13～15のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 19】

第2のABSを含む多重特異性結合分子である、請求項1～18のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 20】

(a) 前記第1のABSが、TCE ABSであり、前記第2のABSが、TAA ABSであるか、又は(b) 前記第1のABSが、TAA ABSであり、前記第2のABSが、TCE ABSである、請求項19に記載の結合分子。

【請求項 21】

前記第1のABSが、前記TCE ABSである、請求項20に記載の結合分子。

【請求項 22】

前記TCE ABSが、CD3、TCR $\alpha\beta$ 、又はTCR $\gamma\delta$ に結合することができる、請求項21に記載の結合分子。

【請求項 23】

前記TAA ABSが、

(a) セクション6.6で特定される任意のTAA、あるいは

(b) AFP、ALK、BAGEタンパク質、BIRC5 (サバイビン)、BIRC7、 β -カテニン、brc-abl、BRCA1、BORIS、CA9、炭酸脱水酵素IX、カスパーゼ-8、CALR、CEACAM5 (がん胎児性抗原若しくはCEAとしても既知)、CCR5、CD19、CD20 (MS4A1)、CD22、CD30、CD40、CDK4、CEA、CTLA4、サイクリン-B1、CYP1B1、EGFR、EGFRvIII、ErbB2/Her2、ErbB3、ErbB4、ETV6-AML、EpcAM、EphA2、Fra-1、FOLR1、GAGEタンパク質 (例えば、GAGE-1若しくは-2)、GD2、GD3、GloboH、グリピカン-3、GM3、gp100、Her2、HLA/B-ras、HLA/k-ras、HLA/MAGE-A3、hTERT、LMP2、MAGEタンパク質 (例えば、MAGE-1、-2、-3、-4、-6、及び-12)、MART-1、メソセリン、ML-IAP、Muc1、Muc2、Muc3、Muc4、Muc5、Muc16 (CA-125)、MUM1、NA17、NY-BR1、NY-BR62、NY-BR85、NY-ESO1、OX40、p15、p53、PAP、PAX3、PAX5、PCTA-1、PLAC1、PRLR、PRAME、PSMA (FOLH1)、RAGEタンパク質、Ras、RGS5、Rho、SART-1、SART-3、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TGF- β 、TMPRSS2、Thompson-nouvelle抗原 (Tn)、TRP-1、TRP-2、チロシナーゼ、又はウロプラキン-3に結合することができる、請求項20～22のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 24】

前記第1のFcドメイン及び前記第2のFcドメインが、Fcヘテロ二量体を形成するために会合する、請求項1～23のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 25】

前記Fcヘテロ二量体が、ノブ・イン・ホール変異を含み、例えば、(i) 前記第1のFcドメインが、1つ以上のノブ変異を含み、前記第2のFcドメインが、1つ以上のホ

10

20

30

40

50

ール変異を含むか、又は (i i) 前記第 1 の F c ドメインが、1 つ以上のホール変異を含み、前記第 2 の F c ドメインが、1 つ以上のノブ変異を含む、請求項 2 4 に記載の結合分子。

【請求項 2 6】

前記第 1 の F c ドメイン及び／又は前記第 2 の F c ドメインが、スター変異を含む、請求項 1 ～ 2 5 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 2 7】

タンデム F a b が、前記 P C L のプロテアーゼ切断後に産生される、請求項 1 ～ 2 6 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 2 8】

前記第 1 の F c ドメイン及び前記第 2 の F c ドメインを含む多重特異性結合分子が、前記 P C L のプロテアーゼ切断後に産生される、請求項 1 ～ 2 6 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 2 9】

前記 P C L が、表 A に記載される任意のプロテアーゼによって切断可能な基質配列を含む、請求項 1 ～ 2 8 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 3 0】

前記 P C L が、表 B に記載される基質配列から選択される 1 つ以上の基質配列を含む、請求項 1 ～ 2 9 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 3 1】

前記 P C L が、表 D に記載される配列から選択される P C L 配列のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 3 0 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 3 2】

前記結合分子が、図 3 A に描写される構成を有する、請求項 1 ～ 3 1 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 3 3】

前記結合分子が、図 3 B に描写される構成を有する、請求項 1 ～ 3 1 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 3 4】

前記結合分子が、図 3 C に描写される構成を有する、請求項 1 ～ 3 1 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 3 5】

前記結合分子が、図 3 D に描写される構成を有する、請求項 1 ～ 3 1 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 3 6】

前記結合分子が、図 3 E に描写される構成を有する、請求項 1 ～ 3 1 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 3 7】

前記結合分子が、図 3 F に描写される構成を有する、請求項 1 ～ 3 1 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 3 8】

前記結合分子が、図 7 に描写される構成を有する、請求項 1 ～ 3 1 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 3 9】

前記第 1 の F c ドメイン及び／又は前記第 2 の F c ドメインが、配列番号 3 3 5、3 3 6、3 3 7、及び 3 3 8 のうちのいずれか 1 つに対して少なくとも約 9 0 % の配列同一性を有する、請求項 1 ～ 3 8 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 4 0】

前記第 1 の F c ドメイン及び／又は前記第 2 の F c ドメインが、配列番号 3 3 5、3 3 6、3 3 7、及び 3 3 8 のうちのいずれか 1 つに対して少なくとも約 9 5 % の配列同一性

10

20

30

40

50

を有する、請求項 1～38 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 41】

前記第 1 の F c ドメイン及び／又は前記第 2 の F c ドメインが、配列番号 335、336、337、及び 338 のうちのいずれか 1 つに対して少なくとも約 95 % の配列同一性を有する、請求項 1～38 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 42】

前記第 1 の F c ドメイン及び／又は前記第 2 の F c ドメインが、（例えば、セクション 6.10.1 に記載されるように）エフェクター機能を低減する 1 つ以上のアミノ酸置換を含む、請求項 1～41 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 43】

前記第 1 の F c ドメイン及び／又は前記第 2 の F c ドメインが、（例えば、セクション 6.10.2 に記載されるように）ヘテロ二量体化を促進する 1 つ以上のアミノ酸置換を含む、請求項 1～41 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 44】

請求項 1～43 のいずれか一項に記載の結合分子及び賦形剤を含む、薬学的組成物。

【請求項 45】

有効量の請求項 1～43 のいずれか一項に記載の結合分子又は請求項 44 に記載の薬学的組成物を、がん罹患している対象に投与することを含む、がんを治療する方法。

【請求項 46】

前記がんが、例えば、表 K に記載されるように、前記 T A A A B S によって結合されるエピトープの発現に関連する、請求項 45 に記載の方法。

【請求項 47】

請求項 1～43 のいずれか一項に記載の結合分子をコードする、核酸又は複数の核酸。

【請求項 48】

請求項 1～43 のいずれか一項に記載の結合分子を 1 つ以上のプロモーターの制御下でコードする 1 つ以上の核酸配列を含む 1 つ以上の発現ベクターでトランスフェクトされた、細胞。

【請求項 49】

結合分子を産生する方法であって、

（a）前記結合分子が発現する条件下で請求項 48 に記載の細胞を培養することと、

（b）細胞培養物から前記結合分子を回収することと、を含む、方法。

【請求項 50】

前記結合分子を濃縮すること、及び／又は前記結合分子を精製することを更に含む、請求項 49 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

1. 関連出願の相互参照

本出願は、2022 年 5 月 11 日に提出された米国仮出願第 63 / 340, 891 号、2023 年 1 月 24 日に提出された米国仮出願第 63 / 481, 291 号、及び 2023 年 3 月 13 日に提出された米国仮出願第 63 / 489, 812 号の優先権利益を主張し、それらの各々の内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

2. 配列表

本出願は、XML ファイル形式で電子的に提出されている配列表を含み、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。2023 年 5 月 9 日に作成された当該 XML コピーは、RGN-017WO__SL.xml という名称であり、サイズは 307, 242 バイトである。

【背景技術】

【0003】

3. 背景

健康な細胞及び組織を無傷及び非損傷のまま、腫瘍細胞を選択的に破壊することが、がん免疫療法の目標である。二重特異性抗体治療薬は、腫瘍に対する免疫応答を誘導することによって、この目標を達成するために開発されている。この点において、二重特異性抗体は、腫瘍細胞上に優先的に発現する腫瘍関連抗原（「TAA」）及びT細胞受容体（「TCR」）複合体の成分の両方に対して設計される。そのような抗体のその標的の両方への同時結合は、細胞傷害性T細胞の活性化及びTAA発現細胞のその後の溶解をもたらす。したがって、免疫応答は、TAA発現細胞に再指向される。

【0004】

いくつかの二重特異性抗体フォーマットが開発されており、T細胞媒介性免疫療法に対するそれらの好適性が調査されている。非特許文献1を参照されたい。

10

治療に好適な二重特異性分子を生成するタスクは、TAAが典型的には、正常細胞及び腫瘍細胞上で発現するため、毒性に関連するいくつかの技術的課題をもたらす。したがって、腫瘍環境内のT細胞活性化を選択的に引き起こす有効なT細胞活性化二重特異性分子が必要とされている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】 You et al., 2021, Vaccines 9:724, doi.org/10.3390/vaccines9070724

20

【発明の概要】

【0006】

4. 概要

本発明は、一般に、本明細書において抗原結合分子プロタンパク質と称される新規のプロテアーゼ活性化可能抗原結合分子（「ABM」）に関する。

【0007】

一般に、それらの活性状態において、抗原結合分子は、その標的に結合することができる抗原結合部位（ABS）を含む。しかしながら、プロタンパク質形態では、ABSは、その標的に結合するその能力が大幅に減少するように、マスキング部分によってマスキングされる。抗原結合分子プロタンパク質は、プロテアーゼ、例えば、腫瘍環境内で過剰発現するプロテアーゼに遭遇すると、マスキング部分が切断され、増強された標的結合を有する結合分子が産生されるように構成される。これは、1つ以上のプロテアーゼ基質配列を含む1つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカー（「PCL」）を、例えば、ABSとマスキング部分との間に直接的又は間接的に含むことによって達成される。プロタンパク質は、さもなければ、ABMの正常組織への結合に起因し得る毒性及び有害な副作用の低減をもたらすことができる。一般に、抗原結合分子プロタンパク質は、セクション6.2及び群A番号付き実施形態1~43、並びに群B番号付き実施形態1~90に記載される。

30

【0008】

いくつかの実施形態では、本開示の抗原結合分子プロタンパク質は、多重特異性結合分子（MBM）プロタンパク質である。一般に、それらの活性状態において、本開示のMBMは、TCE ABSによって結合されるT細胞がTAA ABSによって結合されるTAA発現腫瘍細胞を攻撃するために刺激するように、それらのそれぞれの標的に同時に結合することができる、T細胞受容体複合体の成分に結合するT細胞係合抗原結合部位（「TCE ABS」）と、腫瘍関連抗原結合部位（「TAA ABS」）と、を含む。しかしながら、MBMがプロタンパク質形態にある場合、TCE ABSは、その標的に結合するその能力が大幅に減少するように、マスキング部分によってマスキングされる。MBMプロタンパク質は、プロテアーゼ、例えば、腫瘍環境内で過剰発現されるプロテアーゼに遭遇すると、マスキング部分が切断され、TCE ABS結合の阻害が逆転するように構成される。これは、MBMプロタンパク質中の1つ以上のプロテアーゼ基質配列を含むプロテアーゼ切断可能リンカー（「PCL」）を、例えば、マスキング部分とTCE A

40

50

B Sとの間に直接的又は間接的に含むことによって達成される。プロタンパク質は、さもないければ、MBMの正常組織への結合に起因し得る毒性及び有害な副作用の低減をもたらすことができる。一般に、MBMプロタンパク質は、セクション6.3及び群B番号付き実施形態1~5、15、54、及び69~72に記載される。

【0009】

ある特定の態様では、MBMプロタンパク質（I型MBMと称される）は、本明細書において「抗TCE ABS」と称される、TCE ABSのその標的への結合を可逆的にマスキングするTCE ABSの抗イディオタイプを含む。したがって、I型MBMは、抗TCE ABSマスキング部分を含む。いくつかの実施形態では、MBMプロタンパク質は、MBMプロタンパク質の活性化が、完全なFc領域を含むMBM（例えば、二重特異性結合分子）を解除するように構成される。このタイプのMBMプロタンパク質は、IA型MBMプロタンパク質と称され、IA型MBMの例示的な実施形態は、図1A~1Cに描写され、セクション6.3.1.1並びに群B番号付き実施形態6~8及び18~24に記載される。他の実施形態では、MBMプロタンパク質は、MBMプロタンパク質の活性化が、タンデムFab又はBiTeなどのFc領域を欠くMBMを解除するように構成される。このタイプのMBMプロタンパク質は、IB型MBMプロタンパク質と称され、IB型MBMの例示的な実施形態は、図5A~5Bに描写され、セクション6.3.1.2並びに群B番号付き実施形態16及び34~40に記載される。

10

【0010】

他の態様では、MBMプロタンパク質（II型MBMと称される）のTCE ABSは、その標的へのその結合を立体的に障害される、隣接ドメイン、例えば、Fcドメインへの近接性により、その標的への結合を立体的に障害される。いくつかの実施形態では、MBMプロタンパク質は、MBMプロタンパク質の活性化が、完全なFc領域を含むMBM（例えば、二重特異性結合分子）を解除するように構成される。このタイプのMBMプロタンパク質は、IIA型MBMプロタンパク質と称され、IIA型MBMの例示的な実施形態は、図3A~3Fに描写され、セクション6.3.1.1並びに群B番号付き実施形態9~14及び25~33に記載される。他の実施形態では、MBMプロタンパク質は、MBMプロタンパク質の活性化が、タンデムFab又はBiTeなどのFc領域を欠くMBMを解除するように構成される。このタイプのMBMプロタンパク質は、IIB型MBMプロタンパク質と称され、IIB型MBMの例示的な実施形態は、図7に描写され、セクション6.3.1.2並びに群B番号付き実施形態17及び41~49に記載される。

20

30

【0011】

セクション6.4、群A番号付き実施形態29~31、及び群B番号付き実施形態50~53は、本開示のMBMプロタンパク質を含む抗原結合分子プロタンパク質に使用することができる例示的なプロテアーゼ切断可能リンカーを記載する。

【0012】

本開示は、TAA ABS及びTCE ABSを含むタンデムFab MBMを更に提供する。タンデムFabは、プロタンパク質としてのIB型若しくはIIB型MBMの活性化によって産生され得るか、又はそれは、タンデムFabタンパク質の発現を通して生成することができる（関連するシグナル配列を有するが、マスキング部分を有さない）。そのような場合、TAA ABS及びTCE ABSは、好ましくは、共通の軽鎖配列を共有する。セクション6.11及び群B番号付き実施形態75~83は、例示的なタンデムFab MBMを記載する。

40

【0013】

セクション6.5及び群B番号付き実施形態55は、本開示のMBMプロタンパク質を含む抗原結合分子プロタンパク質及びタンデムFab MBMに組み込むことができる例示的な非切断可能リンカーを記載する。セクション6.6、群A番号付き実施形態23、及び群B番号付き実施形態56~64は、本開示のMBMプロタンパク質を含む抗原結合分子プロタンパク質及びタンデムFab MBMに組み込むことができる例示的なTAA ABSを記載する。セクション6.7、群A番号付き実施形態22、及び群B番号付き実

50

施形態 64～68 は、本開示の M B M プロタンパク質を含む抗原結合分子プロタンパク質及びタンデム F a b M B M に組み込むことができる例示的な T C E A B S を記載する。セクション 6. 8 は、本開示の M B M プロタンパク質を含む抗原結合分子プロタンパク質に組み込むことができる例示的な抗 T C E A B S を記載する。セクション 6. 9 は、本開示の M B M プロタンパク質を含む抗原結合分子プロタンパク質に組み込まれる A B S についての好適なフォーマットを記載する。セクション 6. 10 並びに群 B 番号付き実施形態 73 及び 74 は、本開示の M B M プロタンパク質を含む抗原結合分子プロタンパク質に組み込むことができる好適な F c ドメインを記載する。

【0014】

本開示は、本開示の M B M プロタンパク質を含む抗原結合分子プロタンパク質及びタンデム F a b M B M をコードする核酸（単一の核酸又は複数の核酸におけるいずれか）、並びに本開示の核酸及び M B M プロタンパク質を含む抗原結合分子プロタンパク質を発現するように操作された組換え宿主細胞及び細胞株を更に提供する。例示的な核酸、宿主細胞、及び細胞株は、セクション 6. 12、群 A 番号付き実施形態 47 及び 48、並びに群 B 番号付き実施形態 87～92 に記載される。

【0015】

本開示の M B M プロタンパク質を含む抗原結合分子プロタンパク質及びタンデム F a b M B M を含む薬学的組成物も提供される。薬学的組成物の例は、セクション 6. 13、群 A 番号付き実施形態 44、及び群 B 番号付き実施形態 84 に記載される。

【0016】

例えば、その上に T A A が発現する増殖性状態（例えば、がん）を治療するための、本開示の M B M プロタンパク質を含む抗原結合分子プロタンパク質、タンデム F a b M B M、及び薬学的組成物を使用する方法が、本明細書で更に提供される。例示的な方法及び適応症は、セクション 6. 14、群 A 番号付き実施形態 45 及び 46、並びに群 b 番号付き実施形態 85 及び 86 に記載される。

【0017】

5. 図面の簡単な説明

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図 1 A】 T C E A B S が抗 T C E A B S によってマスキングされる、I A 型 M B M プロタンパク質の実施形態の例示である。図 1 A 及び図 1 B の実施形態では、リンカー B の切断によって産生される M B M は、1 つの T A A A B S 及び 1 つの T C E A B S を有する二価である。図 1 C の実施形態では、リンカー B の切断によって産生される M B M は、2 つの T A A A B S 及び 1 つの T C E A B S を有する三価である。いくつかの実施形態では、三価 M B M は、二重特異性である。図 1 A～1 C における A B S は、F a b として例示されているが、A B S は、他のフォーマット、例えば、s c F v 又はセクション 6. 9 に記載される他のフォーマットにあり得る。この図に描写される全ての実施形態では、F c ドメインを含む M B M は、リンカー B の切断後に解除される。

【図 1 A - 1】 同上。

【図 1 B】 同上。

【図 1 B - 1】 同上。

【図 1 C】 同上。

【図 1 C - 1】 同上。

【図 2】 図 1 A～1 C による例示的な M B M プロタンパク質の活性化の機構を例示する。

【図 3 A】 F c 領域が、T C E A B S のその標的への結合を立体的に障害することによってマスキング部分として作用する、I I A 型 M B M プロタンパク質の実施形態の例示である。図 3 A 及び図 3 B の実施形態では、リンカー B の切断によって産生される M B M は、2 つの T A A A B S 及び 1 つの T C E A B S を有する三価である。いくつかの実施形態では、三価 M B M は、二重特異性である。図 3 C～3 F の実施形態では、リンカー B の切断によって産生される M B M は、1 つの T A A A B S 及び 1 つの T C E A B S を

有する二価である。図 3 A ~ 3 F における T A A A B S は、F a b として例示されているが、A B S は、他のフォーマット、例えば、s c F v 又はセクション 6 . 9 に記載される他のフォーマットにあり得る。T C E A B S は、F a b (例えば、図 3 A、3 C、及び 3 E に例示されるように) 又は F v (例えば、図 3 B、3 D、及び 3 G に例示されるように) の形態にあり得る。この図に描写される全ての実施形態では、F c ドメインを含む M B M は、リンカー B の切断後に解除される。

【図 3 B】同上。

【図 3 C】同上。

【図 3 D】同上。

【図 3 E】同上。

【図 3 F】同上。

【図 4】図 3 A ~ 3 G による例示的な M B M プロタンパク質の活性化の機構を例示する。

【図 5 A】T C E A B S が抗 T C E A B S によってマスキングされる、I B 型 M B M プロタンパク質の実施形態を描写する。リンカー B の切断によって産生される M B M は、1 つの T A A A B S 及び 1 つの T C E A B S を有する二価であり、F c ドメインを欠く。図 5 A における A B S は、F a b として例示されているが、A B S は、他のフォーマット、例えば、s c F v 又はセクション 6 . 9 に記載される他のフォーマットにあり得る。

【図 5 B】同上。

【図 6】図 5 A ~ 5 B による例示的な M B M プロタンパク質の活性化の機構を例示する。

【図 7】F c 領域が、T C E A B S のその標的への結合を立体的に障害することによってマスキング部分として作用する、I I B 型 M B M プロタンパク質の実施形態の例示である。リンカー B の切断によって産生される M B M は、1 つの T A A A B S 及び 1 つの T C E A B S を有する二価であり、F c ドメインを欠く。図 7 における A B S は、F a b として例示されているが、A B S は、他のフォーマット、例えば、s c F v 又はセクション 6 . 9 に記載される他のフォーマットにあり得る。

【図 8】図 7 による例示的な M B M プロタンパク質の活性化の機構を例示する。

【図 9】図 3 A ~ 3 F 及び 7 に示すように構成された F c ドメインに対する C 末端の T C E A B S を有する構築物において、リンカー長と、F c 領域が、抗 C D 3 T C E A B S のその標的への結合を立体的に障害する能力との間の相関を示す研究の結果を示す。リンカー長の効果を実証する目的で、この研究におけるリンカーは、基質を含まず、非切断可能であった。図 9 は、配列番号 1 (1 × G 4 S)、1 5 6 (3 × G 4 S)、及び 1 5 3 (5 × G 4 S) を開示する。

【図 10】プロテイン A 精製後の非還元及び還元 S D S - ポリアクリルアミドゲルにおいて実行される抗 T A A × C D 3 抗体を表示するゲル画像を示す。試験した抗 T A A × C D 3 二重特異性抗体は、図 7 に描写される構成を有し、ここで、リンカー A 及び B は、例示されるような切断可能リンカー、又は非切断可能 G 4 S (配列番号 1) リンカーによって置き換えられたもののいずれかであった。

【図 11】図 7 に示すように構成された I I B 型 M B M プロタンパク質構築物における F c 立体的障害に起因する、J U R K A T 細胞上の C D 3 結合の阻害を実証する研究の結果を示す。曲線は、I g G フォーマットにおける抗 T A A × C D 3 抗体に対する、I I B 型 M B M プロタンパク質による C D 3 結合の阻害を示す。

【発明を実施するための形態】

【0019】

6. 詳細な説明

6. 1. 定義

本明細書で使用される場合、以下の用語は、以下の意味を有することを意図している。

【0020】

A B M プロタンパク質: 「A B M プロタンパク質」 (又は「抗原結合分子プロタンパク質」) という用語は、本明細書で使用される場合、例えば、マスキング部分の存在に起因

10

20

30

40

50

して、その A B S のうちの少なくとも 1 つによって認識される標的に結合する能力が低減又は抑止されている A B M を指す。マスキング部分は、A B S のその標的への結合を障害し、タンパク質分解切断によって、例えば、マスキング部分を A B M に接続するプロテアーゼ切断可能リンカーのタンパク質分解切断によって、A B M から分離される。

【0021】

A B S 鎖：個々の A B S は、1 つ（例えば、s c F v の場合）のポリペプチド鎖として、又は 2 つ以上のポリペプチド鎖の会合（例えば、F a b の場合）による形態として存在することができる。本明細書で使用される場合、「A B S 鎖」という用語は、単一のポリペプチド鎖上に存在する A B S の全部又は一部分を指す。「A B S 鎖」という用語の使用は、便宜上及び説明目的のみを意図しており、特定の構成又は産生方法を意味するものではない。更に、A B M、A B M プロタンパク質、M B M、又は M B M プロタンパク質を記載する場合の A B S への言及は、別段の文脈で指示されない限り、A B S 鎖を包含する。したがって、F c ドメインが A B S に作動可能に連結されている A B M、A B M プロタンパク質、M B M、又は M B M プロタンパク質を記載する場合、F c ドメインは、ペプチド結合を通して、例えば、（1）F a b の第 1 の A B S 鎖（F a b の他の成分は第 2 の会合した A B S 鎖上にある）又は（2）s c F v を含む単一の A B S 鎖に直接又は間接的に（例えば、リンカーを介して）共有結合され得る。

【0022】

約、およそ：「約」、「およそ」などの用語は、明細書全体を通して数値の前に使用され、（例えば、端数、測定精度及び／又は精度の変動、タイミングなどを考慮するために）数値が必ずしも正確ではないことを示す。X がある数値である、「約 X」又は「およそ X」の開示は、「X」の開示でもあることを理解されたい。したがって、例えば、ある配列が別の配列に対して「約 X % の配列同一性」を有する実施形態の開示は、その配列が他の配列に対して「X % の配列同一性」を有する実施形態の開示でもある。

【0023】

活性化する、活性化：「活性化（activation）」、「活性化（activation）」などの用語は、本開示の M B M プロタンパク質と関連して、プロテアーゼ切断可能リンカーのプロテアーゼ媒介性酵素的切断を指し、これは、T C E A B S の脱マスキングをもたらす。したがって、例えば、プロテアーゼ切断可能リンカーが無傷の場合に T C E A B S のその標的への結合を立体的に障害する抗 T C E A B S 又は F c ドメインからの T C E A B S の解除又は分離を通して、T C E A B S がその標的に結合する能力が増加した A B M 又は M B M の産生をもたらす。時には、活性化は、本明細書において、M B M、マスキング部分、又は T C E A B S の「解除」と称される。

【0024】

及び、又は：別段に示されない限り、接続詞「又は」は、選択肢における特徴の選択（A の選択は B から相互に排他的である、A 又は B）と、結合した特徴の選択（A 及び B の両方が選択される、A 又は B）の両方を包含する、ブール論理演算子としてのその正しい意味で使用されることが意図される。本文のいくつかの箇所では、「及び／又は」という用語は同じ目的で使用され、「又は」が相互に排他的な選択肢を参照して使用されることを意味すると解釈されるべきではない。

【0025】

抗イディオタイプ抗体（Anti-idiotypic antibody）、抗イディオタイプ抗体（anti-idiotypic antibody）：「抗イディオタイプ抗体（anti-idiotypic antibody）」、「抗イディオタイプ抗体（anti-idiotypic antibody）」などの用語は、抗原結合部位、例えば、C D 3 などの T C R 成分に特異的な抗原結合部位のイディオタイプを認識する抗体を指す。抗イディオタイプ抗体は、抗原結合部位の可変領域に特異的に結合することができ、それによって、抗原結合部位のその同族抗原への特異的結合を低減又は防止する。抗原結合部位を含む分子と会合した場合、抗イディオタイプ抗体は、分子のマスキング部分として機能することができる。T 細胞係合抗体の可変領域を認識する抗イディオタイプ

10

20

30

40

50

抗体、例えば、C D 3 又は T 細胞受容体の別の成分を認識する抗体の抗原結合成分は、本明細書においてしばしば「T C E A B S」と称される。

【0026】

抗体：「抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、非共有、可逆的、及び特異的に抗原に結合することができる免疫グロブリンファミリーのポリペプチド（又はポリペプチドのセット）を指す。例えば、I g G 型の天然に存在する「抗体」は、ジスルフィド結合によって相互に接続された少なくとも2つの重（H）鎖及び2つの軽（L）鎖を含む四量体である。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書でV Hと略される）及び重鎖定常領域から構成される。重鎖定常領域は、C H 1、C H 2 及び C H 3 の3つのドメインで構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書でV Lと略される）及び軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は、1つのドメイン（本明細書でC Lと略される）で構成される。V H 及び V L 領域は、フレームワーク領域（F R）と呼ばれる、より保存された領域が点在する、相補性決定領域（C D R）と呼ばれる超可変性の領域に更に細分することができる。各V H 及び V L は、アミノ末端からカルボキシ末端へ、以下の順序で配置された3つのC D R 及び4つのF R から構成される：F R 1、C D R 1、F R 2、C D R 2、F R 3、C D R 3、F R 4。重鎖及び軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）及び古典的補体系の第1の成分（C 1 q）を含む、宿主組織又は因子に対する免疫グロブリンの結合を媒介し得る。「抗体」という用語は、モノクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、ラクダ化抗体、キメラ抗体、二重特異性又は多重特異性抗体、及び抗イディオタイプ（抗 i d）抗体を含むが、これらに限定されない。抗体は、任意のアイソタイプ／クラス（例えば、I g G、I g E、I g M、I g D、I g A、及びI g Y）、又はサブクラス（例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1、及びI g A 2）のものであり得る。軽鎖及び重鎖の両方が、構造的及び機能的相同性の領域に分けられる。「定常」及び「可変」という用語は、機能的に使用される。この点において、軽鎖部分の可変ドメイン（V L）及び重鎖部分の可変ドメイン（V H）の両方が、抗原認識及び特異性を決定することが理解されるであろう。逆に、軽鎖の定常ドメイン（C L）及び重鎖の定常ドメイン（C H 1、C H 2、若しくはC H 3）は、例えば、分泌、経胎盤移動性、F c 受容体結合、補体結合などの重要な生物学的特性を付与する。慣例により、定常領域ドメインの番号付けは、定常領域ドメインが抗体の抗原結合部位又はアミノ末端からより遠位になるにつれて増加する。N末端は可変領域であり、C末端において定常領域であり、C H 3 及び C L ドメインは、それぞれ天然抗体の重鎖及び軽鎖のカルボキシ末端を表す。便宜上、及び別段の文脈で指示されない限り、抗体への言及はまた、抗体断片、並びに天然に存在しない抗原結合部位及び／又は非天然の構成を有する抗原結合部位、例えば、C H 3 ドメインに対するC末端のF a b 又はs c F v ドメインを有する分子を含む、操作された抗体を指す。

【0027】

抗原結合分子、A B M：「抗原結合分子」及び「A B M」という用語は、本明細書で使用される場合、1つ以上の抗原結合部位を含む分子（例えば、複数のポリペプチド鎖のアセンブリ）を指す。本開示のA B Mは、単一特異性又は多重特異性（例えば、二重特異性）であり得る。単一特異性結合分子における抗原結合部位は全て、同じエピトープに結合するが、多重特異性結合分子は、同じ又は異なる標的分子であり得る、異なるエピトープに結合する少なくとも2つの抗原結合部位を有する。いくつかの実施形態では、抗原結合分子は、抗体である。

【0028】

抗原結合部位：「抗原結合部位」又は「A B S」という用語は、本明細書で使用される場合、マスキングの非存在下で非共有、可逆的、及び特異的に抗原に結合する能力を有する抗体、A B M、又はM B M プロタンパク質の部分を指す。例えば、いくつかの実施形態では、A B Sは、A B M 又はM B M プロタンパク質の文脈においてマスキングすることができるが、A B M 又はM B M が、A B M 又はM B M プロタンパク質中のプロテアーゼ切

10

20

30

40

50

断可能リンカーの切断によって産生される場合に、非共有、可逆的、及び特異的に抗原に結合する能力を有する。抗原結合部位の例としては、一本鎖 Fv (scFv)、Fab 断片、VL、VH、CL、及び CH1 ドメインからなる一価断片；F(ab)₂ 断片、ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された 2 つの Fab 断片を含む二価断片；VH 及び CH1 ドメインからなる Fd 断片；抗体の単一アームの VL 及び VH ドメインからなる Fv 断片；VH ドメインからなる dAb 断片 (Ward et al., 1989, Nature 341: 544-546)；VHH 抗体 (また、「VHH」又は「Nanobody (登録商標)」、Vinccke et al., 2012, Methods Mol Biol 911: 15-26)、並びに単離された相補性決定領域 (CDR) などの抗体断片が挙げられるが、これらに限定されない。したがって、「抗体断片」という用語は、抗体のタンパク質分解断片 (例えば、Fab 及び F(ab)₂ 断片)、並びに抗体の 1 つ以上の部分 (例えば、scFv) を含む操作されたタンパク質の両方を包含する。抗体断片はまた、単ドメイン抗体、マキシボディ、ミニボディ、イントラボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、v-NAR、及びビス-scFv に組み込むことができる (例えば、Hollinger and Hudson, 2005, Nature Biotechnology 23: 1126-1136 を参照されたい)。

10

【0029】

会合した：ABM 又は MBM プロタンパク質の文脈における「会合した」という用語は、2 つ以上のポリペプチド鎖間の機能的関係を指す。特に、「会合した」という用語は、2 つ以上のポリペプチドが、機能的な MBM プロタンパク質を産生するように、例えば、分子相互作用を通して非共有的に、又は 1 つ以上のジスルフィド架橋若しくは化学的架橋を通して共有結合的に、互いに会合していることを意味する。本開示の MBM プロタンパク質に存在し得る会合の例としては、Fc ドメイン内の Fc 領域間の会合 (セクション 6.10.2 に記載されるようなホモ二量体又はより好ましくはヘテロ二量体、Fab 又は Fv 内の VH 領域と VL 領域との間の会合、及び Fab 内の CH1 と CL との間の会合が挙げられる (が、これらに限定されない)。

20

【0030】

二価：抗原結合分子の文脈における「二価」という用語は、本明細書で使用される場合、2 つの抗原結合部位を有する抗原結合分子を指す。ドメインは、同一又は異なってもよい。したがって、二価抗原結合分子は、単一特異性又は二重特異性であり得る。

30

【0031】

がん：「がん」という用語は、異常な細胞の制御されていない (及びしばしば急速な) 成長によって特徴付けられる疾患を指す。がん細胞は、局所的に、又は血流及びリンパ系を通じて身体他の部分に広がることができる。様々ながんの例が本明細書に記載されており、乳がん、前立腺がん、卵巣がん、子宮頸がん、皮膚がん、膵臓がん、結腸直腸がん、腎がん、肝臓がん、脳がん、副腎がん、自律性神経節がん、胆道がん、骨がん、子宮内膜がん、眼がん、卵管がん、生殖管がん、大腸がん、髄膜のがん、食道がん、腹膜がん、下垂体がん、陰茎がん、胎盤がん、胸膜がん、唾液腺がん、小腸がん、胃がん、精巣がん、胸腺がん、甲状腺がん、上気道消化器がん、尿路がん、膣がん、外陰がん、リンパ腫、白血病、肺がんなど、例えば、前述のタイプのうちのいずれかの任意の TAA 陽性がんが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0032】

CD3：「CD3」という用語は、T 細胞受容体の分化 3 共受容体 (又は共受容体複合体、若しくは共受容体複合体のポリペプチド鎖) のクラスターを指す。ヒト CD3 のポリペプチド鎖のアミノ酸配列は、NCBI 受託 P04234、P07766、及び P09693 に提供される。

【0033】

相補性決定領域：「相補性決定領域」又は「CDR」という用語は、本明細書で 사용되는場合、抗原特異性及び結合親和性を付与する抗体可変領域内のアミノ酸の配列を指す。例えば、一般に、各重鎖可変領域には 3 つの CDR (例えば、CDR-H1、CDR-

50

H2、及びCDR-H3)があり、各軽鎖可変領域には3つのCDR(CDR-L1、CDR-L2、及びCDR-L3)がある。所与のCDRの正確なアミノ酸配列境界は、Kabata et al., 1991, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (「Kabata」番号付けスキーム)、Al-Lazikani et al., 1997, JMB 273:927-948 (「Chothia」番号付けスキーム)、及びIMMUNOGENTICS (IMGT) 番号付け (Lefranc, 1999, The Immunologist 7:132-136; Lefranc et al., 2003, Dev. Comp. Immunol. 27:55-77 (「IMGT」番号付けスキーム)によって記載されるものを含む、いくつかの周知のスキームのうちのいずれかを使用して決定することができる。例えば、古典的な形式について、Kabataの下で、重鎖可変ドメイン(VH)内のCDRアミノ酸残基は、31~35(CDR-H1)、50~65(CDR-H2)、及び95~102(CDR-H3)と番号付けされ、軽鎖可変ドメイン(VL)内のCDRアミノ酸残基は、24~34(CDR-L1)、50~56(CDR-L2)、及び89~97(CDR-L3)と番号付けされる。Chothiaの下で、VH内のCDRアミノ酸は、26~32(CDR-H1)、52~56(CDR-H2)、及び95~102(CDR-H3)と番号付けされ、VL内のアミノ酸残基は、26~32(CDR-L1)、50~52(CDR-L2)、及び91~96(CDR-L3)と番号付けされる。Kabata及びChothiaの両方のCDR定義を組み合わせることにより、CDRは、ヒトVH内のアミノ酸残基26~35(CDR-H1)、50~65(CDR-H2)、及び95~102(CDR-H3)、並びにヒトVL内のアミノ酸残基24~34(CDR-L1)、50~56(CDR-L2)、及び89~97(CDR-L3)からなる。IMGTの下で、VH内のCDRアミノ酸残基は、およそ26~35(CDR-H1)、51~57(CDR-H2)、及び93~102(CDR-H3)と番号付けされ、VL内のCDRアミノ酸残基は、およそ27~32(CDR-L1)、50~52(CDR-L2)、及び89~97(CDR-L3)と番号付けされる(「Kabata」による番号付け)。IMGTの下で、抗体のCDR領域は、プログラムIMGT/DomainGap Alignを使用して決定することができる。

【0034】

エフェクター機能:「エフェクター機能」という用語は、通常、エフェクター分子の結合によって媒介される、抗原結合部位以外の抗体のドメインを通じる結合によって媒介される抗体分子の活性を指す。エフェクター機能は、例えば、補体のC1成分の抗体への結合によって媒介される、補体媒介性エフェクター機能を含む。補体の活性化は、細胞病原体のオプソニン化及び溶解に重要である。補体の活性化はまた、炎症応答を刺激し、自己免疫過敏症にも関与し得る。エフェクター機能はまた、Fc受容体(FcR)媒介性エフェクター機能を含み、これは、抗体の定常ドメインのFc受容体(FcR)への結合時に誘発され得る。細胞表面上のFc受容体への抗体の結合は、抗体被覆粒子の取り込み及び破壊、免疫複合体のクリアランス、キラー細胞による抗体被覆標的細胞の溶解(抗体依存性細胞媒介性細胞傷害、又はADCCと呼ばれる)、炎症性メディエータの放出、胎盤移行、並びに免疫グロブリン産生の制御を含む、多数の重要かつ多様な生物学的応答を誘発する。抗体のエフェクター機能は、Fc受容体又は補体成分などのエフェクター分子に対する抗体の親和性を変化させる、例えば、増強又は低減させることによって変化され得る。結合親和性は、一般に、エフェクター分子結合部位を改変することによって変化し、この場合、目的の部位を突き止め、部位の少なくとも一部を好適な方法で改変することが適切である。また、エフェクター分子に対する抗体上の結合部位の変化は、全体的な結合親和性を顕著に変化させる必要はないが、非産生的結合におけるように、エフェクター機構を無効にする相互作用の形状を変化させ得ることも想定される。エフェクター機能は、エフェクター分子結合に直接関与しないが、さもないと、エフェクター機能の性能に関与

する部位を改変することによっても変化され得ることが更に想定される。

【0035】

エピトープ：エピトープ、又は抗原決定基は、本明細書に記載される抗体又は他の抗原結合部分によって認識される抗原の一部である。エピトープは、線状又は立体構造的であり得る。

【0036】

F a b：「F a b」という用語は、一对のポリペプチド鎖を指し、第1のポリペプチド鎖は、第1の定常ドメイン（本明細書においてC 1と称される）に（典型的にはN末端に）作動可能に連結された抗体の可変重（V H）ドメインを含み、第2のポリペプチド鎖は、第1の定常ドメインと対合することができる第2の定常ドメイン（本明細書においてC 2と称される）に（典型的にはN末端に）作動可能に連結された抗体N末端の可変軽（V L）ドメインを含む。天然抗体では、V Hは、重鎖の第1の定常ドメイン（C H 1）のN末端にあり、V Lは、軽鎖の定常ドメイン（C L）のN末端にある。本開示のF a bは、天然配向に従って配置することができるか、又は正しいV H及びV Lの対合を促進するドメイン置換若しくはスワップを含むことができる。例えば、ヘテロ二量体分子における正しい改変F a b—鎖対合を促進するために、F a bにおけるC H 1及びC Lドメイン対をC H 3ドメイン対に置き換えることが可能である。C H 1をV Lに付着させ、C LをV Hに付着させるように、C H 1及びC Lを逆転させることも可能であり、一般に、C r o s s m a bとして既知の構成である。「F a b」という用語は、一本鎖F a bを包含する。

【0037】

F cドメイン及びF c領域：「F cドメイン」という用語は、別の重鎖の対応する部分と対合する重鎖の部分の部分を指す。「F c領域」という用語は、2つの重鎖F cドメインの会合によって形成された抗体ベースの結合分子の領域を指す。F c領域内の2つのF cドメインは、互いに同一又は異なってもよい。天然抗体では、F cドメインは、典型的には同一であるが、一方又は両方のF cドメインは、有利には、ヘテロ二量体化を可能にするように、例えば、ノブ・イン・ホール相互作用を介して改変され得る。

【0038】

F v：「F v」という用語は、完全な標的認識及び結合部位を含む免疫グロブリンから誘導可能な最小抗体断片を指す。この領域は、密接な非共有性会合における1つの重鎖可変ドメイン及び1つの軽鎖可変ドメインの二量体（V H—V L二量体）からなる。この構成では、各可変ドメインの3つのC D Rが相互作用して、V H—V L二量体の表面上に抗原結合部位を定義する。しばしば、6つのC D Rは、抗体に標的結合特異性を付与する。しかしながら、いくつかの場合では、単一の可変ドメイン（又は標的に対して特異的な3つのC D Rのみを含むF vの半分）であっても、標的を認識し、それに結合する能力を有することができる。本明細書におけるV H—V L二量体への言及は、任意の特定の構成を伝達することを意図するものではない。限定ではなく例として、V H及びV Lは、本明細書に記載される任意の構成で一緒になって半抗体を形成することができるか、又は各々が別々の半抗体上に存在し、別々の半抗体が会合する際に一緒になって抗原結合ドメインを形成する、例えば、本開示のA B M若しくはM B Mプロタンパク質を形成することができる。単一のポリペプチド鎖（例えば、s c F v）上に存在する場合、V Lに対するN末端又はC末端のV H及びb e。

【0039】

半抗体：「半抗体」という用語は、少なくとも1つのA B S又はA B S鎖を含み、例えば、ジスルフィド架橋又は分子相互作用（例えば、F cヘテロ二量体間のノブ・イン・ホール相互作用）を通して、A B S又はA B S鎖を含む別の分子と会合することができる分子を指す。半抗体は、1つのポリペプチド鎖又は2つ以上のポリペプチド鎖（例えば、F a bの2つのポリペプチド鎖）から構成されることができる。好ましい実施形態では、半抗体は、F c領域を含む。半抗体の例は、抗体（例えば、I g G抗体）の重鎖及び軽鎖を含む分子である。半抗体の別の例は、V Lドメイン及びC Lドメインを含む第1のポリペプチドと、V Hドメイン、C H 1ドメイン、ヒンジドメイン、C H 2ドメイン、及びC H

3ドメインを含む第2のポリペプチドと、を含む分子であり、当該V_L及びV_Hドメインは、A_{BS}を形成する。半抗体のなお別の例は、s_cF_vドメイン、C_H2ドメイン、及びC_H3ドメインを含むポリペプチドである。

【0040】

半抗体は、2つ以上のA_{BS}、例えば、(N末端からC末端の順序で) V_H1ドメイン、C_H1ドメイン、C_H2ドメイン、C_H3ドメイン、及び別のV_H1ドメイン又はs_cF_vドメインを含む半抗体を含み得る。半抗体はまた、別の半抗体中の別のA_{BS}鎖と会合した際に完全なA_{BS}を形成するA_{BS}鎖を含み得る。

【0041】

したがって、A_{BM}又はM_{BM}プロタンパク質は、1つ、より典型的には2つ、又は更に3つ以上の半抗体を含むことができ、半抗体は、1つ以上のA_{BS}又はA_{BS}鎖を含むことができる。

【0042】

いくつかのA_{BM}又はM_{BM}プロタンパク質では、第1の半抗体は、第2の半抗体と会合する、例えば、第2の半抗体とヘテロ二量体化する。他のA_{BM}又はM_{BM}プロタンパク質では、第1の半抗体は、例えば、ジスルフィド架橋又は化学的架橋を通して、第2の半抗体に共有結合される。なお他のA_{BM}又はM_{BM}プロタンパク質では、第1の半抗体は、共有結合性付着及び非共有結合性相互作用、例えば、ジスルフィド架橋及びノブ・イン・ホール相互作用の両方を通して、第2の半抗体と会合する。

【0043】

「半抗体」という用語は、説明目的のみを意図しており、特定の構成又は産生方法を意味するものではない。「第1の」半抗体、「第2の」半抗体、「左の」半抗体、「右の」半抗体などとしての半抗体の説明は、単に便宜上及び説明目的のためのものである。

【0044】

宿主細胞又は組換え宿主細胞：「宿主細胞」又は「組換え宿主細胞」という用語は、例えば、異種核酸の導入を通して遺伝子操作されている細胞を指す。そのような用語が、特定の対象細胞のみならず、そのような細胞の子孫も指すよう意図されていることを理解されたい。変異又は環境影響のいずれかによりある特定の改変が後世で生じ得るため、そのような子孫は、実際には親細胞と同一ではない場合があるが、依然として本明細書で使用する「宿主細胞」という用語の範囲内に含まれる。宿主細胞は、異種核酸を、例えば、染色体外異種発現ベクター上に一時的に、又は、例えば、異種核酸を宿主細胞ゲノムに組み込むことによって安定的に、保有し得る。本開示のA_{BM}又はM_{BM}プロタンパク質を発現する目的で、宿主細胞は、好ましくは、哺乳類起源の又は哺乳類様特徴の細胞株、例えば、サル腎臓細胞(C_{OS}、例えば、C_{OS}-1、C_{OS}-7)、H_EK₂93)、ベビーハムスター腎臓(B_HK、例えば、B_HK₂1)、チャイニーズハムスター卵巣(C_{HO})、N_{SO}、P_{er}C₆、B_{SC}-1、ヒト肝細胞がん細胞(例えば、H_{ep} G₂)、S_P2/0、H_eL_a、M_{ad}i_n-D_{ar}b_yウシ腎臓(M_{DB}K)、骨髄腫及びリンパ腫細胞、又はそれらの誘導体及び／若しくは操作されたバリエーションである。操作されたバリエーションとしては、例えば、元の細胞株よりも高い密度で成長する誘導体、並びに／又はグリカンプロファイル改変誘導体及び／若しくは部位特異的組み込み部位誘導体が挙げられる。

【0045】

リンカー：「リンカー」という用語は、本明細書で使用される場合、プロテアーゼ切断可能リンカー又は非切断可能リンカーを指す。

マスキング部分：M_{BM}プロタンパク質に関して「マスキング部分」という用語は、本明細書で使用される場合、T_{CE} A_{BS}との特異的相互作用(例えば、マスキング部分がT_{CE} A_{BS}の抗イディオタイプ若しくは「抗T_{CE} A_{BS}」である場合)を通して、又はT_{CE} A_{BS}のその標的への結合を立体的に障害するM_{BM}プロタンパク質の別の成分に対するT_{CE} A_{BS}の配置(例えば、短いリンカーを通してT_{CE} A_{BS}をF_c領域に接続することによる)を通してのいずれかで、T_{CE} A_{BS}がその標的に

10

20

30

40

50

特異的に結合する能力を阻害するMBMプロタンパク質中のアミノ酸配列を指す。マスキング部分及びTCE ABSは、マスキング部分を欠くMBMの生成を通して、又はTCE ABSのその標的と相互作用する能力に対する空間的制約が緩和されるMBMの生成を通してのいずれかで、プロテアーゼ切断可能リンカーの切断がTCE ABSのその標的との相互作用の阻害を低減するように、MBMプロタンパク質内に配置される。「マスキング部分」という用語は、抗原結合分子に関して使用される場合、より一般的には、ABSとの特異的相互作用（例えば、マスキング部分がABSの抗イディオタイプである場合）を通して、又はABSのその標的への結合を立体的に障害する抗原結合分子の別の成分に対するABSの配置（例えば、短いリンカーを通してABSをFc領域に接続することによる）を通してのいずれかで、抗原結合分子中の抗原結合部位（ABS）がその標的に特異的に結合する能力を阻害する抗原結合分子プロタンパク質中のアミノ酸配列を指す。一般に、マスキング部分及びABSは、マスキング部分を欠く抗原結合分子の生成を通して、又はABSのその標的と相互作用する能力に対する空間的制約が緩和される抗原結合分子の生成を通してのいずれかで、プロテアーゼ切断可能リンカーの切断がABSのその標的との相互作用の阻害を低減するように、抗原結合分子内に配置される。

10

20

30

40

50

【0046】

MBMプロタンパク質：「MBMプロタンパク質」という用語は、本明細書で使用される場合、例えば、マスキング部分の存在に起因して、そのABSのうちの少なくとも1つによって認識される標的に結合する能力が低減又は抑止されているMBMを指す。マスキング部分は、ABSのその標的への結合を障害し、タンパク質分解切断によって、例えば、マスキング部分をMBMに接続するプロテアーゼ切断可能リンカーのタンパク質分解切断によって、MBMから分離される。典型的には、本開示のMBMプロタンパク質では、TCE ABSはマスキングされるが、TAA ABSはマスキングされない。TAA ABSは、MBMプロタンパク質を腫瘍の部位に指向するための標的化部分として機能することができ、プロテアーゼ切断可能リンカー内の基質を認識するプロテアーゼの存在下で、リンカーの切断をもたらし、TCE ABSのその標的への結合及びTAAを発現する腫瘍細胞に対してT細胞を活性化するMBMの能力を回復させる。

【0047】

一価：抗原結合分子の文脈における「一価」という用語は、本明細書で使用される場合、単一の抗原結合部位を有する抗原結合分子を指す。

多重特異性結合分子、MBM：「多重特異性結合分子」及び「MBM」という用語は、2つ以上の抗原結合部位を含む分子を指す。典型的には、MBMは、TAA ABS及びTCE ABSを含む。

【0048】

非切断可能リンカー：非切断可能リンカーは、そのアミノ酸配列が、特定の配列モチーフ、例えば、セクション6.4.2に記載されるような基質を認識し、切断するプロテアーゼ、例えば、セクション6.4.1に記載されるようなプロテアーゼについての基質配列を欠くペプチドを指す。

【0049】

作動可能に連結：「作動可能に連結」という用語は、2つ以上のペプチド又はポリペプチドドメイン又は核酸（例えば、DNA）セグメント間の機能的関係を指す。融合タンパク質又は他のポリペプチドの文脈において、「作動可能に連結」という用語は、機能的ポリペプチドを産生するように2つ以上のアミノ酸セグメントが連結されていることを意味する。例えば、本開示のABM又はMBMプロタンパク質の文脈において、別々のABS（又はABSの鎖）は、ペプチドリンカー配列を通して作動可能に連結することができる。本開示のABM又はMBMのポリペプチド鎖などの融合タンパク質をコードする核酸の文脈において、「作動可能に連結」は、2つの核酸が、その2つの核酸によってコードされるアミノ酸配列がフレーム内に保持されるように、結合されていることを意味する。転写調節の文脈において、この用語は、転写配列に対する転写調節配列の機能的関係を指す。例えば、プロモーター又はエンハンサー配列は、それが、適切な宿主細胞又は他の発現

系におけるコード配列の転写を刺激又は調節する場合、コード配列に作動可能に連結される。

【0050】

ポリペプチド、ペプチド、及びタンパク質：「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指すために本明細書において互換的に使用される。

【0051】

プロタンパク質：「プロタンパク質」は、不活性であり、プロテアーゼによるタンパク質分解によって活性化することができるタンパク質前駆体である。したがって、プロタンパク質は、「プロテアーゼ活性化可能」である。

【0052】

プロテアーゼ：「プロテアーゼ」という用語は、本明細書で使用される場合、ペプチド結合の加水分解を触媒する任意の酵素を指す。一般に、本開示で有用なプロテアーゼ、例えば、セクション6.4.1に記載されるプロテアーゼは、特定の配列モチーフ、例えば、セクション6.4.2に記載されるような基質を認識し、切断する。好ましくは、プロテアーゼは、正常組織と比較して、がん組織においてより高いレベルで発現する。

【0053】

プロテアーゼ切断可能リンカー：本明細書で使用される場合、「プロテアーゼ切断可能リンカー」又は「PCL」という用語は、そのアミノ酸配列が1つ以上のプロテアーゼについての1つ以上（例えば、2つ又は3つ）の基質配列を含むペプチドを指す。

【0054】

認識する：「認識する」という用語は、本明細書で使用される場合、そのエピトープを発見し、そのエピトープと相互作用する（例えば、結合する）ABSを指す。

一本鎖Fab又はscFab：「一本鎖Fab」又は「scFab」という用語は、本明細書で使用される場合、VHドメイン、CH1ドメイン、VLドメイン、CLドメイン、及びリンカーを含むABSを指す。いくつかの実施形態では、前述のドメイン及びリンカーは、N末端からC末端の配向で、以下の順序のうちの1つで配置される：(a) VH-CH1-リンカー-VL-CL、(b) VL-CL-リンカー-VH-CH1、(c) VH-CL-リンカー-VL-CH1、又は(d) VL-CH1-リンカー-VH-CL。リンカーは、好適には、少なくとも30アミノ酸、好ましくは、32～50アミノ酸の非切断可能リンカーである。一本鎖Fab断片は、典型的には、CLドメインとCH1ドメインとの間の天然ジスルフィド結合を介して安定化される。加えて、これらの一本鎖Fab分子は、システイン残基の挿入（例えば、Kabata番号付けによるVHドメインにおける44位及びVLドメインにおける100位）を介する鎖間ジスルフィド結合の生成によって更に安定化され得る。

【0055】

一本鎖Fv又はscFv：「一本鎖Fv」又は「scFv」という用語は、本明細書で使用される場合、抗体のVH及びVLドメインを含むABSを指し、これらのドメインは、単一のポリペプチド鎖に存在する。好ましくは、Fvポリペプチドは、VHドメインとVLドメインとの間に、scFvが抗原結合のために所望の構造を形成することを可能にするポリペプチドリンカーを更に含む。scFvの概説については、Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds. (1994), Springer-Verlag, New York, pp. 269-315を参照されたい。典型的には、リンカー、例えば、表Eに記載されるリンカーによって分離される、N末端からC末端の順序のVH-VL又はVL-VHで配置された、VH及びVL及びbe。

【0056】

スペーサー：本明細書で使用される場合、「スペーサー」という用語は、基質を含むリンカーに組み込まれた、プロテアーゼについての基質ではないアミノ酸配列のペプチドを

10

20

30

40

50

指す。スペーサーを使用して、分子、例えばABS内の他のドメインから基質を分離することができる。いくつかの態様では、スペーサー内の残基は、N末端アミノ酸の切断を防止するために、アミノペプチダーゼ及び／又はエキソペプチダーゼの作用を最小限にする。

【0057】

特異的に（又は選択的に）結合する：抗原又はエピトープに「特異的に（又は選択的に）結合する」という用語は、タンパク質及び他の分子の不均一な集団における同族抗原又はエピトープの存在を決定する結合反応を指す。結合反応は、抗体又は抗体断片によって媒介されることができるが、媒介される必要はない。「特異的に結合する」という用語は、異種間反応性を排除しない。例えば、1つの種からの抗原に「特異的に結合する」抗原結合部位（例えば、抗体の抗原結合断片）はまた、1つ以上の他の種においてその抗原に「特異的に結合する」ことができる。したがって、そのような異種間反応性自体は、「特異的」結合剤としての抗原結合部位の分類を変化させない。ある特定の実施形態では、ヒト抗原に特異的に結合する本開示の抗原結合部位（例えば、「TAA ABS」）は、1つ以上の非ヒト哺乳類種、例えば、霊長類種（*Macaca fascicularis*、*Macaca mulatta*、及び*Macaca nemestrina*のうちの1つ以上を含むが、これらに限定されない）、又はげっ歯類種、例えば、*Mus musculus*との異種間反応性を有する。

10

【0058】

対象：「対象」という用語は、ヒト及び非ヒト動物が含まれる。非ヒト動物には、全ての脊椎動物、例えば、哺乳類及び非哺乳類（非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ニワトリ、両生類、及び爬虫類など）が含まれる。好ましい実施形態では、対象は、ヒトである。

20

【0059】

基質：「基質」という用語は、プロテアーゼが作用し、その中でプロテアーゼがペプチド結合を切断するペプチド配列を指す。

TAA ABS：「TAA ABS」という用語は、細胞外マトリックス（「ECM」）タンパク質、腫瘍反応性リンパ球抗原、腫瘍若しくはウイルスリンパ球の細胞表面分子、T細胞抗原（「TCA」）、チェックポイント阻害剤、又はTAAを認識するか、又はそれらに特異的に結合するABSを指す。当業者は、標的分子の前述のカテゴリが相互に排他的ではなく、したがって、所与の標的分子が標的分子の前述のカテゴリのうちの2つ以上に分類され得ることを認識するであろう。例えば、いくつかの分子は、TAA及びECMタンパク質の両方とみなされ得、他の分子は、TCA及びチェックポイント阻害剤の両方とみなされ得る。

30

【0060】

T細胞抗原、TCA：「T細胞抗原」又は「TCA」という用語は、Tリンパ球の表面上に発現し、特定の部位に対する薬理学的薬剤の優先的標的化に有用である分子（典型的には、タンパク質、炭水化物、脂質、又はそれらのいくつかの組み合わせ）を指す。いくつかの実施形態では、部位は、がん組織であり、かつ／あるいはT細胞抗原は、腫瘍反応性リンパ球抗原、腫瘍若しくはウイルスリンパ球の細胞表面分子、又はTリンパ球上に発現するチェックポイント阻害剤である。

40

【0061】

TCE ABS：「TCE ABS」という用語は、TCR複合体を通してシグナル伝達を開始することができる様式でT細胞抗原を認識するか、又はそれに特異的に結合するABSを指す。TCE ABSによって認識されるか、又はそれに特異的に結合される例示的なT細胞抗原は、CD3及びTCR複合体の他の成分である。

【0062】

T細胞受容体、TCR：「T細胞受容体」又は「TCR」は、T細胞適応免疫の標的と相互作用して感知することに関与するT細胞の成分である。一般的に言えば、TCRは、細胞表面上に提示されるヘテロ二量体タンパク質複合体から構成される。T細胞は、それ

50

らがその表面で発現する体細胞的に再配置されたTCR形態に従って、 $\alpha\beta$ 又は $\gamma\delta$ として広く分類され得る。TCR α 及びTCR β 対、TCR γ 及びTCR δ の2つのTCR鎖対の形態が存在する。成熟 $\alpha\beta$ 及び $\gamma\delta$ TCR鎖対は、 ϵ 、 γ 、 δ 、及び ζ と示される多数のアクセサリーCD3サブユニットを有する複合体で細胞表面に提示される。これらのサブユニットは、 $\alpha\beta$ 又は $\gamma\delta$ TCRを3つの二量体（ $\epsilon\gamma$ 、 $\epsilon\delta$ 、 $\zeta\zeta$ ）として会合する。このTCR複合体は、TCR $\alpha\beta$ 又はTCR $\gamma\delta$ の同族抗原との係合時に細胞シグナル伝達応答を開始するための単位を形成する。「T細胞受容体複合体」及び「TCR複合体」という用語は、TCR $\alpha\beta$ 又はTCR $\gamma\delta$ 及びCD3の複合体を指す。

【0063】

三価：抗原結合分子の文脈における「三価」という用語は、本明細書で使用される場合、3つの抗原結合部位を有する抗原結合分子を指す。抗原結合部位は、全て同じであるか、全て異なるか、又は同じ抗原結合部位のうちの2つ及び第3の異なる抗原結合部位を含むことができる。

10

【0064】

腫瘍：「腫瘍」という用語は、本明細書において「がん」という用語と互換的に使用され、例えば、両方の用語は、固体及び液体、例えば、びまん性又は循環性の腫瘍を包含する。本明細書で使用される場合、「がん」又は「腫瘍」という用語は、前がん性及び悪性のがん及び腫瘍を含む。

【0065】

腫瘍関連抗原：「腫瘍関連抗原」又は「TAA」という用語は、全体的に、又は断片（例えば、MHC／ペプチド）としてのいずれかで、がん細胞の表面上に発現し、がん細胞に対する薬理学的薬剤の優先的標的化に有用である分子（典型的には、タンパク質、炭水化物、脂質、又はそれらのいくつかの組み合わせ）を指す。いくつかの実施形態では、TAAは、正常細胞及びがん細胞の両方によって発現したマーカー、例えば、システムマーカーである。いくつかの実施形態では、TAAは、正常細胞と比較して、がん細胞において過剰発現する、例えば、正常細胞と比較して、1倍の過剰発現、2倍の過剰発現、3倍の過剰発現、又はそれ以上の細胞表面分子である。いくつかの実施形態では、TAAは、がん細胞において不適切に合成される細胞表面分子、例えば、正常細胞上に発現する分子と比較して欠失、付加、又は変異を含む分子である。いくつかの実施形態では、TAAは、全体的に、又は断片（例えば、MHC／ペプチド）としてがん細胞の細胞表面上で排他的に発現し、正常細胞の表面上で合成又は発現しない。したがって、「TAA」という用語は、時に腫瘍特異的抗原（「TSA」）として当技術分野で既知のがん細胞に特異的である抗原を包含する。

20

30

【0066】

TAA ABS：「TAA ABS」という用語は、本明細書で使用される場合、TAAを認識するか、又はそれに特異的に結合する抗原結合部位を指す。

治療する、治療、治療すること：本明細書で使用される場合、「治療する」、「治療」、及び「治療すること」という用語は、増殖性障害の進行、重症度、及び／若しくは期間の低減若しくは改善、又は本開示の1つ以上のABM若しくはMBMプロタンパク質の投与から得られる増殖性障害の1つ以上の症状（好ましくは、1つ以上の識別可能な症状）の改善を指す。特定の実施形態では、「治療する」、「治療」、及び「治療すること」という用語は、患者によって必ずしも識別可能ではない、増殖性障害、例えば、腫瘍の成長の少なくとも1つの測定可能な身体パラメータの改善を指す。他の実施形態では、「治療する」、「治療」、及び「治療すること」という用語は、物理的に、例えば、識別可能な症状の安定化による、生理学的に、例えば、物理的パラメータの安定化によるいずれかで、又はその両方による、増殖性障害の進行の阻害を指す。他の実施形態では、「治療する」、「治療」、及び「治療すること」という用語は、腫瘍サイズ又はがん細胞数の低減又は安定化を指す。

40

【0067】

ユニバーサル軽鎖、UCL：「ユニバーサル軽鎖」又は「ULC」という用語は、本明

50

細書で使用される場合、重鎖可変領域（V L）上よりも多く対合することができる軽鎖可変領域（V L）を指す。A B Sの文脈において、「ユニバーサル軽鎖」又は「U L C」という用語は、A B Sの重鎖領域と対合することができ、他の重鎖領域と対合することもできる軽鎖ポリペプチドを指す。U L Cはまた、定常ドメイン、例えば、抗体のC Lドメインを含むことができる。ユニバーサル軽鎖は、「共通の軽鎖としても既知である。

【0068】

V H：「V H」という用語は、F v、s c F v、d s F v、又はF a bの重鎖を含む、抗体の免疫グロブリン重鎖の可変領域を指す。

V L：「V L」という用語は、F v、s c F v、d s F v、又はF a bの軽鎖を含む、免疫グロブリン軽鎖の可変領域を指す。

【0069】

6. 2. 抗原結合分子プロタンパク質

本開示は、A B S、マスキング部分、及びプロテアーゼ切断可能リンカー（P C L）を含む抗原結合分子プロタンパク質に関し、マスキング部分がA B Sのその標的への結合を減少又は遮断するように配置され、プロテアーゼ、例えば、腫瘍環境内で過剰発現するプロテアーゼに遭遇すると、マスキング部分が切断され、増強された標的結合を有する結合分子が産生されるように構成される。典型的には、抗原結合分子プロタンパク質のマスキング部分は、立体的障害（例えば、F cドメインマスキング部分）を介して、及び／又は標的化部分のA B Sへの結合（例えば、抗A B S結合部分）を介して、A B Sをマスキングする。

【0070】

したがって、本開示の抗原結合分子プロタンパク質は、一般に、（a）マスキング部分と、（b）P C Lを介してマスキング部分に接続されたA B S又はその成分であって、A B Sが、その標的に結合することを障害される（例えば、立体的に障害される）、A B S又はその成分と、を含む。例示的なマスキング部分としては、F cドメイン及び抗A B S結合部分が挙げられる。マスキング部分としてのF cドメインの使用は、A B Sの立体的障害をもたらし、その立体的障害は、P C Lのプロテアーゼ切断後に（例えば、腫瘍特異的プロテアーゼによって）解除される。特定の例のF cドメインマスキング抗原結合分子プロタンパク質としては、（例えば、セクション6. 3. 2に記載されるような）I I A型及びI I B型M B Mプロタンパク質が挙げられる。マスキング部分としての抗A B S結合部分の使用は、A B Sのその標的への結合を遮断し、その遮断は、P C Lのプロテアーゼ切断後に（例えば、腫瘍特異的プロテアーゼによって）解除される。特定の例の抗A B S結合部分マスキング抗原結合分子プロタンパク質としては、（例えば、セクション6. 3. 1. 1に記載されるような）I A型及びI B型M B Mプロタンパク質が挙げられる。抗原結合分子プロタンパク質は、複数のマスキング部分、例えば、F cドメイン及びまた抗A B S結合部分を含み得、ここで、マスキング部分のうちの1つ以上は、P C Lのプロテアーゼ切断後に解除される。

【0071】

P C Lは、1つ以上のプロテアーゼ、例えば、セクション6. 4. 1に記載されるプロテアーゼのうちの1つ以上によって認識され、切断される1つ以上の基質を含む。例示的な基質配列は、セクション6. 4. 2に記載される。P C Lは、例えば、セクション6. 4. 3に記載されるように、スペーサー配列を更に含み得る。基質及びスペーサー配列を含むプロテアーゼ切断可能リンカー全体の例は、セクション6. 4. 4に提供される。

【0072】

理論によって拘束されることなく、小さい長さ（例えば、30以下）のものであるA B S及びマスキング部分（特に、F cドメインなどのA B Sのその標的への結合を立体的に障害するマスキング部分）を接続するP C Lは、P C Lのプロテアーゼ切断前にA B S結合の最大の障害を提供し、それによってA B Sのオフターゲット効果を最小限にすると考えられる。したがって、ある特定の態様では、P C Lは、30以下、29以下、28以下、27以下、26以下、25以下、24以下、23以下、22以下、21以下、20以下

10

20

30

40

50

、19以下、18以下、17以下、16以下、15以下、14以下、13以下、12以下、11以下、10以下、9以下、又は8以下のアミノ酸長である。

【0073】

抗原結合分子プロタンパク質は、一般に、少なくとも2つのポリペプチド鎖を含み、第1のポリペプチド鎖は、マスキング部分、PCL、及びABSの第1の成分（例えば、VH）を含み、第2のポリペプチド鎖は、第1の成分と対合してABSを形成するABSの第2の成分（例えば、VL）を含む。マスキング部分がFcドメインである場合、第2のポリペプチドは、第1のFcドメインと対合してFc領域（例えば、Fcヘテロ二量体）を形成する追加のFcドメインを更に含み得る。ABSは、例えば、TAA ABS（例えば、セクション6.6に記載されるように）又はTCE ABS（例えば、セクション6.7に記載されるように）であり得る。

10

【0074】

いくつかの態様では、抗原結合分子プロタンパク質は、マスキング部分によってマスキングされない追加のABSを更に含む。そのような場合、第1のABSはTCE ABSであり得るのに対し、追加のABSはTAA ABSであり、あるいは、第1のABSはTAA ABSであり得るのに対し、追加のABSはTCE ABSである。2つ以上のABSを含む抗原結合分子プロタンパク質は、PCLのプロテアーゼ切断時に、多重特異性結合分子（例えば、二重特異性又は三重特異性結合分子）を解除し得る。複数のABSを有する抗原結合分子プロタンパク質のある特定の例は、以下のセクション6.3に記載される。

20

【0075】

6.3. MBMプロタンパク質

いくつかの実施形態では、本開示は、TCE ABS、TAA ABS、マスキング部分、及びプロテアーゼ切断可能リンカーを含むMBMプロタンパク質に関し、マスキング部分がTCE ABSのその標的への結合を減少又は遮断するように配置される。MBMプロタンパク質は、プロテアーゼ、例えば、腫瘍環境内で過剰発現されるプロテアーゼに遭遇すると、マスキング部分が切断され、TCE ABS結合の阻害が逆転するMBMが産生されるように構成される。典型的には、本開示のMBMプロタンパク質は、Fc領域を形成するために会合する2つのFcドメインを更に含み、TCE ABSは、Fc領域に対してC末端である。

30

【0076】

したがって、本開示のMBMプロタンパク質は、一般に、（a）Fc領域を形成するために会合することができる第1のFcドメイン及び第2のFcドメインと、（b）第1のFcドメイン及び／又は第2のFcドメインに対するC末端のTCE ABSと、（c）TAA ABSと、（d）第1のFcドメイン及び／又は第2のFcドメインに対するC末端のプロテアーゼ切断可能リンカー（PCL）と、を含む。典型的には、MBMプロタンパク質におけるTAA ABSは、プロテアーゼ切断可能リンカーが非切断状態にあるかどうかにかかわらず、その標的に結合することができ、一方、TCE ABSのその標的への結合は、プロテアーゼ切断可能リンカーのプロテアーゼ切断後に顕著に増強される。例えば、腫瘍環境内のプロテアーゼ切断可能リンカーの切断後、TAA ABS及びTCE ABSを含むMBMは解除される。

40

【0077】

I型MBMプロタンパク質では、TCE ABSは、抗イディオタイプ抗体によってマスキングされる。II型MBMプロタンパク質では、Fc領域は、TCE ABSがその標的に結合するのを立体的に障害することによって、マスキング部分として作用する。

【0078】

IA型、IIA型、IB型、及びII型MBMプロタンパク質におけるプロテアーゼ切断可能リンカーは、1つ以上のプロテアーゼ、例えば、セクション6.4.1に記載されるプロテアーゼのうちの1つ以上によって認識され、切断される1つ以上の基質を含む。例示的な基質配列は、セクション6.4.2に記載される。プロテアーゼ切断可能リンカ

50

ーは、典型的には、例えば、セクション 6. 4. 3 に記載されるように、スパーサー配列を更に含む。基質及びスパーサー配列を含むプロテアーゼ切断可能リンカー全体の例は、セクション 6. 4. 4 に提供される。MBM プロタンパク質の構成に応じて、Fc 領域は、プロテアーゼ切断可能リンカーの切断後、例えば、IA 型及び IIA 型 MBM プロタンパク質におけるプロテアーゼ切断可能リンカーの切断後、得られる MBM に保持され得るか、又はプロテアーゼ切断可能リンカーの切断後、例えば、IB 型及び IIB 型 MBM プロタンパク質におけるプロテアーゼ切断可能リンカーの切断後、得られる MBM から解除され得る。

【0079】

一般に、本開示の MBM プロタンパク質は、複数のリンカーを含む。好ましくは、その切断が MBM を解除するプロテアーゼ切断可能リンカー以外の残りのリンカーは、非切断可能である。非切断可能リンカーの例は、セクション 6. 5 に記載される。

【0080】

本開示の MBM プロタンパク質（例えば、本開示の IA 型、IIA 型、IB 型、及び II 型 MBM プロタンパク質）に使用することができる例示的な TAA ABS は、セクション 6. 6 に開示される。本開示の MBM プロタンパク質（例えば、本開示の IA 型、IIA 型、IB 型、及び II 型 MBM プロタンパク質）に使用することができる例示的な TCE ABS は、セクション 6. 7 に開示される。本開示の I 型 MBM プロタンパク質に使用することができる例示的な抗 TCE ABS は、セクション 6. 8 に開示される。セクション 6. 9 は、本開示の MBM プロタンパク質に組み込まれる ABS についての好適なフォーマットを記載する。セクション 6. 10 は、本開示の MBM プロタンパク質に組み込むことができる（及び本開示の II 型 MBM プロタンパク質におけるマスキング部分として使用することができる）好適な Fc ドメインを記載する。

【0081】

6. 3. 1. I 型 MBM プロタンパク質（抗イディオタイプマスキング部分を有する）

本開示は、本明細書において「I 型」MBM プロタンパク質と称される、抗 TCE ABS によってマスキングされる TCE ABS を含む MBM プロタンパク質を提供する。典型的には、TCE ABS 及び抗 TCE ABS の両方は、Fc 領域に対して C 末端に配置され、各々は、別々の Fc ドメインに作動可能に連結される。TCE ABS 又は抗 TCE ABS は、例えば、セクション 6. 4 に記載されるように、プロテアーゼ切断可能リンカーによって、Fc 領域の Fc ドメインのうちの 1 つから分離することができる。IA 型 MBM プロタンパク質では、Fc 領域は、プロテアーゼ切断可能リンカーの切断によって活性化された MBM に保持される。IB 型 MBM プロタンパク質では、Fc 領域は、プロテアーゼ切断可能リンカーの切断によって活性化された MBM から分離される。

【0082】

6. 3. 1. 1. IA 型 MBM プロタンパク質

一般に、IA 型 MBM プロタンパク質は、N 末端から C 末端の配向で、Fc ドメイン（その N 末端に任意選択のヒンジドメインを有する）、非切断可能リンカー、及び TCE ABS（又は TCE ABS 鎖）を含む第 1 のポリペプチド鎖と、N 末端から C 末端の配向で、Fc ドメイン（その N 末端に任意選択のヒンジドメインを有する）、プロテアーゼ切断可能リンカー、及び抗 TCE ABS（又は抗 TCE ABS 鎖）を含む第 2 のポリペプチド鎖と、を含む。一方又は両方の Fc ドメインは、好ましくは、その N 末端に TAA ABS（又は TAA ABS 鎖）を更に含む。TCE ABS、TAA ABS、及び／又は抗 TCE ABS が複数のポリペプチド鎖から構成される場合、MBM プロタンパク質は、他の鎖（複数可）、例えば、Fab の軽鎖を更に含む。

【0083】

プロテアーゼ切断可能リンカーの切断後、抗 TCE ABS が解除され、N 末端から C 末端の配向で、Fc ドメイン（その N 末端に任意選択のヒンジドメインを有する）、非切断可能リンカー、及び TCE ABS を含む第 1 のポリペプチド鎖と、N 末端から C 末端の配向で、Fc ドメイン（その N 末端に任意選択のヒンジドメインを有する）、及びプロ

10

20

30

40

50

テアーゼ切断可能リンカーの一部分を含む第2のポリペプチド鎖と、を含む、MBMが産生される。一方又は両方のFcドメインは、好ましくは、そのN末端にTAA ABSを更に含む。TCE ABS及び／又はTAA ABSが複数のポリペプチド鎖から構成される場合、得られるMBMは、他の鎖（複数可）、例えば、Fabの軽鎖を更に含む。

【0084】

好ましくは、得られるMBMは、TAA及びTCE ABSの標的（例えば、CD3）に対して二重特異性である。

図1A～1Cは、IA型MBMプロタンパク質の例示的な実施形態を例示する。図1A及び1Bに示されるように、IA型MBMプロタンパク質は、単一のTAA ABSのみを含むことができる。あるいは、図1Cに示されるように、IA型MBMプロタンパク質は、2つのTAA ABSを含むことができる。例示の目的のためにFabとして描写されているが、図1A～1Cの抗TCE ABSは、抗イディオタイプ抗体からのscFv、VHH、VH、又は他の断片若しくは領域であり得る。図1A～1Cのプロテアーゼ切断可能リンカーにおける単一の基質及び2つのスペーサーの描写は、例示の目的のためのものであり、セクション6.4に記載されるように、プロテアーゼ切断可能リンカーは、複数の基質及び3つ以上のスペーサー配列を含むことができる。

【0085】

6.3.1.2. IB型MBMプロタンパク質

一般に、IB型MBMプロタンパク質は、N末端からC末端の配向で、Fcドメイン（そのN末端に任意選択のヒンジドメインを有する）、非切断可能リンカー、及び抗TCE ABS（又は抗TCE ABS鎖）を含む第1のポリペプチド鎖と、N末端からC末端の配向で、Fcドメイン（そのN末端に任意選択のヒンジドメインを有する）、プロテアーゼ切断可能リンカー、TCE ABS（又はTCE ABS鎖）、及びTAA ABS（又はTAA ABS鎖）を含む第2のポリペプチド鎖と、を含み、一般に、TCE ABS及びTAA ABSは、非切断可能リンカーによって分離される。TCE ABS、TAA ABS、及び／又は抗TCE ABSが複数のポリペプチド鎖から構成される場合、MBMプロタンパク質は、他の鎖（複数可）、例えば、Fabの軽鎖を更に含む。

【0086】

プロテアーゼ切断可能リンカーの切断後、TCE ABS、任意選択のリンカー、及びTAA ABSを含むMBMは解除される。TCE ABS及び／又はTAA ABSが複数のポリペプチド鎖から構成される場合、得られるMBMは、他の鎖（複数可）、例えば、Fabの軽鎖を更に含む。

【0087】

好ましくは、得られるMBMは、TAA及びTCE ABSの標的（例えば、CD3）に対して二重特異性である。

図5A～5Bは、IB型MBMプロタンパク質の例示的な実施形態を例示する。例示の目的のためにFabとして描写されているが、図5Aの抗TCE ABSは、抗イディオタイプ抗体からのscFv、VHH、VH、又は他の断片若しくは領域であり得る。図5A～5Bのプロテアーゼ切断可能リンカーにおける単一の基質及び2つのスペーサーの描写は、例示の目的のためのものであり、セクション6.4に記載されるように、プロテアーゼ切断可能リンカーは、複数の基質及び3つ以上のスペーサー配列を含むことができる。

【0088】

6.3.2. II型MBMプロタンパク質（立体的に障害するマスキング部分を有する）

6.3.2.1. IIA型MBMプロタンパク質

一般に、IIA型MBMプロタンパク質は、N末端からC末端の配向で、Fcドメイン（そのN末端に任意選択のヒンジドメインを有する）、非切断可能リンカー、及び第1のTCE ABS鎖を含む第1のポリペプチド鎖と、N末端からC末端の配向で、Fcドメイン（そのN末端に任意選択のヒンジドメインを有する）、プロテアーゼ切断可能リンカ

一、及び第2のTCE ABS鎖を含む第2のポリペプチド鎖と、を含む。TCE ABS鎖は、Fvの形態におけるTCE ABSがTCE ABS鎖の会合によって形成されるように、対応するCH1及びCLドメインのドメインを伴わないVH及びVLを含み得る。TCE ABS鎖は、Fabの形態におけるTCE ABSがTCE ABS鎖の会合によって形成されるように、対応するCH1及びCLドメインのドメインを有するVH及びVLを含み得る。いくつかの実施形態では、Fcドメインに付着したTCE ABS鎖のVH及び／又はVLは、それらのN末端又はその付近で1つ以上のアミノ酸の欠失、例えば、N末端切断を含む。VH又はVLは、正確に、N末端で（すなわち、切断であり得る）、又は場合によっては、N末端の1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10アミノ酸内で、そのような欠失を有し得る。いくつかの実施形態では、本開示のIIA型MBMプロタンパク質のTCE ABSのVHは、表Gの抗体又は抗体配列のVHなどの、参照VH、例えば、野生型VH又はTCE ABSがベースであるVHのN末端又はその付近（例えば、10アミノ酸以内）で欠失（例えば、切断）又は1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、本開示のIIA型MBMプロタンパク質のTCE ABSのVLは、表Gの抗体又は抗体配列のVLなどの、参照VL、例えば、野生型VL又はTCE ABSがベースであるVLのN末端又はその付近（例えば、10アミノ酸以内）で1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10アミノ酸の欠失（例えば、切断）を含む。

10

【0089】

Fcドメイン及びTCE ABS鎖を分離するリンカーの長さは、FcドメインがTCE ABSをその標的への結合から立体的に障害する能力を最適化するように選択される。好ましくは、非切断可能リンカーの長さは、典型的には5～30アミノ酸の範囲であり、様々な実施形態では、25アミノ酸以下（例えば、5～25アミノ酸の範囲）、20アミノ酸以下（例えば、5～20アミノ酸の範囲）、15アミノ酸以下（例えば、5～15アミノ酸の範囲）、又は10アミノ酸以下（例えば、5～10アミノ酸の範囲）である。特定の実施形態では、非切断可能リンカーは、5、6、7、8、9、又は10アミノ酸長である。

20

【0090】

一方又は両方のFcドメインは、好ましくは、そのN末端にTAA ABS（又はTAA ABS鎖）を更に含む。TAA ABSが複数のポリペプチド鎖から構成される場合、MBMプロタンパク質は、他の鎖、例えば、Fabの軽鎖を更に含む。

30

【0091】

両方のFcドメインのうちの一方は、いくつかの実施形態では、野生型Fcドメインと比較して、C末端又はその付近で1つ以上のアミノ酸の欠失（例えば、C末端切断）を含み得る。いくつかの実施形態では、本開示のIIA型MBMプロタンパク質の一方又は両方のFcドメインは、野生型Fcドメインと比較して、C末端又はその付近で1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10アミノ酸の欠失（例えば、切断）を含む。Fcドメインは、正確に、C末端で（すなわち、切断であり得る）、又は場合によっては、C末端の1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10アミノ酸内で、そのような欠失を有し得る。

40

【0092】

特定の実施形態では、本開示のIIA型MBMプロタンパク質は、（1）野生型Fcドメインと比較して、C末端又はその付近で1、2、3、4、5、又は6アミノ酸の欠失（例えば、切断）を有するFcドメインと、（2）N末端又はその付近で1、2、3、4、5、又は6アミノ酸の欠失（例えば、切断）を有するVH及びVLDドメインを有するTCE ABS鎖と、を含む。例えば、IIA型MBMプロタンパク質は、（1）各々がC末端又はその付近で4、5、又は6アミノ酸の欠失を有する2つのFcドメインと、（2）各々がN末端又はその付近で1、2、又は3アミノ酸の欠失を有するVH及びVLを含むTCE ABSと、を含み得る。

【0093】

50

プロテアーゼ切断可能リンカーの切断後、TCE ABSがその標的に結合する能力を制約する立体的障害は解除される。

好ましくは、得られるMBMは、TAA及びTCE ABSの標的（例えば、CD3）に対して二重特異性である。

【0094】

図3A～3Fは、IIA型MBMプロタンパク質の例示的な実施形態を例示する。図3A及び3Bに示されるように、IIA型MBMプロタンパク質は、単一のTAA ABSのみを含むことができる。あるいは、図3C～3Fに示されるように、IIA型MBMプロタンパク質は、2つのTAA ABSを含むことができる。図3A～3Gのプロテアーゼ切断可能リンカーにおける単一の基質及び2つのスパーサーの描写は、例示の目的のみのためのものであり、セクション6.4に記載されるように、プロテアーゼ切断可能リンカーは、複数の基質及び3つ以上のスパーサー配列を含むことができる。

10

【0095】

6.3.2.2. IIB型MBMプロタンパク質

一般に、IIB型MBMプロタンパク質は、N末端からC末端の配向で、Fcドメイン（そのN末端に任意選択のヒンジドメインを有する）、第1のプロテアーゼ切断可能リンカー、抗TCE ABS鎖、任意選択の非切断可能リンカー、及びTAA ABS（又はTAA ABS鎖）を含む第1のポリペプチド鎖と、N末端からC末端の配向で、Fcドメイン（そのN末端に任意選択のヒンジドメインを有する）、プロテアーゼ切断可能リンカー、及びTCE ABS鎖を含む第2のポリペプチド鎖と、を含む。TAA ABSが複数のポリペプチド鎖から構成される場合、MBMプロタンパク質は、他の鎖（複数可）、例えば、Fabの軽鎖を更に含む。TCE ABS鎖は、Fabの形態におけるTCE ABSがTCE ABS鎖の会合によって形成されるように、対応するCH1及びCLドメインのドメインを有するVH及びVLを含み得る。いくつかの実施形態では、Fcドメインに付着したTCE ABS鎖のVH及び／又はVLは、それらのN末端又はその付近で1つ以上のアミノ酸の欠失、例えば、N末端切断を含む。VH又はVLは、正確に、N末端で（すなわち、切断であり得る）、又は場合によっては、N末端の1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10アミノ酸内で、そのような欠失を有し得る。いくつかの実施形態では、本開示のIIB型MBMプロタンパク質のTCE ABSのVHは、表Gの抗体又は抗体配列のVHなどの、参照VH、例えば、野生型VH又はTCE ABSがベースであるVHのN末端又はその付近（例えば、10アミノ酸以内）で欠失（例えば、切断）又は1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、本開示のIIB型MBMプロタンパク質のTCE ABSのVLは、表Gの抗体又は抗体配列のVLなどの、参照VL、例えば、野生型VL又はTCE ABSがベースであるVLのN末端又はその付近（例えば、10アミノ酸以内）で1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10アミノ酸の欠失（例えば、切断）を含む。

20

30

【0096】

Fcドメイン及びTCE ABS鎖を分離するリンカーの長さは、FcドメインがTCE ABSをその標的への結合から立体的に障害する能力を最適化するように選択される。好ましくは、リンカーの長さは、典型的には5～30アミノ酸の範囲であり、様々な実施形態では、25アミノ酸以下（例えば、5～25アミノ酸の範囲）、20アミノ酸以下（例えば、5～20アミノ酸の範囲）、15アミノ酸以下（例えば、5～15アミノ酸の範囲）、又は10アミノ酸以下（例えば、5～10アミノ酸の範囲）である。

40

【0097】

両方のFcドメインのうちの一方は、いくつかの実施形態では、野生型Fcドメインと比較して、C末端又はその付近で1つ以上のアミノ酸の欠失（例えば、C末端切断）を含み得る。いくつかの実施形態では、本開示のIIB型MBMプロタンパク質の一方又は両方のFcドメインは、野生型Fcドメインと比較して、C末端又はその付近で1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10アミノ酸の欠失（例えば、切断）を含む。Fcドメインは、正確に、C末端で（すなわち、切断であり得る）、又は場合によっては、C末端

50

の 1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは 10 アミノ酸内で、そのような欠失を有し得る。

【0098】

特定の実施形態では、本開示の I I B 型 M B M プロタンパク質は、(1) 野生型 F c ドメインと比較して、C 末端又はその付近で 1、2、3、4、5、又は 6 アミノ酸の欠失（例えば、切断）を有する F c ドメインと、(2) N 末端又はその付近で 1、2、3、4、5、又は 6 アミノ酸の欠失（例えば、切断）を有する V H 及び V L ドメインを有する T C E A B S 鎖と、を含む。例えば、I I B 型 M B M プロタンパク質は、(1) 各々が C 末端又はその付近で 4、5、又は 6 アミノ酸の欠失を有する 2 つの F c ドメインと、(2) 各々が N 末端又はその付近で 1、2、又は 3 アミノ酸の欠失を有する V H 及び V L を含む T C E A B S と、を含み得る。

10

【0099】

プロテアーゼ切断可能リンカーの切断後、T C E A B S、任意選択のリンカー、及び T A A A B S を含む M B M は解除される。T A A A B S が複数のポリペプチド鎖から構成される場合、得られる M B M は、他の T A A A B S 鎖、例えば、F a b の軽鎖を更に含む。

【0100】

好ましくは、得られる M B M は、T A A 及び T C E A B S の標的（例えば、C D 3）に対して二重特異性である。

図 7 は、I I B 型 M B M プロタンパク質の例示的な実施形態を例示する。図 7 のプロテアーゼ切断可能リンカーにおける単一の基質及び 2 つのスペーサーの描写は、例示の目的のためのものであり、セクション 6. 4 に記載されるように、プロテアーゼ切断可能リンカーは、複数の基質及び 3 つ以上のスペーサー配列を含むことができる。

20

【0101】

6. 4. プロテアーゼ切断可能リンカー

本開示の M B M プロタンパク質は、典型的には、プロテアーゼについての 1 つ以上の基質を有するリンカーによって互いに接続され、その切断が M B M の活性化をもたらす少なくとも成分を含む。

【0102】

プロテアーゼ切断可能リンカーは、20 アミノ酸～80 アミノ酸以上の範囲とすることができ、ある特定の態様では、非切断可能ペプチドリンカーは、20 アミノ酸～60 アミノ酸、20 アミノ酸～40 アミノ酸、30 アミノ酸～50 アミノ酸、20 アミノ酸～80 アミノ酸、又は 30 アミノ酸～70 アミノ酸長の範囲である。

30

【0103】

プロテアーゼ切断可能リンカーは、1 つ以上のプロテアーゼ、例えば、セクション 6. 4. 1 に記載されるプロテアーゼのうちの 1 つ以上についての 1 つ以上の基質配列を含む。1 つ以上の基質配列、例えば、セクション 6. 4. 2 に記載される基質配列のうちの 1 つ以上は、典型的には、1 つ以上のスペーサー配列、例えば、セクション 6. 4. 3 に記載されるようなスペーサー配列に隣接している。各プロテアーゼ切断可能リンカーは、1、2、3 個以上の基質配列を含むことができる。スペーサー配列は、隣り合っているか、重複しているか、又はスペーサー配列によって分離されていることができる。好ましくは、プロテアーゼ切断可能リンカーの C 末端及び N 末端は、スペーサー配列を含む。

40

【0104】

例示的なプロテアーゼ切断可能リンカー配列は、セクション 6. 4. 4 に記載される。

6. 4. 1. プロテアーゼ

その基質配列をプロテアーゼ切断可能リンカーに組み込むことができる例示的なプロテアーゼは、以下の表 A に記載される。

【0105】

50

【表 1 - 1】

表 A 基質切断のための例示的なプロテアーゼ		
ADAMS、ADAMTS、例えば、 ADAM8 ADAM9 ADAM10 ADAM12 ADAM15 ADAM17/TACE ADAMDEC1 ADAMTS1 ADAMTS4 ADAMTS5	カスパーゼ、例えば、 カスパーゼ 1 カスパーゼ 2 カスパーゼ 3 カスパーゼ 4 カスパーゼ 5 カスパーゼ 6 カスパーゼ 7 カスパーゼ 8 カスパーゼ 9 カスパーゼ 10 カスパーゼ 14	MMP24 MMP26 MMP27 システインプロテイナーゼ、 例えば、 クルジパイン レグマイン オツバイン(Otubain)-2
アスバラギン酸プロテアー ゼ、例えば、 BACE レニン	 システインカテプシン、例え ば、 カテプシン B カテプシン C カテプシン K	 KLK、例えば、 KLK4 KLK5 KLK6
アスバラギン酸カテプシン、 例えば、 カテプシン D カテプシン E	 カテプシン L カテプシン S カテプシン V/L2 カテプシン X/Z/P	 KLK7 KLK8 KLK10 KLK11 KLK13 KLK14
NS3/4A PACE4 プラスミン PSA tPA トロンビン トリプターゼ uPA	 MMP、例えば、 MMP1 MMP2 MMP3 MMP7 MMP8 MMP9 MMP10 MMP11 MMP12	 メタロプロテイナーゼ、例え ば、 メブリン ネプリライシン PSMA BMP-1 セリンプロテアーゼ、例え ば、 活性化タンパク質 C

【 0 1 0 6 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

表 A 基質切断のための例示的なプロテアーゼ		
FAP	MMP13	カテプシン A
ヘプシン	MMP14	カテプシン G
マトリプターゼ-2	MMP15	キマーゼ
MT/SP1/マトリプターゼ	MMP16	凝固因子プロテアーゼ
	MMP17	(例えば、FVIIa、FIXa、 FXa、FXIa、FXIIa)
TMPRSS2	MMP19	ヒト好中球エラスターゼ
TMPRSS3	MMP20	ラクトフェリン
TMPRSS4	MMP23	

10

【0107】

特定の実施形態では、プロテアーゼは、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) - 2、MMP - 9、レグマンアスパラギニルエンドペプチダーゼ、トロンビン、線維芽細胞活性化プロテアーゼ (FAP)、MMP - 1、MMP - 3、MMP - 7、MMP - 8、MMP - 12、MMP - 13、MMP - 14、膜型 1 マトリックスメタロプロテアーゼ (MT1-MMP)、プラスミン、膜貫通プロテアーゼ、セリン (TMPRSS - 3 / 4)、カテプシン A、カテプシン B、カテプシン D、カテプシン E、カテプシン F、カテプシン H、カテプシン K、カテプシン L、カテプシン L2、カテプシン O、カテプシン S、カスパーゼ 1、カスパーゼ 2、カスパーゼ 3、カスパーゼ 4、カスパーゼ 5、カスパーゼ 6、カスパーゼ 7、カスパーゼ 8、カスパーゼ 9、カスパーゼ 10、カスパーゼ 11、カスパーゼ 12、カスパーゼ 13、カスパーゼ 14、ヒト好中球エラスターゼ、ウロキナーゼ / ウロキナーゼ型プラスミノゲン活性化因子 (uPA)、ディスインテグリン及びメタロプロテアーゼ (ADAM) 10、ADAM 12、ADAM 17、トロンボスポンジンモチーフを有する ADAM (ADAMTS)、ADAMTS 5、ベータセクレターゼ (BACE)、グランザイム A、グランザイム B、グアニジノベンゾアターゼ、ヘプシン、マトリプターゼ、マトリプターゼ 2、メプリン、ネプリライシン、前立腺特異的膜抗原 (PSMA)、腫瘍壊死因子変換酵素 (TACE)、カリクレイン関連ペプチダーゼ (KLK) 3、KLK 5、KLK 7、KLK 11、C 型肝炎ウイルスの NS3 / 4 プロテアーゼ (HCV-NS3 / 4)、組織プラスミノゲン活性化因子 (tPA)、カルパイン、カルパイン 2、グルタミン酸カルボキシペプチダーゼ II、血漿カリクレイン、AMSH 様プロテアーゼ、AMSH、 γ セクレターゼ成分、抗プラスミン切断酵素 (APCE)、デシシン 1 (decysin 1)、アポトーシス関連システインペプチダーゼ、又は N-アセチル化アルファ結合酸性ジペプチダーゼ様 1 である。

20

30

【0108】

6.4.2. 基質

腫瘍プロテアーゼによって切断可能であり、プロテアーゼ切断可能リンカーに組み込むことができる例示的な基質配列は、以下の表 B に記載される。

40

【0109】

【表 2 - 1】

表 B プロテアーゼ切断可能リンカーについての基質配列		
基質配列	表記	切断プロテアーゼ
(DE) ₈ RPLALWRS(DR) ₈ (配列番号 2)	SU1	MMP7
AARGPAIH(配列番号 3)	SU2	
AAVHLVSQ(配列番号 4)	SU3	コラゲナーゼ
AGLGISST(配列番号 5)	SU4	コラゲナーゼ
AGLGVER(配列番号 6)	SU5	コラゲナーゼ
ALAL(配列番号 7)	SU6	リソゾーム酵素
ALFFSSPP(配列番号 8)	SU7	
ALFKSSFP(配列番号 9)	SU8	
ALLLALL(配列番号 10)	SU9	TOP
AQFVLTEG(配列番号 11)	SU10	コラゲナーゼ
AQNLLGMV(配列番号 12)	SU11	
AVGLLAPP(配列番号 13)	SU12	セリンプロテアーゼ
DAFK(配列番号 14)	SU13	ウロキナーゼプラスミノージェン 活性化因子(uPA)
DEVD(配列番号 15)	SU14	カスパーゼ-3
DEVDP(配列番号 16)	SU15	カスパーゼ-3
DPRSFL(配列番号 17)	SU16	トロンビン
DVAQFVLT(配列番号 18)	SU17	コラゲナーゼ
DVLK(配列番号 19)	SU18	プラスミン
DWLYWPGL(配列番号 20)	SU19	
EDDDDKA(配列番号 21)	SU20	エンテロキナーゼ
EP(Cit)G(Hof)YL(配列番号 22)	SU21	MMP2、MMP9、MMP14
EPQALAMS(配列番号 23)	SU22	コラゲナーゼ
ESLPVVAV(配列番号 24)	SU23	コラゲナーゼ
ESPAYYTA(配列番号 25)	SU24	MMP
F(Pip)RS	SU25	トロンビン
FK	SU26	リソゾーム酵素
FPRPLGITGL(配列番号 27)	SU27	
FRLLDWQW(配列番号 28)	SU28	
GFLG(配列番号 29)	SU29	リソゾーム酵素
GGAANLVRGG(配列番号 30)	SU30	MMP11
GGGRR(配列番号 31)	SU31	ウロキナーゼプラスミノージェン 活性化因子(uPA)
GGPRGLPG(配列番号 32)	SU32	カテプシン K
GGQPSGMWGW(配列番号 33)	SU33	
GGSIDGR(配列番号 34)	SU34	因子 Xa
GGWHTGRN(配列番号 35)	SU35	
GIAGQ(配列番号 36)	SU36	コラゲナーゼ
GKAFFR(配列番号 37)	SU37	カリクレイン 2

【 0 1 1 0 】

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

表 B プロテアーゼ切断可能リンカーについての基質配列		
基質配列	表記	切断プロテアーゼ
GPAGLYAQ(配列番号 38)	SU38	
GPAGMKGL(配列番号 39)	SU39	
GPEGLRVG(配列番号 40)	SU40	コラゲナーゼ
GPLGIAGI(配列番号 41)	SU41	コラゲナーゼ
GPLGVVRG(配列番号 42)	SU42	
GPQGIAGQ(配列番号 43)	SU43	コラゲナーゼ
GPQGLLGA(配列番号 44)	SU44	コラゲナーゼ
GPRSFG(配列番号 45)	SU45	
GPRSFGL(配列番号 46)	SU46	
GPSHLVLT(配列番号 47)	SU47	
GVSQNYPIVG(配列番号 48)	SU48	HIV プロテアーゼ
GVVQASCRLA(配列番号 49)	SU49	CMV プロテアーゼ
GWEHDG(配列番号 50)	SU50	インターロイキン 1 β 変換酵素
HSSKLQ(配列番号 51)	SU51	前立腺特異的抗原
HSSKLQEDA(配列番号 52)	SU52	前立腺特異的抗原
HSSKLQL(配列番号 53)	SU53	前立腺特異的抗原
HTGRSGAL(配列番号 54)	SU54	
IDGR(配列番号 55)	SU55	因子 Xa
IEGR(配列番号 56)	SU56	因子 Xa
ILPRSPAF(配列番号 57)	SU57	
IPVSLRSG(配列番号 58)	SU58	MMP
ISSGL(配列番号 59)	SU59	MMP
ISSGLL(配列番号 60)	SU60	MMP
ISSGLLS(配列番号 61)	SU61	MMP
ISSGLLSS(配列番号 62)	SU62	MMP
ISSGLSS(配列番号 63)	SU63	MMP
KGSGDVEG(配列番号 64)	SU64	カスパーゼ-3
KQEQNPGST(配列番号 65)	SU65	FAP
KRALGLPG(配列番号 66)	SU66	MMP7
LAAPLGLL(配列番号 67)	SU67	
LAPLGLQRR(配列番号 68)	SU68	
LAQKLKSS(配列番号 69)	SU69	
LAQRLRSS(配列番号 70)	SU70	

10

20

30

40

【 0 1 1 1 】

50

【表 2 - 3】

表 B プロテアーゼ切断可能リンカーについての基質配列		
基質配列	表記	切断プロテアーゼ
LEATA(配列番号 71)	SU71	MMP9
LKAAPRWA(配列番号 72)	SU72	
LLAPSHRA(配列番号 73)	SU73	
LPGLSPW(配列番号 74)	SU74	
LSGRSANI(配列番号 75)	SU75	セリンプロテアーゼ
LSGRSANP(配列番号 76)	SU76	セリンプロテアーゼ
LSGRSDDH(配列番号 77)	SU77	セリンプロテアーゼ
LSGRSDIH(配列番号 78)	SU78	セリンプロテアーゼ
LSGRSDNH(配列番号 79)	SU79	セリンプロテアーゼ
LSGRSDNI(配列番号 80)	SU80	セリンプロテアーゼ
LSGRSDNP(配列番号 81)	SU81	セリンプロテアーゼ
LSGRSDQG(配列番号 82)	SU82	セリンプロテアーゼ
LSGRSDQH(配列番号 83)	SU83	セリンプロテアーゼ
LSGRSDTH(配列番号 84)	SU84	セリンプロテアーゼ
LSGRSDYH(配列番号 85)	SU85	セリンプロテアーゼ
LSGRSGNH(配列番号 86)	SU86	セリンプロテアーゼ
LVLASSSFGY(配列番号 87)	SU87	単純ヘルペスウイルスプロテアーゼ
MDAFLESS(配列番号 88)	SU88	コラゲナーゼ
MGLFSEAG(配列番号 89)	SU89	
MIAPVAYR(配列番号 90)	SU90	
MVLGRSLL(配列番号 91)	SU91	
NLL	SU92	カテプシン B
NTLSGRSENHSG(配列番号 92)	SU93	
NTLSGRSGNHGS(配列番号 93)	SU94	
PAGLWLDP(配列番号 94)	SU95	
PGGPAGIG(配列番号 95)	SU96	
PIC(Et)FF(配列番号 96)	SU97	カテプシン D
PLGC(me)AG(配列番号 97)	SU98	MMP
PLGL(配列番号 98)	SU99	
PLGLAG(配列番号 99)	SU100	MMP
PLGLAX(配列番号 100)	SU101	MMP
PLGLWA(配列番号 101)	SU102	MMP
PLGLWSQ(配列番号 102)	SU103	MMP

10

20

30

40

【 0 1 1 2 】

50

【表 2 - 4】

表 B プロテアーゼ切断可能リンカーについての基質配列		
基質配列	表記	切断プロテアーゼ
PLTGRSGG(配列番号 103)	SU104	
PMAKK(配列番号 104)	SU105	
PPRSFL(配列番号 105)	SU106	トロンビン
PR(S/T)(L/I)(S/T)	SU107	MMP9
PRFRIIGG(配列番号 107)	SU108	プラスミン
PVGYTSSL(配列番号 108)	SU109	
PVQPIGPQ(配列番号 109)	SU110	コラゲナーゼ
QALAMSAI(配列番号 110)	SU111	コラゲナーゼ
QGRAITFI(配列番号 111)	SU112	
QNQALRMA(配列番号 112)	SU113	
RGPA(配列番号 113)	SU114	
RGPAFNPM(配列番号 114)	SU115	
RGPATPIM(配列番号 115)	SU116	
RKSSIIIRMRDVVL(配列番号 116)	SU117	プラスミン
RLQLKAC(配列番号 117)	SU118	MMP
RLQLKL(配列番号 118)	SU119	MMP
RMHLRSLG(配列番号 119)	SU120	
RPSPMWAY(配列番号 120)	SU121	
RQARVVNG(配列番号 121)	SU122	マトリパーゼ
SAGFSLPA(配列番号 122)	SU123	
SAPAVESE(配列番号 123)	SU124	コラゲナーゼ
SARGPSRW(配列番号 124)	SU125	
SGEPAYYTA(配列番号 125)	SU126	
SGGPLGVR(配列番号 126)	SU127	
SGRIGFLRTA(配列番号 127)	SU128	MMP14
SGRSA(配列番号 128)	SU129	ウロキナーゼプラスミノ ーゲン活性化因子(uPA)
SGRSANPRG(配列番号 129)	SU130	

【 0 1 1 3 】

10

20

30

40

50

【表 2 - 5】

表 B プロテアーゼ切断可能リンカーについての基質配列		
基質配列	表記	切断プロテアーゼ
SMLRSMPL(配列番号 130)	SU131	
SPLPLRVP(配列番号 131)	SU132	
SPLTGRSG(配列番号 132)	SU133	
SPRSIMLA(配列番号 133)	SU134	
SSRGPAYL(配列番号 134)	SU135	
SSRHRRALD(配列番号 135)	SU136	プラスミン
SSSFDKGKYKKGDDA(配列番号 136)	SU137	プラスミン
SSSFDKGKYKRGDDA(配列番号 137)	SU138	プラスミン
STFPFGMF(配列番号 138)	SU139	
TARGPSFK(配列番号 139)	SU140	
TGRGPSWV(配列番号 140)	SU141	
TSGRSANP(配列番号 141)	SU142	
TSTSGRSANPRG(配列番号 142)	SU143	
VAGRSMRP(配列番号 143)	SU144	
VAQFVLTE(配列番号 144)	SU145	コラゲナーゼ
VHMPLGFLGP(配列番号 145)	SU146	
VPLSLYSG(配列番号 146)	SU147	MMP9
VVPEGRRS(配列番号 147)	SU148	
WATPRPMR(配列番号 148)	SU149	
YGAGLGVV(配列番号 149)	SU150	コラゲナーゼ
HPVGLLAR(配列番号 260)	SU151	

10

20

30

40

【0114】

6. 4. 3. スペーサー

プロテアーゼ切断可能リンカーに組み込むことができる例示的なスペーサー配列は、以下の表 C に記載される。表 C に記載されるスペーサー配列に加えて、セクション 6. 5 に記載される非切断可能リンカー配列のうちのいずれか、例えば、表 E に記載される非切断可能リンカー配列、又はその一部分を、スペーサー配列として使用することができる。

【0115】

50

【表 3 - 1】

表 C プロテアーゼ切断可能リンカーについてのスペーサー配列	
スペーサー配列	表記
(GGGGS) _n (配列番号 150)	SP1
(GGGS) _n (配列番号 151)	SP2
(GGS) _n	SP3
(GS) _n	SP4
(GSGGS) _n (配列番号 154)	SP5
GGGGS GGGGS(配列番号 155)	SP6
GGGGS GGGGS GGGGS(配列番号 156)	SP7
GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS(配列番号 157)	SP8
GGGKS GGGKS GGGKS(配列番号 158)	SP9
GGGKS GGGKS GSKGGS(配列番号 159)	SP10
GGGS(配列番号 160)	SP11
GGGSG(配列番号 161)	SP12
GGKSGGGKSGGGKS(配列番号 162)	SP13
GGSGGGSGGGGS(配列番号 163)	SP14
GGSGGS(配列番号 164)	SP15
GGSGSGGGGS(配列番号 165)	SP16
GSGGG(配列番号 166)	SP17
GSGSG(配列番号 167)	SP18
GSS	SP19
GSSG(配列番号 168)	SP20
GSSGSGGGSG(配列番号 169)	SP21
GSSGSGGGSGG(配列番号 170)	SP22
GSSGSGGGSGGS(配列番号 171)	SP23
GSSGSGGGSGGSG(配列番号 172)	SP24
GSSGSGGGSGGSGGS(配列番号 173)	SP25
GSSGSGGGSGS(配列番号 174)	SP26
GSSGT(配列番号 175)	SP27
GSSSG(配列番号 176)	SP28
QGQSGQ(配列番号 177)	SP29
QGQSGQG(配列番号 178)	SP30
QGQSGS(配列番号 179)	SP31
QSGQ(配列番号 180)	SP32
QSGQG(配列番号 181)	SP33

10

20

30

40

【 0 1 1 6 】

50

【表 3－2】

表 C プロテアーゼ切断可能リンカーについてのスペーサー配列	
スペーサー配列	表記
QSGS(配列番号 182)	SP34
SGQ	SP35
SGQG(配列番号 183)	SP36
SGS	SP37
(G) _n	SP38

10

【0117】

いくつかの実施形態では、上記の表 C で使用される場合、n は、1 ～ 10 の整数、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 10 である。

6.4.4. 例示的なプロテアーゼ切断可能リンカー

1 つ以上の基質配列及びスペーサー配列を含む例示的なプロテアーゼ切断可能リンカーは、以下の表 D に記載される。

【0118】

20

30

40

50

【表 4 - 1】

表 D プロテアーゼ切断可能リンカー配列		
リンカー配列	表記	切断プロテアーゼ(複数可)
<u>GGGISSGLLSGRSDNHGGGISSGLL</u> SGRSDNHGGS(配列番号 184)	PCL1	
<u>GGGISSGLLSGRSDNHGGGISSGLL</u> SGRSDNHGGS <u>GGGISSGLLSGRSDNHGGGISSGLL</u> SGRSDNHGGS(配列番号 185)	PCL2	
<u>GGSGGSIPVSLRSGGGISSGLLSGR</u> SDNHGGSGGS(配列番号 186)	PCL3	
<u>GGSGGSVPLSLYSGGGISSGLLSGR</u> SDNHGGSGGS(配列番号 187)	PCL4	
<u>GGSHPVGLLARGGGHPVGLLARG</u> GGHPVGLLARGS(配列番号 188)	PCL5	
<u>GGSHPVGLLARGGGHPVGLLARG</u> GSGRSAGGSGRSA(配列番号 189)	PCL6	
AVGLLAPPGGLSGRSANI(配列番号 190)	PCL7	ADAM17_2、FAPa_1、CTSL1_1
AVGLLAPPGGLSGRSANP(配列番号 191)	PCL8	FAPa_1、ADAM17_2、CTSL1_1
AVGLLAPPGGLSGRSDDH(配列番号 192)	PCL9	MMP14_1、MMP14_1、MMP14_1
AVGLLAPPGGLSGRSDIH(配列番号 193)	PCL10	MMP14_1、MMP14_1、MMP14_1
AVGLLAPPGGLSGRSDNH(配列番号 194)	PCL11	MMP14_1、MMP14_1
AVGLLAPPGGLSGRSDNI(配列番号 195)	PCL12	MMP14_1、CTSL1_1、ADAM17_2
AVGLLAPPGGLSGRSDNP(配列番号 196)	PCL13	CTSL1_1、ADAM17_2、FAPa_1
AVGLLAPPGGLSGRSDQH(配列番号 197)	PCL14	
AVGLLAPPGGLSGRSDTH(配列番号 198)	PCL15	FAPa_1、CTSL1_1、ADAM17_2
AVGLLAPPGGLSGRSDYH(配列番号 199)	PCL16	
AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG(配列番号 200)	PCL17	
AVGLLAPPSGRSANPRG(配列番号 201)	PCL18	
AVGLLAPPTSGRSANPRG(配列番号 202)	PCL19	

【 0 1 1 9 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

表 D プロテアーゼ切断可能リンカー配列		
リンカー配列	表記	切断プロテアーゼ(複数可)
GGALFKSSFPGPAGLYAQPLAQKL KSSGGK(配列番号 203)	PCL20	CTSL1_1、MMP14_1、ADAM17_2
GGGSGGGSGGGSGGGSFVGGTGGG GSGGGSGGS(配列番号 204)	PCL21	
GGGSGGGSGGGSGGGSISSGLLSGR SDNHGSGGS(配列番号 205)	PCL22	
GGGSGGGSGGGSGGGSVPLSLYSG GGSGGGSGGS(配列番号 206)	PCL23	
GGGSGGGSGGGSGPLGLWSQGGGGS GGGSGGGSGG(配列番号 207)	PCL24	
GGGSGGGSGGSKKAAPGGGGSGG GGSGGGSGGS(配列番号 208)	PCL25	
GGGSGGGSGGSKKAAPVNGGGGG SGGGSGGGGS(配列番号 209)	PCL26	
GGGSGGGSGGSPMAKKGGGGSGG GGSGGGSGGS(配列番号 210)	PCL27	
GGGSGGGSGGSPMAKKVNGGGGG SGGGSGGGGS(配列番号 211)	PCL28	
GGGSGGGSGGQARAKGGGGSGG GGSGGGSGGS(配列番号 212)	PCL29	
GGGSGGGSGGQARAKVNGGGGG SGGGSGGGGS(配列番号 213)	PCL30	
GGGSGGGSGGSRQARVNGGGGG SGGGSGGGGS(配列番号 214)	PCL31	
GGGSGGGSGGSRQARVNGGGGG SVPLSLYSGGGGGSGGGGS(配列番 号 215)	PCL32	
GGGSGGGSGGSRQARVNSVPLSL YSGGGGGSGGGGS(配列番号 216)	PCL33	
GGGSGGGSGGVHMPGLGFLGPGGG GSGGGSGGS(配列番号 217)	PCL34	
GGGGSVHMPGLGFLGPGRSRGSPG GGGS(配列番号 218)	PCL35	
GGGGSVHMPGLGFLGPPMAKKGG GGSGGGSGGS(配列番号 219)	PCL36	
GGGGSVHMPGLGFLGPRQARVVNG GGSGGGGS(配列番号 220)	PCL37	
GGGGSVHMPGLGFLGPRQARVVNG GGSGGGSGG(配列番号 221)	PCL38	
GGPLAQKLKSSALFKSSFPGPAGL YAQGGR(配列番号 222)	PCL39	ADAM17_2、CTSL1_1、MMP14_1

【 0 1 2 0 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 3】

表 D プロテアーゼ切断可能リンカー配列		
リンカー配列	表記	切断プロテアーゼ(複数可)
GLSGRSDNHGGAVGLLAPP(配列番号 223)	PCL40	
GLSGRSDNHGGVHMPGLGFLGP(配列番号 224)	PCL41	
ISSGLLSGRSANI(配列番号 225)	PCL42	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSANP(配列番号 226)	PCL43	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSANPRG(配列番号 227)	PCL44	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSDDH(配列番号 228)	PCL45	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSDIH(配列番号 229)	PCL46	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSDNH(配列番号 230)	PCL47	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSDNI(配列番号 231)	PCL48	CTSL1_1、MMP14_1
ISSGLLSGRSDNP(配列番号 232)	PCL49	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSDQH(配列番号 233)	PCL50	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSDTH(配列番号 234)	PCL51	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSDYH(配列番号 235)	PCL52	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSGNH(配列番号 236)	PCL53	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSSGGSGGSLSGRSDNH(配列番号 237)	PCL54	
ISSGLLSSGGSGGSLSGRSGNH(配列番号 238)	PCL55	
KGGPGGPAGIGPLAQLRSSALFKSSFPGR(配列番号 239)	PCL56	FAPa_1、ADAM17_1、CTSL1_1
KSGPGGPAGIGALFFSSPPLAQKLKSSGGR(配列番号 240)	PCL57	FAPa_1、CTSL1_2、ADAM17_2
LSGRSDNHGGAVGLLAPP(配列番号 241)	PCL58	
LSGRSDNHGGSGGSISSGLLSS(配列番号 242)	PCL59	
LSGRSDNHGGSGGSQNQALRMA(配列番号 243)	PCL60	
LSGRSDNHGGVHMPGLGFLGP(配列番号 244)	PCL61	
LSGRSGNHGGSGGSISSGLLSS(配列番号 245)	PCL62	
LSGRSGNHGGSGGSQNQALRMA(配列番号 246)	PCL63	
QNQALRMAGGSGGSLSGRSDNH(配列番号 247)	PCL64	
QNQALRMAGGSGGSLSGRSGNH(配列番号 248)	PCL65	

【 0 1 2 1 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 4】

表 D プロテアーゼ切断可能リンカー配列		
リンカー配列	表記	切断プロテアーゼ(複数可)
RGGALFKSSFPLAQKLKSSGPAGLYAQGGK(配列番号 249)	PCL66	CTSL1_1、ADAM17_2、MMP14_1
RGGGPAGLYAQPLAQKLKSSALFKSSFPGG(配列番号 250)	PCL67	MMP14_1、ADAM17_2、CTSL1_1
SGGFPRSGGSFNPRTFGSKRKRRGSRGGGG(配列番号 251)	PCL68	トロンビン、因子 Xa、ヘプシン
SGPLAQKLKSSGPAGLYAQALFKSSFPGSK(配列番号 252)	PCL69	ADAM17_2、MMP14_1、CTSL1_1
TSTSGRSANPRGGGAVGLLAPP(配列番号 253)	PCL70	
TSTSGRSANPRGGGVHMPGLGFLGP(配列番号 254)	PCL71	
VHMPGLGFLPGGGLSGRSDNH(配列番号 255)	PCL72	
VHMPGLGFLPGGTSTSGRSANPRG(配列番号 256)	PCL73	
<u>SGRSAGGGSGRSAGGGSGRSA</u> (配列番号 257)	PCL74	uPA
<u>HPVGLLARGGGHPVGLLARGGGSGRSAGGGSGRSA</u> (配列番号 258)	PCL75	MPA(MMP-2 及び uPA)
GPLGVRGK(配列番号 259)	PCL76	MMP-2
HPVGLLAR(配列番号 260)	PCL77	MMP-2
GPQGIAGQ(配列番号 43)	PCL78	MMP-2、MMP-9、及びある程度まで MT1-MMP
VPMSMRGG(配列番号 261)	PCL79	MMP-9 及び MMP-2
IPVSLRSG(配列番号 58)	PCL80	MMP-2、及びある程度まで MMP-9 又は MMP-7
RPFSMIMG(配列番号 262)	PCL81	MMP-9 及び MMP-7、ある程度まで MMP-3
VPLSLTMG(配列番号 263)	PCL82	MMP-7、ある程度まで MMP-9、MMP-2、MPT-1-MMP
VPLSLYS(配列番号 146)	PCL83	MMP-2、MMP-9、MMP-7
IPESLRAG(配列番号 264)	PCL84	MMP-2、MMP-7、MMP-9、ある程度まで MPT-1-MMP
GGGISSGLLSGRSDNHGGGS(配列番号 339)	PCL85	
GGGHPVGLLARGGGS(配列番号 340)	PCL86	
GGGSGGGSGGGGISSGLLSGRSDNHGGGSGGGSGGS(配列番号 341)	PCL87	

10

20

30

40

【 0 1 2 2 】

50

【表 4 - 5】

表 D プロテアーゼ切断可能リンカー配列		
リンカー配列	表記	切断プロテアーゼ(複数可)
GGGGISSGLLSGRSDNHGGGISSG LLSGRSDNHGGS(配列番号 342)	PCL88	
GGGSGGSIPVSLRSGGGISSGLLSG RSDNHGGS(配列番号 343)	PCL89	
GGGSGGSVPLSLYSGGGISSGLLS GRSDNHGGS(配列番号 344)	PCL90	
GGGSHPVGLLARGGGHPVGLLAR GGGHPVGLLARGS(配列番号 345)	PCL91	
GGGSHPVGLLARGGGHPVGLLAR GGSGRSAGSGRS(配列番号 346)	PCL92	

10

【0 1 2 3】

ある特定の態様では、プロテアーゼ切断可能リンカーは、表 D に記載される配列と比較して最大 5、最大 4、最大 3、最大 2、又は最大 1 個のアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む。したがって、いくつかの実施形態では、プロテアーゼ切断可能リンカーは、表 D に記載される配列と比較して 1 ～ 5 個のアミノ酸置換を有する表 D における任意のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。

20

【0 1 2 4】

6. 5. 非切断可能リンカー

ある特定の態様では、本開示は、MBM プロタンパク質の 2 つ以上の成分がペプチドリンカーによって互いに接続されている MBM プロタンパク質を提供する。限定ではなく例として、リンカーを使用して、(a) ABS 及び Fc ドメイン、(b) 2 つの ABS、又は (c) ABS 内の異なるドメイン (例えば、scFv 内の VH 及び VL ドメイン) を接続することができる。

【0 1 2 5】

好ましくは、その切断が MBM の活性化をもたらすプロテアーゼ切断可能リンカー以外の、MBM プロタンパク質における全てのリンカーは、非切断可能リンカー (NCL) である。

30

【0 1 2 6】

非切断可能リンカーは、2 アミノ酸 ～ 60 アミノ酸以上の範囲とすることができ、ある特定の態様では、非切断可能ペプチドリンカーは、3 アミノ酸 ～ 50 アミノ酸、4 ～ 30 アミノ酸、5 ～ 25 アミノ酸、10 ～ 25 アミノ酸、10 アミノ酸 ～ 60 アミノ酸、12 アミノ酸 ～ 20 アミノ酸、20 アミノ酸 ～ 50 アミノ酸、又は 25 アミノ酸 ～ 35 アミノ酸長の範囲である。

【0 1 2 7】

特定の態様では、非切断可能リンカーは、少なくとも 5 アミノ酸、少なくとも 6 アミノ酸、又は少なくとも 7 アミノ酸長であり、任意選択で、最大 30 アミノ酸、最大 40 アミノ酸、最大 50 アミノ酸、又は最大 60 アミノ酸長である。

40

【0 1 2 8】

前述のいくつかの実施形態では、非切断可能リンカーは、5 アミノ酸 ～ 50 アミノ酸長の範囲、例えば、5 ～ 50、5 ～ 45、5 ～ 40、5 ～ 35、5 ～ 30、5 ～ 25、又は 5 ～ 20 アミノ酸長の範囲である。前述の他の実施形態では、非切断可能リンカーは、6 アミノ酸 ～ 50 アミノ酸長の範囲、例えば、6 ～ 50、6 ～ 45、6 ～ 40、6 ～ 35、6 ～ 30、6 ～ 25、又は 6 ～ 20 アミノ酸長の範囲である。前述のなお他の実施形態では、非切断可能リンカーは、7 アミノ酸 ～ 50 アミノ酸長の範囲、例えば、7 ～ 50、7

50

～45、7～40、7～35、7～30、7～25、又は7～20アミノ酸長の範囲である。

【0129】

荷電（例えば、荷電親水性リンカー）及び／又は柔軟な非切断可能リンカーが特に好ましい。

本開示のMBMプロタンパク質に使用することができる柔軟な非切断可能リンカーの例としては、Chen et al., 2013, Adv Drug Deliv Rev. 65 (10) : 1357-1369及びKlein et al., 2014, Protein Engineering, Design & Selection 27 (10) : 325-330に開示されるものが挙げられる。特に有用な柔軟な非切断可能リンカーは、グリシン及びセリンの反復、例えば、G_nS（配列番号265）又はSG_n（配列番号266）のモノマー又は多量体であるか、又はそれらを含み、式中、nは、1～10の整数、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10である。一実施形態では、非切断可能リンカーは、G₄S（配列番号1）のモノマー又はその反復の多量体、例えば、(GGGGS)_n（配列番号150）であるか、又はそれを含む。

10

【0130】

ポリグリシン非切断可能リンカーは、本開示のMBMプロタンパク質に好適に使用することができる。いくつかの実施形態では、ペプチド非切断可能リンカーは、2つの連続したグリシン（2Gly）、3つの連続したグリシン（3Gly）、4つの連続したグリシン（4Gly）（配列番号267）、5つの連続したグリシン（5Gly）（配列番号268）、6つの連続したグリシン（6Gly）（配列番号269）、7つの連続したグリシン（7Gly）（配列番号270）、8つの連続したグリシン（8Gly）（配列番号271）、又は9つの連続したグリシン（9Gly）（配列番号272）を含む。

20

【0131】

例示的な非切断可能リンカー配列は、以下の表Eに記載される。

【0132】

30

40

50

【表 5 - 1】

表 E 非切断可能リンカー配列		
リンカー配列	表記	配列番号
(GGGGS) _n (配列番号 150)	NCL1	
(GGGS) _n (配列番号 151)	NCL2	
(GGS) _n	NCL3	
(GS) _n	NCL4	
(GSGGS) _n (配列番号 154)	NCL5	
ADAAP(配列番号 273)	NCL6	
ADAAPTVSIFP(配列番号 274)	NCL7	
ADAAPTVSIFPP(配列番号 275)	NCL8	
AKTTAP(配列番号 276)	NCL9	
AKTTAPSVYPLAP(配列番号 277)	NCL10	
AKTTPKLEEGEFSEARV(配列番号 278)	NCL11	
AKTTPKLGG(配列番号 279)	NCL12	
AKTTPP(配列番号 280)	NCL13	
AKTTPPSVTPLAP(配列番号 281)	NCL14	
ASTKGP(配列番号 282)	NCL15	
ASTKGPSVFPLAPASTKGPSVFPLAP(配列番号 283)	NCL16	
EGKSSGSGSESKST(配列番号 284)	NCL17	
GEGESGEGESGEGES(配列番号 285)	NCL18	
GEGESGEGESGEGESGEGES(配列番号 286)	NCL19	
GEGSGEGSGEGGS(配列番号 287)	NCL20	
GENKVEYAPALMALS(配列番号 288)	NCL21	
GGEGSGGEGSGEGGS(配列番号 289)	NCL22	
GGGESGGEGSGEGGS(配列番号 290)	NCL23	
GGGESGGGESGGGES(配列番号 291)	NCL24	
GGGGSGGGGS(配列番号 155)	NCL25	
GGGGSGGGSGGGGS(配列番号 156)	NCL26	
GGGGSGGGSGGGSGGGGS(配列番号 157)	NCL27	
GGGKSGGKSGGGKS(配列番号 158)	NCL28	
GGGKSGGKSGKGGGS(配列番号 159)	NCL29	
GGS(配列番号 160)	NCL30	
GGSG(配列番号 161)	NCL31	
GGKSGGKSGGKGS(配列番号 162)	NCL32	
GGS	NCL33	
GGSG(配列番号 292)	NCL34	
GGSGG(配列番号 293)	NCL35	
GGSGG(配列番号 293)	NCL36	
GGSGGGSG(配列番号 294)	NCL37	

10

20

30

40

【 0 1 3 3 】

50

【表 5 - 2】

表 E 非切断可能リンカー配列		
リンカー配列	表記	配列番号
GGSGGGSGGGGS(配列番号 163)	NCL38	
GHEAAVMQVQYPAS(配列番号 295)	NCL39	
GKGGSGKGGSGKGGGS(配列番号 296)	NCL40	
GKKGSGKKGSGKKGKS(配列番号 297)	NCL41	
GKKGSGKKGSGKKGSGKKGKS(配列番号 298)	NCL42	
GKPGSGKPGSGKPGS(配列番号 299)	NCL43	
GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSGS(配列番号 300)	NCL44	
GPAKELTPLKEAKVS(配列番号 301)	NCL45	
GSAGSAAGSGEF(配列番号 302)	NCL46	
GSGGG(配列番号 166)	NCL47	
GSGSG(配列番号 167)	NCL48	
GSS	NCL49	
GSSG(配列番号 168)	NCL50	
GSSGSGSGSG(配列番号 169)	NCL51	
GSSGSGSGSGG(配列番号 170)	NCL52	
GSSGSGSGSGGS(配列番号 171)	NCL53	
GSSGSGSGSGGSG(配列番号 172)	NCL54	
GSSGSGSGSGSGGGS(配列番号 173)	NCL55	
GSSGSGSGSGS(配列番号 174)	NCL56	
GSSGT(配列番号 175)	NCL57	
GSSSG(配列番号 176)	NCL58	
GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号 303)	NCL59	
GTAAAGAGAAGGAAAGAAG(配列番号 304)	NCL60	
GTSGSSGSGSGSGSGGGG(配列番号 305)	NCL61	
IRPRAIGGSKPRVA(配列番号 306)	NCL62	
KESGSVSSEQLAQFRSLD(配列番号 307)	NCL63	
KTTPKLEEGEFSEAR(配列番号 308)	NCL64	
PRGASKSGSASQTGSAPGS(配列番号 309)	NCL65	
QPKAAP(配列番号 310)	NCL66	
QPKAAPSVTLFPP(配列番号 311)	NCL67	
RADAAAA(G4S) ₄ (配列番号 312)	NCL68	
RADAAAAGGPGS(配列番号 313)	NCL69	
RADAAP(配列番号 314)	NCL70	
RADAAPTVS(配列番号 315)	NCL71	

10

20

30

40

【 0 1 3 4 】

50

【表 5 - 3】

表 E 非切断可能リンカー配列		
リンカー配列	表記	配列番号
SAKTTP(配列番号 316)	NCL72	
SAKTTPKLEEGEFSEARV(配列番号 317)	NCL73	
SAKTTPKLGG(配列番号 318)	NCL74	
STAGDTHLGGEDFD(配列番号 319)	NCL75	
TVAAP(配列番号 320)	NCL76	
TVAAPSVFIFPP(配列番号 321)	NCL77	
TVAAPSVFIFPPTVAAPSVFIFPP(配列番号 322)	NCL78	

10

【0135】

ある特定の態様では、本開示のMBMプロタンパク質は、N末端からC末端の配向で、ABS（又はABS鎖）、ヒンジドメイン、及びCH2ドメイン、及びCH3ドメインを含むポリペプチド鎖を含み得る。したがって、ヒンジドメインは、ABSをCH2ドメインと接続し、あるタイプのリンカーを構成すると言することができる。例示的なヒンジドメインは、セクション6.10.3に記載される。

20

【0136】

6.6. TAA ABS

本開示のMBMプロタンパク質は、細胞外マトリックス（「ECM」）抗原、腫瘍反応性リンパ球抗原、腫瘍若しくはウイルスリンパ球の細胞表面分子、T細胞抗原（「TCA」）、チェックポイント阻害剤、又は本明細書において「TAA ABS」と称される、腫瘍関連抗原（TAA）に特異的に結合する少なくとも1つのABSを含む。当業者は、標的分子の前述のカテゴリーが相互に排他的ではなく、したがって、所与の標的分子が標的分子の前述のカテゴリーのうちの2つ以上に分類され得ることを認識するであろう。例えば、いくつかの分子は、TAA及びECMタンパク質の両方とみなされ得、他の分子は、TCA及びチェックポイント阻害剤の両方とみなされ得る。好ましくは、ECM抗原、腫瘍反応性リンパ球抗原、腫瘍若しくはウイルスリンパ球の細胞表面分子、TCA、チェックポイント阻害剤、又はTAAは、ヒト抗原である。抗原は、正常細胞上に存在していても、していなくてもよい。特定の態様は、TAAに特異的に結合する少なくとも1つのABSを含むMBMプロタンパク質を対象とする。ある特定の実施形態では、TAAは、正常細胞と比較して、腫瘍細胞上で優先的に発現又は上方制御される。他の実施形態では、TAAは、システムマーカーである。

30

【0137】

腫瘍のいずれかのタイプ及びECM抗原のいずれかのタイプ、腫瘍反応性リンパ球抗原、腫瘍若しくはウイルスリンパ球の細胞表面分子、TCA、チェックポイント阻害剤、又はTAAが、本開示のMBMプロタンパク質によって標的化され得ることが予想される。標的化され得るがんの例示的なタイプとしては、急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、胆道がん、B細胞白血病、B細胞リンパ腫、胆道がん、骨がん、脳がん、乳がん、トリプルネガティブ乳がん、子宮頸がん、バーキットリンパ腫、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、結腸直腸がん、子宮内膜がん、食道がん、胆嚢がん、胃がん、胃腸管がん、神経膠腫、有毛細胞性白血病、頭頸部がん、ホジキンリンパ腫、肝臓がん、肺がん、甲状腺髄様がん、黒色腫、多発性骨髄腫、卵巣がん、非ホジキンリンパ腫、膵臓がん、前立腺がん、肺管がん、腎がん、肉腫、皮膚がん、精巣がん、尿路上皮がん、及び他の膀胱がんが挙げられる。しかしながら、当業者は、TAA及び腫瘍微小環境に関連する他の標的分子が、実質的にがんのいずれかのタイプについて既知であることを認識するであろう

40

50

う。

【0138】

ECM抗原の非限定的な例としては、シンデカン、ヘパラーゼ、インテグリン、オステオポンチン、リンク、カドヘリン、ラミニン、ラミニンEGF型、レクチン、フィブロネクチン、ノッチ、ネクチン（例えば、ネクチン-4）、テネイシン、コラーゲン（例えば、X型コラーゲン）、及びマトリキシンが挙げられる。

【0139】

他の標的分子は、腫瘍又はウイルスリンパ球の細胞表面分子、例えば、CD27、CD28、4-1BB（CD137）、OX40、CD30、CD40、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1（LFA-1）、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、及びB7-H3などのT細胞共刺激タンパク質である。

10

【0140】

特定の実施形態では、標的分子は、チェックポイント阻害剤、例えば、CTLA-4、PD1、PDL1、PDL2、B7-H3、B7-H4、BTLA、HVEM、TIM3、GAL9、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2である。特定の実施形態では、標的分子は、PD1である。他の実施形態では、標的分子は、LAG3である。標的分子がチェックポイント阻害剤であるいくつかの実施形態では、TAAABSは、リガンド-受容体結合を非遮断又は乏しく遮断する。非遮断又は乏しい遮断の抗PD1抗体の例としては、PCT公開第WO2015/112800A1号の配列番号2/10、米国特許第11,034,765B2号の16/17、米国特許第10,294,299B2号の配列番号164/178、165/179、166/180、167/181、168/182、169/183、170/184、171/185、172/186、173/187、174/188、175/189、176/190、及び177/190のVH/VLアミノ酸配列を有する抗体が挙げられる。非遮断又は乏しい遮断の抗LAG3抗体の例としては、米国公開第2022/0056126A1号の配列番号23/24、3/4、及び11/12のVH/VLアミノ酸配列を有する抗体が挙げられる。

20

【0141】

ある特定の実施形態では、標的分子は、TAAである。例示的なTAAは、TAAABSがベースであることができる例示的な抗体又は抗体配列への言及と一緒に、以下の表Fに記載される。

30

【0142】

40

50

【表 6 - 1】

表 F 例示的な抗 TAA	
標的	抗体の名称及び/又は結合配列
1-92-LFA-3	Amevive(商標)(アレファセプト)
5T4	GEN1044
アクチビン受容体 II 型	ビマグルマブ VH:米国特許第 8,388,968B2 号の配列番号 107、109 VL:米国特許第 8,388,968B2 号の配列番号 93、95
B7-H3	オブリンダタマブ(Obrindatamab)(MGD009)
BAFF/B リンパ球刺激物質	Benlysta(商標)(ベリムマブ)
BAFF/B リンパ球刺激物質	VH:米国特許第 7,138,501 号の配列番号 327 のアミノ酸 1~123 VL:米国特許第 7,138,501 号の配列番号 327 のアミノ酸 139~249。
BAFF/B リンパ球刺激物質	VH:米国特許第 7,605,236 号の配列番号 1321 のアミノ酸 1~126; VL:米国特許第 7,605,236 号の配列番号 1049 のアミノ酸 143~251。
BAFF/B リンパ球刺激物質	ベリムマブ
BCMA	VH:US2021/0206865A1 の配列番号 126 の重鎖の VH 配列 VL:US2021/0206865A1 の配列番号 129 又は配列番号 132 の軽鎖の VL 配列
CA125	イゴブマブ
CA125	OvaRex(商標)(オレゴブマブ)
CD11a	Raptiva(商標)(エファリズマブ) Werther <i>et al.</i> , 1996, The Journal of Immunology 157(11):4986-4995 における配列。
CD19	Blincyto(商標)(ブリナツモマブ)
CD19	SGN-CD19A
CD20	Bexxar(商標)(トシツモマブ) VH:米国特許公開第 2017/0002060A1 号の配列番号 124 の重鎖の VH 配列 VL:米国特許公開第 2017/0002060A1 号の配列番号 125 の軽鎖の VL 配列
CD20	Zevalin(商標)(イブリツモマブチウキセタン) VH:米国特許第 5,736,137 号の配列番号 9 VL:米国特許第 5,736,137 号の配列番号 6
CD20	Rituxan(商標)(リツキシマブ) VH:米国特許第 5,736,137 号の配列番号 9 VL:米国特許第 5,736,137 号の配列番号 6
CD20	Ocrevus(商標)(オクレリズマブ)
CD20	オカラツズマブ

10

20

30

40

【 0 1 4 3 】

【表 6 - 2】

表 F 例示的な抗 TAA	
標的	抗体の名称及び/又は結合配列
CD20	Arzerra(商標)(オフアツムマブ) VH:米国特許第 8,529,902 号の配列番号 2 VL:米国特許第 8,529,902 号の配列番号 4
CD20	Gazyva(商標)(オビスツズマブ)
CD20	VH:US2021/0206870A1 の配列番号 4 US2021/0206870A1 の配列番号 6 の VL
CD20	エプコリタマブ
CD22	ベリムマブ
CD22	エブラツズマブ
CD22	Besponsa(商標)(イノツズマブオゾガマイシン)
CD22	Lumoxiti(商標)(モキセツムマブパストクス)
CD22	ピナツズマブベドチン
CD25	Zenapax(商標)(ダクリズマブ) VH:米国特許第 7,060,269 号の配列番号 9 VL:米国特許第 7,060,269 号の配列番号 10
CD30	Adcetris(商標)(ブレンツキシマブベドチン) VH:米国特許第 7,090,843 号の配列番号 2 VL:米国特許第 7,090,843 号の配列番号 10
CD33	Myelotarg(商標)(ゲムツズマブ) Man Sung, <i>et al.</i> , 1993, Molecular immunology 30:1361-1367 における配列
CD33	リンツズマブ
CD38	Darzalex(商標)(ダラツムマブ)
CD40	ルカツムマブ
CD40	ダセツズマブ
CD40L	Hu5c8(ルブリズマブ)
CD44v6	ビバツズマブメルタンシン
CD52	Campath(商標)(アレムツズマブ) VH:米国特許公開第 2017/0002060A1 号の配列番号 1 VL:米国特許公開第 2017/0002060A1 号の配列番号 2
CD70	Blenrep(商標)(ボルセツズマブマホドチン)
CD123	フロテツズマブ
CD221	Tepezza(商標)(テプロツムマブ)
CEA	Hybri-Ceaker(登録商標)(アルツモマブペンテテート)
CEA	Scintimun(商標)(ベシレソマブ)
CEA	CEA-CIDE(商標)(ラベツズマブ))
CEA	CEA-Scan(商標)(アルシツモマブ)

【 0 1 4 4 】

10

20

30

40

50

【表 6 - 3】

表 F 例示的な抗 TAA	
標的	抗体の名称及び/又は結合配列
CEA	hMN-15 米国特許第 8,771,690B2 号の配列番号 4~6 の CDR-H1、CDR-H2、及び CDR-H3 配列 米国特許第 8,771,690B2 号の配列番号 1~3 の CDR-L1、CDR-L2、及び CDR-L3 配列
CEA	臨床試験 NCT02324257 からの RO6958688/RG7802 の CEA 結合部分
CEA	シビサタマブ
CEA	臨床試験 NCT01284231 及び NCT02291614 からの MEDI-565/MT110/AMG211 の CEA 結合部分 VH:PCT 公開第 WO2013/012414A1 号の配列番号 49 又は 51 VL:PCT 公開第 WO2013/012414A1 号の配列番号 48。
CEA	ラベツズマブ
CEA	アテゾリズマブ
CEA	シビサタマブ
CEA	MEDI-565(AMG211、MT111)
CEA	RO6958688
CEA	VH:WO2022/048883A1 に記載される配列番号 9 VL:WO2022/048883A1 に記載される配列番号 10
CLDN18.2	AMG910
補体 C5	Soliris(商標)(エクリズマブ) VH:米国特許第 6,355,245 号の配列番号 10 のアミノ酸 1~122 VL:米国特許第 6,355,245 号の配列番号 9 のアミノ酸 3~110
CTLA-4	Yervoy(商標)(イピリムマブ) VH:WO2001/014424A2 の配列番号 17 VL:WO2001/014424A2 の配列番号 7
CTLA-4	(トレメリムマブ)
CTLA-4	Orencia(商標)(アバタセプト)
DLL3	AMG757
EGFR	Erbix(商標)(セツキシマブ) VH:米国特許第 6,217,866 号の配列番号 11 VL:米国特許第 6,217,866 号の配列番号 13
EGFR	Vectibix(商標)(パニツムマブ) VH:米国特許第 6,235,883 号の配列番号 37 VL:米国特許第 6,235,883 号の配列番号 38
EGFR	ザルツムマブ VH:WO2018/140831A2 の配列番号 64 VL:WO2018/140831A2 の配列番号 69
EGFR	マパツムマブ
EGFR	マツズマブ

【 0 1 4 5 】

10

20

30

40

50

【表 6 - 4】

表 F 例示的な抗 TAA	
標的	抗体の名称及び/又は結合配列
EGFR	ニモツズマブ VH:WO2018/140831A2 の配列番号 51 VL:WO2018/140831A2 の配列番号 56
EGFR	ICR62
EGFR	mAb528
EGFR	CH806
EGFRv3	AMG596
EGFRv3	AMG404
EGFR/CD64	MDX-447
EpCAM	Panorex(商標)(エドレコロマブ) VH:WO2018/140831A2 の配列番号 129 VL:WO2018/140831A2 の配列番号 134
EpCAM	アデカツムマブ VH:WO2018/140831A2 の配列番号 142 VL:WO2018/140831A2 の配列番号 147
EpCAM	ツコツズマブセルモロイキン
EpCAM	シタツズマブボガトクス
EpCAM	EP1629013B1 VH:配列番号 80、84、88、92、又は 96 VL:配列番号 82、86、90、94、又は 98
EpCAM	G8.8 HC: 米国特許公開第 2020/0317806A1 号の配列番号 4 HL: 米国特許公開第 2020/0317806A1 号の配列番号 3
EpCAM	VH:WO2021/211510A2 の配列番号 17~22。 VL:WO2021/211510A2 の配列番号 15~16。
EpCAM	Removab(商標)(カツマキシマブ)
EpCAM	Vicineum(商標)(オボルツズマブモナトクス)
EpCAM	M701
RSV の F タンパク質	Synagic(商標)(パリビズマブ)
GD2	3F8
糖タンパク質受容体 IIb/IIIa	ReoPro(商標)(アビシキシマブ)
gpA33	MGD007
GPC3	ERY974
GUCY2C	PF-07062119
Her2	Herceptin(商標)(トラスツズマブ)
Her2	アルデスロイキン(プロリユーカイン)
Her2	サルグラムスチム(リユーカイン)
Her2	M802
Her2	ルニモタマブ(BTRC4017A、R07227780)
Her2	ISB1302

【 0 1 4 6 】

10

20

30

40

50

【表 6 - 5】

表 F 例示的な抗 TAA	
標的	抗体の名称及び/又は結合配列
Her2-neu	Perjeta(商標)(ペルツズマブ) VH:WO2013/096812A1 の配列番号 16。 VL:WO2013/096812A1 の配列番号 15。
Her2-neu	Rexomun(商標)(エルツマキシマブ)
IgE	Xolair(商標)(オマリズマブ)
IGFIR	(フィギツムマブ)
IL1β	Ilaris(商標)(カナキシマブ) VH:米国特許第 7,446,175 号の配列番号 1。 VL:米国特許第 7,446,175 号の配列番号 2
IL12/IL23	Stelara(商標)(ウスデキシマブ)
IL1Ra	Antril(商標)、Kineret(商標)(アンキンラ)
IL2R	Simulect(商標)(バンリキシマブ) VH:米国特許第 6,383,487 号の配列番号 3 VL:米国特許第 6,383,487 号の配列番号 6
IL6	クラザキシマブ
IL6 受容体	Actemra(商標)(トシリズマブ) VH:米国特許第 7,479,543 号の配列番号 31 VL:米国特許第 7,479,543 号の配列番号 29
IL12/IL23 p40 サブユニット	Stelara(商標)(ウスデキシマブ) VH:米国特許第 6,902,734 号の配列番号 7 VL:米国特許第 6,902,734 号の配列番号 8
Integrinα4	Tysabri(商標)(ナタリズマブ) VH:米国特許第 5,840,299 号の配列番号 11~13 VL:米国特許第 5,840,299 号の配列番号 7~8
Integrinα4 β7	Entyvio(商標)(ベドリズマブ) HC: 米国特許公開第 2012/0282249 号の配列番号 2 LC: 米国特許公開第 2012/0282249 号の配列番号 4。
メソセリン	アマツキシマブ
メソセリン	HPN536
MUC1	シバツズマブテトラキセタン()
MUC1	Pankomab(商標)(ガチボツズマブ)
MUC1	フェムツムマブ
MUC1	カンツズマブラブタンシン
MUC16(CA125)	US2018/0118848A1 からの以下の配列番号の対のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を有する VH 配列及び VL 配列を有する抗 MUC16 抗体:18/26、82/858、98/170
MUC17	AMG199
NGF	(タネズマブ)
ホスファチジルセリン	(パビツキシマブ)

10

20

30

40

【 0 1 4 7 】

【表 6 - 6】

表 F 例示的な抗 TAA	
標的	抗体の名称及び/又は結合配列
PSCA	GEM3PSCA
PSMA	huJ591
PSMA	WO2017/023761A1 からの以下の配列番号の対のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を有する VH 配列及び VL 配列を有する抗 PSMA 抗体:2/1642、10/1642、18/1642、26/1642、34/1642、42/1642、50/1642、58/1642、66/1642、74/1642、82/1642、90/1642、98/1642、106/1642、114/1642、122/130、及び 138/146。
PSMA	以下などの抗体:WO2003/034903A2 に記載される PSMA3.7、PSMA3.8、PSMA3.9、PSMA3.11、PSMA5.4、PSMA7.1、PSMA7.3、PSMA10.3、PSMA1.8.3、PSMA A3.1.3、PSMA A3.3.1、Abgenix4.248.2、Abgenix4.360.3、Abgenix4.7.1、Abgenix4.4.1、Abgenix4.177.3、Abgenix4.16.1、Abgenix4.22.3、Abgenix4.28.3、Abgenix4.40.2、Abgenix4.48.3、Abgenix4.49.1、Abgenix4.209.3、Abgemx4.219.3、Abgenix4.288.1、Abgenix4.333.1、Abgemx4.54.1、Abgenix4.153.1、Abgenix4.232.3、Abgenix4.292.3、Abgenix4.304.1、Abgenix4.78.1、及び Abgenix4.152.1 以下などのハイブリドーマ細胞株:WO2003/034903A2 に記載される PSMA3.7(PTA-3257)、PSMA3.8、PSMA3.9(PTA-3258)、PSMA3.11(PTA-3269)、PSMA5.4(PTA-3268)、PSMA7.1(PTA-3292)、PSMA7.3(PTA-3293)、PSMA10.3(PTA-3247)、PSMA1.8.3(PTA-3906)、PSMA A3.1.3(PTA-3904)、PSMA A3.3.1(PTA-3905)、Abgenix4.248.2(PTA-4427)、Abgenix4.360.3(PTA-4428)、Abgenix4.7.1(PTA-4429)、Abgenix4.4.1(PTA-4556)、Abgenix4.177.3(PTA-4557)、Abgenix4.16.1(PTA-4357)、Abgenix4.22.3(PTA-4358)、Abgenix4.28.3(PTA-4359)、Abgenix4.40.2(PTA-4360)、Abgenix4.48.3(PTA-4361)、Abgenix4.49.1(PTA-4362)、Abgenix4.209.3(PTA-4365)、Abgenix4.219.3(PTA-4366)、Abgenix4.288.1(PTA-4367)、Abgenix4.333.1(PTA-4368)、Abgenix4.54.1(PTA-4363)、Abgenix4.153.1(PTA-4388)、Abgenix4.232.3(PTA-4389)、Abgenix4.292.3(PTA-4390)、Abgenix4.304.1(PTA-4391)、Abgenix4.78.1(PTA-4652)、及び Abgemx4.152.1(PTA-4653)。 WO2003/034903A2 に記載される配列番号 2~7 の VH WO2003/034903A2 に記載される配列番号 8~13 の VL

10

20

30

40

【 0 1 4 8 】

【表 6 - 7】

表 F 例示的な抗 TAA	
標的	抗体の名称及び/又は結合配列
PMSA	VH:WO2011/121110A1 に記載される配列番号 225、239、253、267、281、295、309、323、337、351、365、379、393、407、421、435、449、463、477、491、505、519、533、547、561、575、589、603、又は 617。 VL WO2011/121110A1 に記載される配列番号 230、244、258、272、286、300、314、328、342、356、370、384、398、412、426、440、454、468、482、496、510、524、538、552、566、580、594、608、又は 622。 VH 及び VLWO2011/121110A1 に記載される配列番号 235、249、263、277、291、305、319、333、347、361、375、389、403、417、431、445、459、473、487、501、515、529、543、557、571、585、599、613、又は 627。
PMSA	US2022/0119525A1 の配列番号 229~312 のうちのいずれか 1 つの VL アミノ酸配列、及び US2022/0119525A1 の配列番号 217 の VH を有する抗 PMSA 抗体。
PMSA	ES414
PMSA	BAY2010112(バソツキシズマブ)
PMSA	CCW702
PMSA	JNJ-63898081
PMSA	CC-1
PMSA	アカパタマブ
PSMA	HPN424
RAAG12	RAV12
RANKL	Prolia(商標)(デノスマブ) VH:米国特許公開第 2017/0002060 号の配列番号 51 VL:米国特許公開第 2017/0002060 号の配列番号 52
SLAMF7	Empliciti(商標)(エロツズマブ)
SSTR2	XmAb(登録商標)18087

【 0 1 4 9 】

10

20

30

40

50

【表 6 - 8】

表 F 例示的な抗 TAA	
標的	抗体の名称及び/又は結合配列
STEAP1	VHCDR1 US2021/0179731A1 に記載される配列番号 14、33、182、184、又は 185。 VHCDR2 US2021/0179731A1 に記載される配列番号 15、21、34、182、184、又は 185。 VHCDR3 US2021/0179731A1 に記載される配列番号 16 及び 35。 VH US2021/0179731A1 に記載される配列番号 182 又は 184。 VLCDR1 US2021/0179731A1 に記載される配列番号 11 又は 30。 VLCDR2 US2021/0179731A1 に記載される配列番号 12 又は 31。 VLCDR3 US2021/0179731A1 に記載される配列番号 13 又は 32。 VL US2021/0179731A1 に記載される配列番号 183 又は 186。
STEAP1	AMG509

10

20

【 0 1 5 0 】

30

40

50

【表 6 - 9】

表 F 例示的な抗 TAA	
標的	抗体の名称及び又は結合配列
STEAP2	米国特許第 10,772,972B2 号の配列番号(1)4-6-8-12-14-16、(2)20-22-24-28-30-32、(3)36-38-40-44-46-48、(4)52-54-56-60-62-64、(5)68-70-72-60-62-64、(6)76-78-80-60-62-64、(7)84-86-88-60-62-64、(8)92-94-96-60-62-64、(9)100-102-104-60-62-64、(10)108-110-112-116-118-120、(11)124-126-128-132-134-136、(12)140-142-144-148-150-152、(13)156-158-160-164-166-168、(14)172-174-176-180-182-184、(15)188-190-192-196-198-200、(16)204-206-208-212-214-216、(17)220-222-224-228-230-232、(18)236-238-240-244-246-248、(19)252-254-256-260-262-264、(20)268-270-272-276-278-280、(21)284-286-288-292-294-296、(22)300-302-304-308-310-312、(23)316-318-320-324-326-328、(24)332-334-336-340-342-344、(25)348-350-352-356-358-360、(26)364-366-368-372-374-376、及び(27)380-382-384-388-390-392 から選択される CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、及び CDR-L3 配列を有する抗 STEAP2 抗体。 (a)米国特許第 10,772,972B2 号の配列番号 2、18、34、50、66、74、82、90、98、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330、346、362、及び 378 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸を含む VH と、(b)米国特許第 10,772,972B2 号の配列番号 10、26、42、58、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322、338、354、370、及び 386 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む VL と、を有する抗 STEAP2 抗体。 米国特許第 10,772,972B2 号の配列番号の以下の対のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む VH/VL 対を有する抗 STEAP2 抗体:2/10、18/26、34/42、50/58、66/58、74/58、82/58、90/58、98/58、106/114、122/130、138/146、154/162、170/178、186/194、202/210、218/226、234/242、250/258、266/274、282/290、298/306、314/322、330/338、346/354、362/370、及び 378/386。
TGFβ	GC1008
TNFR	Enbrel(商標)(エタネルセプト)
TNFα	Remicade(商標)(インフリキシマブ) VH:国際特許公開第 201/3087911A1 号の配列番号 2 VH:国際特許公開第 2013/A1087911 号の配列番号 3
TNFα	Humira(商標)(アダリムマブ) VH:米国特許第 6,258,562 号の配列番号 4 VL:米国特許第 6,258,562 号の配列番号 3

10

20

30

40

【 0 1 5 1 】

【表 6 - 1 0】

表 F 例示的な抗 TAA	
標的	抗体の名称及び/又は結合配列
TNF α	Cimzia(商標)(セルトリズマブペゴル) VH:米国特許第 7,012,135 号の配列番号 14 VL:米国特許第 7,012,135 号の配列番号 9
TNF α	Simponi(商標)(ゴリムマブ) VH:米国特許第 7,250,165 号の配列番号 7 VL:米国特許第 7,250,165 号の配列番号 8
VEGF	Avastin(商標)(ベバシズマブ) VH:米国特許第 7,060,269 号の配列番号 9 VL:米国特許第 7,060,269 号の配列番号 10
VEGF	Lucentis(商標)(ラニビズマブ) VH:米国特許第 9,914,770 号の配列番号 4 VL:米国特許第 9,914,770 号の配列番号 2

10

【0152】

20

いくつかの態様では、TAA ABSは、TAAへの結合について表Fに記載される抗体と競合する。更なる態様では、TAA ABSは、表Fに記載される抗TAA抗体のCDR配列を有するCDRを含む。いくつかの実施形態では、TAA ABSは、表Fに記載される抗TAA抗体の6つの全てのCDR配列を含む。他の実施形態では、TAA ABSは、少なくとも重鎖CDR配列(CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、及びユニバーサル軽鎖の軽鎖CDR配列を含む。更なる態様では、TAA ABSは、表Fに記載される抗TAA抗体のVHのアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、TAA ABSは、表Fに記載される抗TAA抗体のVLのアミノ酸配列を含むVLを更に含む。他の実施形態では、TAA ABSは、ユニバーサル軽鎖VL配列を更に含む。

30

【0153】

MBMプロタンパク質によって標的化することができる追加のTAAは、以下の表K及び例えば、Hafeez et al., 2020, Molecules 25:4764, doi:10.3390/molecules25204764、特に表1に開示される。Hafeez et al.の表1は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0154】

なお追加の例示的なTAAとしては、線維芽細胞活性化タンパク質(FAP)、テネイシン-CのA1ドメイン(TNC A1)、テネイシン-CのA2ドメイン(TNC A2)、フィブロネクチンのエクストラドメインB(EDB)、黒色腫関連コンドロイチン硫酸プロテオグリカン(MCSP)、MART-1/メラニン-A、gp100、ジペプチジルペプチダーゼIV(DPP IV)、アデノシンデアミナーゼ結合タンパク質(ADAbp)、シクロフィリンb、結腸直腸関連抗原(CRC)-C017-1A/GA733、がん胎児性抗原(CEA)並びにその免疫原性エピトープCAP-1及びCAP-2、etv6、aml1、前立腺特異的抗原(PSA)並びにその免疫原性エピトープPSA-1、PSA-2、及びPSA-3、前立腺特異的膜抗原(PSMA)、T細胞受容体/CD3-ゼータ鎖、MAGE-腫瘍抗原ファミリー(例えば、MAGE-A1、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A5、MAGE-A6、MAGE-A7、MAGE-A8、MAGE-A9、MAGE-A10、MAGE-A11、MAGE-A12、MAGE-Xp2(MAGE-B2)、MAGE-Xp3(MAGE-B

40

50

3)、MAGE-Xp4(MAGE-B4)、MAGE-C1、MAGE-C2、MAGE-C3、MAGE-C4、MAGE-C5)、GAGE-腫瘍抗原ファミリー(例えば、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7、GAGE-8、GAGE-9)、BAGE、RAGE、LAGE-1、NAG、GnT-V、MUM-1、CDK4、チロシナーゼ、p53、MUCファミリー、HER2/neu、p21ras、RCAS1、 α -フェトプロテイン、E-カドヘリン、 α -カテニン、 β -カテニン、及び γ -カテニン、p120ctn、gp100、Pmel117、PRAME、NY-ESO-1、cdc27、大腸腺腫症タンパク質(APC)、フォドリン、コネキシン37、Ig-イディオタイプ、p15、gp75、GM2、及びGD2ガングリオシド、ヒトパピローマウイルススタンパク質などのウイルス産物、腫瘍抗原のSmadファミリー、Imp-1、P1A、EBVコード核抗原(EBNA)-1、脳グリコーゲンホスホリラーゼ、SSX-1、SSX-2(HOM-MEL-40)、SSX-1、SSX-4、SSX-5、SCP-1、及びCT-7、c-erbB-2、Her2、EGFR、IGF-1R、CD2(T細胞表面抗原)、CD3(TCRに関連するヘテロ多量体)、CD22(B細胞受容体)、CD23(低親和性IgE受容体)、CD30(サイトカイン受容体)、CD33(骨髄細胞表面抗原)、CD40(腫瘍壊死因子受容体)、IL-6R(IL6受容体)、CD20、MCSP、PDGF β R(β -血小板由来成長因子受容体)、ErbB2上皮細胞接着分子(EpCAM)、EGFRバリエーションII(EGFRvII)、CD19、ジシアロガングリオシドGD2、管上皮ムチン、gp36、TAG-72、神経膠腫関連抗原、 β -ヒト絨毛性ゴナドトロピン、アルファフェトプロテイン(AFP)、レクチン反応性AFP、サイログロブリン、MN-CAIX、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、RU1、RU2(AS)、腸内カルボキシルエステラーゼ、mut hsp70-2、M-CSF、プロスターゼ(prostate)、プロスターゼ特異的抗原(PSA)、PAP、LAGA-1a、p53、プロステイン(prostein)、PSMA、生存及びテロメラーゼ、前立腺がん腫瘍抗原-1(PCTA-1)、ELF2M、好中球エラスターゼ、エフリンB2、インスリン成長因子(IGF1)-I、IGF-II、IGFI受容体、5T4、ROR1、Nkp30、NKG2D、腫瘍間質抗原、フィブロネクチンのエクストラドメインA(EDA)及びエクストラドメインB(EDB)、及びテネイシン-CのA1ドメイン(TnCA1)が挙げられる。

10

20

30

【0155】

6.7. TCE ABS

本開示のMBMプロタンパク質は、本明細書において「TCE ABS」と称される、T細胞受容体複合体成分に特異的に結合する少なくともT細胞系合ABSを含む。TCE ABSに対する例示的な標的は、CD3及びT細胞受容体(例えば、TCR $\alpha\beta$ 又はTCR $\gamma\delta$)である。好ましくは、TCE ABS標的は、ヒトT細胞受容体複合体成分である。TCE ABSのエピトープは、個々のポリペプチド(例えば、CD3イプシロン)又はT細胞受容体複合体の多量体成分(例えば、TCR $\alpha\beta$ 二量体若しくはTCR $\gamma\delta$ 二量体)であり得る。

40

【0156】

TAA ABSがベースであることができる例示的なCD3及びTCR抗体又は抗体配列は、以下の表Gに記載される。

【0157】

50

【表 7 - 1】

表 G 例示的な T 細胞係合抗体	
標的	抗体の名称及び/又は結合配列
CD3	カツマキシマブ
CD3	(エルツマキシマブ)
CD3	WO2011/121110A1 に記載される抗 PSMA/抗 CD3 抗体の CD3 部分
CD3	US10266593B2 における抗 CD3 抗体配列
CD3	US8846042B2 における抗 CD3 抗体配列
CD3	抗 CD3 抗体配列 US2016/0355600
CD3	WO2014/110601 における抗 CD3 抗体配列
CD3	WO2014/145806 における抗 CD3 抗体配列
CD3	US10,066,015 における抗 CD3 抗体配列
CD3	WO2019/034580 における抗 CD3 抗体配列
CD3	WO2014/056783 における抗 CD3 抗体配列
CD3	WO2013/055809A1 における抗 CD3 抗体配列
CD3	US10,066,016 における抗 CD3 抗体配列
CD3	US2010/0150918 における抗 CD3 抗体配列
CD3	MT110
CD3	アカパタマブ(AMG160)
CD3	AMG199
CD3	AMG330
CD3	AMG427
CD3	AMG562
CD3	AMG596
CD3	AMG673
CD3	AMG701
CD3	タルラタマブ(AMG757)
CD3	AMG910
CD3	BAY2010112
CD3	AMG420
CD3	AMG424
CD3	AMG509
CD3	AMV564
CD3	APVO436
CD3	アルヌクタマブ(CC-93269)
CD3	ERY974
CD3	A-319
CD3	GEM333

10

20

30

40

【 0 1 5 8 】

【表 7 - 2】

表 G 例示的な T 細胞係合抗体	
標的	抗体の名称及び/又は結合配列
CD3	GEM3PSCA
CD3	セボスタマブ
CD3	ルニモタマブ
CD3	GEN1044
CD3	エプコリタマブ
CD3	HPN424
CD3	ISB1302
CD3	ISB1342
CD3	IGM-2323
CD3	IMC-F106C
CD3	IMC-C103C
CD3	IMCnyeso
CD3	JNJ-63709178
CD3	JNJ-63898081
CD3	テクリスタマブ
CD3	タルケタマブ
CD3	JNJ-67571244
CD3	MGD007
CD3	オルロタマブ
CD3	デュボルツキシズマブ
CD3	フロテツズマブ
CD3	MCLA-117
CD3	PF-06671008
CD3	エルラナタマブ
CD3	オドロネクスタマブ
CD3	REGN5458
CD3	REGN5459
CD3	REGN4018
CD3	グロフィタマブ
CD3	RO6958688
CD3	SAR440234
CD3	TNB-383B
CD3	M802
CD3	Xmab13676
CD3	Xmab18087

10

20

30

40

【 0 1 5 9】

50

【表 7 - 3】

表 G 例示的な T 細胞係合抗体	
標的	抗体の名称及び/又は結合配列
CD3	ビベコタマブ
CD3	ニバトロタマブ
CD3	US2019/0211100 における抗 CD3 抗体配列
CD3	EP1629011B における抗 CD3 抗体配列
CD3	US2021/0206865A1 に開示される配列番号 90 及び 98 の VH US2021/0206865A1 に開示される配列番号 92 及び 100 の CDR-H1 US2021/0206865A1 に開示される配列番号 94 及び 102 の CDR-H2 US2021/0206865A1 に開示される配列番号 96 及び 104 の CDR-H3 US2021/0206865A1 に開示される配列番号 127 又は配列番号 128 の HC US2021/0206865A1 に開示される配列番号 129 又は配列番号 132 の LC
CD3	US2021/0206870A1 に開示される配列番号 2 の抗 CD3 重鎖 抗 CD3 VH US2021/0206870A1 に開示される配列番号 5 US2021/0206870A1 に開示される配列番号 6 の抗 CD3 VL US2021/0206870A1 に開示される配列番号 10 の抗 CD3 CDR-H1 US2021/0206870A1 に開示される配列番号 11 の抗 CD3 CDR-H2 US2021/0206870A1 に開示される配列番号 12 の抗 CD3 CDR-H3
CD3	US2022/0119525A1 に開示される配列番号 92、102、112、122、132、142、156、 166、176、186、196、又は 206 の抗 CD3 VH US2022/0119525A1 に開示される配列番号 93、103、113、123、133、143、157、 167、177、187、197、又は 207 の抗 CD3 CDR-H1 US2022/0119525A1 に開示される配列番号 94、104、114、124、134、144、158、 168、178、188、198、又は 208 の抗 CD3 CDR-H2 US2022/0119525A1 に開示される配列番号 95、105、115、125、135、145、159、 169、179、189、199、又は 209 の抗 CD3 CDR-H3 US2022/0119525A1 に開示される配列番号 96、106、116、126、136、146、152、 162、172、182、192、又は 202 の抗 CD3 VL US2022/0119525A1 に開示される配列番号 97、107、117、127、137、147、153、 163、173、183、193、又は 203 の抗 CD3 CDR-L1 US2022/0119525A1 に開示される配列番号 98、108、118、128、138、148、154、 164、174、184、194、又は 204 の抗 CD3 CDR-L2 US2022/0119525A1 に開示される配列番号 99、109、119、129、139、149、155、 165、175、185、195、又は 205 の抗 CD3 CDR-L3
TCRaβ	US2012/0034221 に開示される BMA031 配列
TCRγδ	US5,980,892 に開示される 6TCS1 抗体

10

20

30

40

【0160】

いくつかの態様では、TCE ABS は、TCE 抗体の標的（例えば、CD3 又は T 細胞受容体）への結合について表 G に記載される T 細胞係合（TCE）抗体と競合する。更なる態様では、TCE ABS は、表 G に記載される TCE 抗体の CDR 配列を有する CDR を含む。いくつかの実施形態では、TCE ABS は、表 G に記載される TCE 抗体の 6 つの全ての CDR 配列を含む。他の実施形態では、TCE ABS は、少なくとも重鎖 CDR 配列（CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3）、及びユニバーサル軽鎖の軽鎖 CDR 配列を含む。更なる態様では、TCE ABS は、表 G に記載される TCE 抗体の VH のアミノ酸配列を含む VH を含む。いくつかの実施形態では、TCE ABS は

50

、表 G に記載される T C E 抗体の V L のアミノ酸配列を含む V L を更に含む。他の実施形態では、T C E A B S は、ユニバーサル軽鎖 V L 配列を更に含む。

【0161】

6. 8. 抗 T C E A B S

ある特定の実施形態では、本開示の M B M プロタンパク質は、抗 T C E A B S を含む。抗 T C E A B S は、T C E - A B S に特異的に結合することができる抗イディオタイプ抗体の断片である。例えば、s c F v、F a b、V H H、及び V H を含む様々なタイプの抗体断片は、本開示の抗 T C E A B S の文脈において使用され得る。いくつかの実施形態では、抗 T C E A B S は、抗イディオタイプ抗体の s c F v である。いくつかの実施形態では、抗 T C E A B S は、抗イディオタイプ抗体に由来する V H H である。いくつかの実施形態では、抗 T C E A B S は、抗イディオタイプ抗体に由来する V H である。

10

【0162】

抗 T C E A B S は、標的に対して十分な親和性を示す単一の V H 又は V L ドメインから構成される単一のドメイン抗体に由来することができる。具体的な実施形態では、単一のドメイン抗体は、ラクダ科 V H H ドメインである（例えば、R i e c h m a n n, 1999, J o u r n a l o f I m m u n o l o g i c a l M e t h o d s 231: 25-38、W O 94/04678 を参照されたい）。

【0163】

抗イディオタイプ抗体は、別の抗体分子の抗原組み合わせ領域又は可変領域（イディオタイプ又は I d と呼ばれる）に対して指向される抗体である。原理的には、所与の抗原に対するパラトープ（抗原組み合わせ部位）を発現する抗体分子による免疫化は、抗抗体の群を産生するはずであり、そのうちのいくつかは、パラトープに対する相補的構造を抗原と共有する。

20

【0164】

抗イディオタイプ抗体を産生する例示的な方法の米国特許第 10, 150, 817 B 2 号、及び W O 2017/162587 A 1 の実施例 1 における。

本開示の抗 T C E A B S として使用することができる例示的な抗 C D 3 抗イディオタイプ A B S は、C H 2527 として表記される抗 C D 3 A B S の抗イディオタイプである、4.15.64 及び 4.32.63 として表記される s c F v である。4.15.64、4.32.63、及び C H 2527 の配列は、W O 2017/162587 A 1 に開示される。

30

【0165】

6. 9. A B S フォーマット

ある特定の態様では、本開示の M B M プロタンパク質中の A B S は、抗原決定基への特異的結合を保持する任意のタイプの抗体又はその断片であり得る。一実施形態では、A B S は、免疫グロブリン分子又はその断片、特に I g G クラスの免疫グロブリン分子、より具体的には、I g G₁ 又は I g G₄ の免疫グロブリン分子である。抗体断片としては、V H（又は V_H）断片、V L（又は V_L）断片、F a b 断片、F（a b'）₂ 断片、s c F v 断片、F v 断片、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、及びテトラボディが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0166】

6. 9. 1. F a b

F a b ドメインは、伝統的に、パパインなどの酵素を使用した免疫グロブリン分子のタンパク質分解切断によって産生された。F a b ドメインは、任意の好適な種からの定常ドメイン配列及び可変領域配列を含むことができ、したがって、マウス、キメラ、ヒト、又はヒト化されたものであってよい。

【0167】

F a b ドメインは、典型的には、V H ドメインに付着した C H 1 ドメインを含み、これは、V L ドメインに付着した C L ドメインと対合する。野生型免疫グロブリンにおいて、V H ドメインは、V L ドメインと対合して F v 領域を構成し、C H 1 ドメインは、C L ド

50

メインと対合して結合部位を更に安定化する。2つの定常ドメイン間のジスルフィド結合は、F a bドメインを更に安定化することができる。

【0168】

本開示のMBMプロタンパク質について、特にABSの軽鎖が共通又はユニバーサル軽鎖ではない場合、同じABSに属するF a bドメインの正しい会合を可能にし、異なるABSに属するF a bドメインの異常な対合を最小限にするために、F a bヘテロ二量体化戦略を使用することが有利である。例えば、以下の表Hに示されるF a bヘテロ二量体化戦略を使用することができる。

【0169】

【表8】

表 H Fab ヘテロ二量体化戦略					
戦略	VH	CH1	VL	CL	参考文献
CrossMabCH1-CL	WT	CL ドメイン	WT	CH1 ドメイン	Schaefer <i>et al.</i> ,2011,Cancer Cell 2011;20:472-86;PMID:22014573.
直交性 Fab VHVRD1CH1CRD2-VLVRD1Cλ CRD2	39K、62E	H172A、F174G	1R、38D、(36F)	L135Y、S176W	Lewis <i>et al.</i> ,2014,Nat Biotechnol 32:191-8
直交性 Fab VHVRD2CH1wt-VLVRD2Cλ wt	39Y	WT	38R	WT	Lewis <i>et al.</i> ,2014,Nat Biotechnol 32:191-8
TCR CαCβ	39K	TCR Cα	38D	TCR Cβ	Wu <i>et al.</i> ,2015,MAbs 7:364-76
CR3	WT	T192E	WT	N137K、S114A	Golay <i>et al.</i> ,2016,J Immunol 196:3199-211.
MUT4	WT	L143Q、S188V	WT	V133T、S176V	Golay <i>et al.</i> ,2016,J Immunol 196:3199-211.
DuetMab	WT	F126C	WT	S121C	Mazor <i>et al.</i> ,2015,MAbs 7:377-89、Mazor <i>et al.</i> ,2015,MAbs 7:461-669.
ドメイン交換	WT	CH3+ノブ又はホール変異	WT	CH3+ホール又はノブ変異	Wozniak-Knopp <i>et al.</i> ,2018,PLoS ONE13(4):e0195442

【0170】

したがって、ある特定の実施形態では、F a bの2つのポリペプチド間の正しい会合は、例えば、WO2009/080251に記載されるように、F a bのVLドメイン及びVHドメインを互いに交換するか、又はCH1ドメイン及びCLドメインを互いに交換することによって促進される。

【0171】

10

20

30

40

50

正しいFab対合はまた、FabのCH1ドメインに1つ以上のアミノ酸改変及びCLドメインに1つ以上のアミノ酸改変を導入することによって、並びに／又はVHドメインに1つ以上のアミノ酸改変及びVLドメインに1つ以上のアミノ酸改変を導入することによって促進することができる。改変されるアミノ酸は、典型的には、VH:VL及びCH1:CL界面の一部であり、Fab構成要素が、他のFabの成分よりもむしろ互いと優先的に対合するようになっている。

【0172】

一実施形態では、1つ以上のアミノ酸改変は、残基のKabat番号付けによって示されるように、可変(VH、VL)及び定常(CH1、CL)ドメインの保存されたフレームワーク残基に限定される。Almagro, 2008, *Frontiers In Bioscience* 13:1619-1633は、Kabat、Chothia、及びIMGTの番号付けスキームに基づくフレームワーク残基の定義を提供する。

10

【0173】

一実施形態では、VH及びCH1並びに／又はVL及びCLドメインにおいて導入される改変は、互いに相補的である。重鎖及び軽鎖界面における相補性は、立体接触及び疎水性接触、静電／電荷相互作用、又は様々な相互作用の組み合わせに基づいて達成され得る。タンパク質表面間の相補性は、ロック及びキー適合(lock and key fit)、ノブ・イントゥ・ホール(knob into hole)、突起及び空洞(protrusion and cavity)、ドナー及びアクセプターなどの観点から、文献において広く記載されており、これらは全て、2つの相互作用する表面間の構造的及び化学的一致の性質を示唆している。

20

【0174】

一実施形態では、1つ以上の導入された改変は、Fab構成要素の界面にわたって新しい水素結合を導入する。一実施形態では、1つ以上の導入された改変は、Fab構成要素の界面にわたって新しい塩橋を導入する。例示的な置換は、WO2014/150973及びWO2014/082179に記載されており、その内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0175】

いくつかの実施形態では、Fabドメインは、CH1ドメインに192E置換、及びCLドメインに114A及び137K置換を含み、これにより、CH1ドメインとCLドメインとの間に塩橋が導入される(例えば、Golay et al., 2016, *J Immunol* 196:3199-211を参照されたい)。

30

【0176】

いくつかの実施形態では、Fabドメインは、CH1ドメイン内の143Q及び188V置換、並びにCLドメイン内の113T及び176V置換を含み、これは、CH1ドメインとCLドメインとの間の疎水性及び極性接触領域を交換するのに役立つ(例えば、Golay et al., 2016, *J Immunol* 196:3199-211を参照されたい)。

【0177】

いくつかの実施形態では、Fabドメインは、Fabドメインの正しいアセンブリを促進する直交性Fab界面を導入するための、VH、CH1、VL、CLドメインの一部又は全部における改変を含むことができる(Lewis et al., 2014 *Nature Biotechnology* 32:191-198)。実施形態では、39K、62Eの改変がVHドメインに導入され、H172A、F174Gの改変がCH1ドメインに導入され、1R、38D、(36F)の改変がVLドメインに導入され、L135Y、S176Wの改変がCLドメインに導入される。別の実施形態では、39Y改変がVHドメインに導入され、38R改変がVLドメインに導入される。

40

【0178】

Fabドメインはまた、天然のCH1:CLジスルフィド結合を、操作されたジスルフィド結合で置き換えるように改変することができ、それによって、Fab構成要素の対合

50

の効率を増加させる。例えば、操作されたジスルフィド結合は、CH1ドメインに126Cを導入し、CLドメインに121Cを導入することによって導入することができる（例えば、Mazor et al., 2015, Mabs 7:377-89を参照されたい）。

【0179】

Fabドメインは、CH1ドメイン及びCLドメインを、正しいアセンブリを促進する代替ドメインで置き換えることによっても改変され得る。例えば、Wu et al., 2015, Mabs 7:364-76では、CH1ドメインをT細胞受容体の定常ドメインで置換し、CLドメインをT細胞受容体のbドメインで置換し、これらのドメイン置き換えを、VLドメインに38D改変を導入し、VHドメインに39K改変を導入することによって、VLドメインとVHドメインとの間の追加の電荷-電荷相互作用と対合することについて記載している。

【0180】

正しいVH-VL対合を促進するためのFabヘテロ二量体化戦略の使用の代わりに、又はそれに加えて、共通の軽鎖（ユニバーサル軽鎖とも称される）のVLを、本開示のMBMプロタンパク質中の各特有のABSに使用することができる。様々な実施形態では、本明細書に記載される共通の軽鎖を用いることは、元の同族VLを用いることと比較して、MBMプロタンパク質中の不適切な種の数と低減する。様々な実施形態では、ABSのVLドメインは、共通の軽鎖を含む単一特異性抗体から特定される。様々な実施形態では、MBMプロタンパク質中のABSのVH領域は、限定されたヒト軽鎖レパートリー、又は単一のヒト軽鎖を発現するように事前に操作されているマウスB細胞内でインビボで再配置されるヒト重鎖可変遺伝子セグメントを含み、ヒト重鎖と同族であり、目的の抗原での曝露に応答して、2つの可能なヒトVLのうちの1つ又は1つと同族である複数のヒトVHを含む抗体レパートリーを生成し、この抗体レパートリーは、目的の抗原に特異的である。共通の軽鎖は、再構成されたヒトVk1-39Jk5配列又は再構成されたヒトVk3-20Jk1配列に由来するものであり、体細胞変異型（例えば、親和性成熟型）を含む。例えば、米国特許第10,412,940号を参照されたい。

【0181】

6.9.2. scFv

一本鎖Fv又は「scFv」抗体断片は、単一のポリペプチド鎖内の抗体のVH及びVLドメインを含み、一本鎖ポリペプチドとして発現することができ、それらが由来する無傷の抗体の特異性を保持する。一般に、scFvポリペプチドは、VHドメインとVLドメインとの間に、scFvが標的結合のために所望の構造を形成することを可能にするポリペプチドリンカーを更に含む。scFvのVH鎖及びVL鎖を接続するのに好適なリンカーの例は、セクション6.5で特定される非切断可能リンカーである。

【0182】

本明細書で使用される場合、指定されない限り、scFvは、例えば、ポリペプチドのN末端及びC末端に関して、いずれかの順序でVL可変領域及びVH可変領域を有してもよく、scFvは、VL-リンカー-VHを含んでもよく、又はVH-リンカー-VLを含んでもよい。

【0183】

scFvは、マウス、ヒト、又はヒト化のVH配列及びVL配列などの任意の好適な種からのVH配列及びVL配列を含むことができる。

scFvをコードする核酸を作成するために、VH及びVLをコードするDNA断片を、リンカーをコードする別の断片、例えば、セクション6.5に記載されるリンカー（典型的には、アミノ酸配列（Gly4~Ser）3（配列番号156）などのアミノ酸グリシン及びセリンを含む配列の反復）のうちのいずれかをコードする断片に作動可能に連結させ、その結果、VH配列及びVL配列を、柔軟なリンカーによって結合されたVL領域及びVH領域を有する連続した一本鎖タンパク質として発現させることができる（例えば、Bird et al., 1988, Science 242:423-426、Hu

10

20

30

40

50

ston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883、McCafferty et al., 1990, Nature 348:552-554を参照されたい)。

【0184】

6.10. Fc領域

本開示のMBMプロタンパク質は、典型的には、Fc領域を形成するために会合する一対のFcドメインを含む。天然抗体では、Fc領域は、定常ドメインを形成するために、それらのN末端にヒンジ領域を含む。本開示全体を通して、別段に指定されない限り、Fcドメインへの言及は、そのN末端にヒンジドメインを有するFcドメインを包含する。

【0185】

Fcドメインは、ABS又はその成分に作動可能に連結された任意の好適な種に由来することができる。一実施形態では、Fcドメインは、ヒトFcドメインに由来する。好ましい実施形態では、ABS又はその成分は、IgG Fc分子に融合される。ABS又はその成分は、IgG FcドメインのN末端若しくはC末端、又はその両方に融合され得る。

【0186】

Fcドメインは、IgA（サブクラスIgA1及びIgA2を含む）、IgD、IgE、IgG（サブクラスIgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4を含む）、並びにIgMを含む、任意の好適なクラスの抗体に由来することができる。一実施形態では、Fcドメインは、IgG1、IgG2、IgG3、又はIgG4に由来する。一実施形態では、Fcドメインは、IgG1に由来する。一実施形態では、Fcドメインは、IgG4に由来する。IgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4からのFcドメインの例示的な配列は、以下の表Yに提供される。

【0187】

10

20

30

40

50

【表 9】

表 Y Fc 配列		
Fc	配列	配列 番号
hIgG1 Fc (UniprotKB P01857-1 のア ミノ酸 99~330)	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	335
hIgG2 Fc (UniprotKB P01859-1 のア ミノ酸 99~326)	ERKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVV HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTTPMLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	336
hIgG3 Fc (UniprotKB P01860-1 のア ミノ酸 99~377)	ELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPE PKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVVSVLTV VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPM LDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNRFQKSLSL SPGK	337
hIgG4 Fc (UniprotKB P01861-1 のア ミノ酸 99~327)	ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSL GK	338

【0188】

いくつかの態様では、Fcドメインは、配列番号336に対して少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。Fcドメインが、配列番号336に対して少なくとも90%の配列同一性及び100%未満の配列同一性（例えば、配列番号336に対して90%～99%の配列同一性）を含む場合、Fcドメインはまた、本明細書に記載される1つ以上のアミノ酸置換、例えば、エフェクター機能を低減する1つ以上の置換（例えば、セクション6.10.1に記載されるように）、及び／又はFcヘテロ二量体化を促進する1つ以上の置換（例えば、セクション6.10.2に記載されるように）を含み得る。

【0189】

いくつかの態様では、Fcドメインは、配列番号337に対して少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。Fcドメインが、配列番号337に対して少なくとも90%の配列同一性及び100%未満の配列同一性（例えば、配列番号337に対して90%～99%の配列同一性）を含む場合、Fcドメインはまた、本明細書に記載される1つ以上のアミノ酸置換、例えば、エフェクタ

一機能を低減する1つ以上の置換（例えば、セクション6.10.1に記載されるように）、及び／又はFcヘテロ二量体化を促進する1つ以上の置換（例えば、セクション6.10.2に記載されるように）を含み得る。

【0190】

いくつかの態様では、Fcドメインは、配列番号338に対して少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。Fcドメインが、配列番号338に対して少なくとも90%の配列同一性及び100%未満の配列同一性（例えば、配列番号338に対して90%～99%の配列同一性）を含む場合、Fcドメインはまた、本明細書に記載される1つ以上のアミノ酸置換、例えば、エフェクター機能を低減させる1つ以上の置換（例えば、セクション6.10.1に記載されるように）、及び／又はFcヘテロ二量体化を促進する1つ以上の置換（例えば、セクション6.10.2に記載されるように）を含み得る。

10

【0191】

いくつかの態様では、Fcドメインは、配列番号339に対して少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。Fcドメインが、配列番号339に対して少なくとも90%の配列同一性及び100%未満の配列同一性（例えば、配列番号339に対して90%～99%の配列同一性）を含む場合、Fcドメインはまた、本明細書に記載される1つ以上のアミノ酸置換、例えば、エフェクター機能を低減する1つ以上の置換（例えば、セクション6.10.1に記載されるように）、及び／又はFcヘテロ二量体化を促進する1つ以上の置換（例えば、セクション6.10.2に記載されるように）を含み得る。

20

【0192】

Fc領域内の2つのFcドメインは、互いに同一又は異なってもよい。天然抗体では、Fcドメインは、典型的には同一であるが、多重特異性結合分子、例えば、本開示のMBMプロタンパク質及びその活性化によって産生されるMBMを産生する目的では、Fcドメインは、以下のセクション6.10.2に記載されるように、ヘテロ二量体化を可能にするために有利に異なってもよい。

30

【0193】

天然抗体では、IgA、IgD、及びIgGの重鎖Fcドメインは、2つの重鎖定常ドメイン（CH2及びCH3）から構成され、IgE及びIgMのドメインは、3つの重鎖定常ドメイン（CH2、CH3及びCH4）から構成される。これらは二量体化して、Fc領域を作成する。

【0194】

本開示のMBMプロタンパク質では、Fc領域、及び／又はその中のFcドメインは、1つ以上の異なるクラスの抗体、例えば、1つ、2つ、又は3つの異なるクラスからの重鎖定常ドメインを含むことができる。

40

【0195】

一実施形態では、Fc領域は、IgG1に由来するCH2及びCH3ドメインを含む。Fc領域のFcドメインの一方又は両方は、天然に存在するIgG1 CH3配列と比較して、1つ以上のアミノ酸の欠失を有し得る。いくつかの実施形態では、本開示のFcドメインは、天然に存在するIgG1と比較して、CH3ドメインのC末端又はその付近で1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、又はそれ以上のアミノ酸の欠失（例えば、切断）を有する。

【0196】

一実施形態では、Fc領域は、IgG2に由来するCH2及びCH3ドメインを含む。Fc領域のFcドメインの一方又は両方は、天然に存在するIgG2 CH3配列と比較

50

して、1つ以上のアミノ酸の欠失を有し得る。いくつかの実施形態では、本開示のFcドメインは、天然に存在するIgG2と比較して、CH3ドメインのC末端又はその付近で1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、又はそれ以上のアミノ酸の欠失（例えば、切断）を有する。

【0197】

一実施形態では、Fc領域は、IgG3に由来するCH2及びCH3ドメインを含む。Fc領域のFcドメインの一方又は両方は、天然に存在するIgG3 CH3配列と比較して、1つ以上のアミノ酸の欠失を有し得る。いくつかの実施形態では、本開示のFcドメインは、天然に存在するIgG3と比較して、CH3ドメインのC末端又はその付近で1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、又はそれ以上のアミノ酸の欠失（例えば、切断）を有する。

10

【0198】

一実施形態では、Fc領域は、IgG4に由来するCH2及びCH3ドメインを含む。Fc領域のFcドメインの一方又は両方は、天然に存在するIgG4 CH3配列と比較して、1つ以上のアミノ酸の欠失を有し得る。いくつかの実施形態では、本開示のFcドメインは、天然に存在するIgG4と比較して、CH3ドメインのC末端又はその付近で1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、又はそれ以上のアミノ酸の欠失（例えば、切断）を有する。

【0199】

一実施形態では、Fc領域は、IgM由来のCH4ドメインを含む。IgM CH4ドメインは、典型的には、CH3ドメインのC末端に位置する。

20

一実施形態では、Fc領域は、IgGに由来するCH2及びCH3ドメイン、並びにIgMに由来するCH4ドメインを含む。

【0200】

本開示のMBMプロタンパク質についてのFc領域の産生において使用するための重鎖定常ドメインは、上記の天然に存在する定常ドメインのバリエーションを含み得ることが理解されるであろう。そのようなバリエーションは、野生型定常ドメインと比較して、1つ以上のアミノ酸変異を含み得る。一例では、本開示のFc領域は、野生型定常ドメインとは配列が異なる少なくとも1つの定常ドメインを含む。バリエーション定常ドメインは、野生型定常ドメインよりも長くても短くてもよいことが理解されるであろう。好ましくは、バリエーション定常ドメインは、野生型定常ドメインに対して少なくとも60%同一又は類似である。別の例では、バリエーション定常ドメインは、少なくとも70%同一又は類似である。別の例では、バリエーション定常ドメインは、少なくとも80%同一又は類似である。別の例では、バリエーション定常ドメインは、少なくとも90%同一又は類似である。別の例では、バリエーション定常ドメインは、少なくとも95%同一又は類似である。

30

【0201】

本明細書において企図されるある特定のバリエーション定常ドメインとしては、野生型定常ドメインと比較して、C末端又はその付近（例えば、その10アミノ酸以内）で1つ以上のアミノ酸の欠失（例えば、切断）を有するものが挙げられる。いくつかの実施形態では、本開示の定常ドメインは、野生型定常ドメインと比較して、C末端又はその付近で1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10アミノ酸の欠失を含む。

40

【0202】

IgM及びIgAは、共通のH2L2抗体単位の共有結合性多量体としてヒトに天然に存在する。IgMは、J鎖が組み込まれている場合には五量体として存在し、J鎖を欠く場合には六量体として存在する。IgAは、モノマー及び二量体形態として存在する。IgM及びIgAの重鎖は、尾部として既知のC末端定常ドメインへの18アミノ酸の延長部分を有する。尾部は、ポリマー内の重鎖間にジスルフィド結合を形成するシステイン残基を含み、重合において重要な役割を果たしていると考えられる。尾部はまた、グリコシル化部位を含む。ある特定の実施形態では、本開示のMBMプロタンパク質は、尾部を含まない。

50

【0203】

本開示のMBMプロタンパク質に組み込まれているFcドメインは、タンパク質の機能的特性を変化させる1つ以上の改変、例えば、FcRn若しくは白血球受容体などのFc受容体への結合、補体への結合、改変されたジスルフィド結合アーキテクチャ、又は変化したグリコシル化パターンを含んでもよい。エフェクター機能を変化させる例示的なFc改変は、セクション6.10.1に記載される。

【0204】

Fcドメインはまた、例えば、同一のFcドメインよりも非同一のFcドメインの優先的な対合であるヘテロ二量体化を可能にすることによって、非対称のMBMプロタンパク質の製造可能性を改善する改変を含むように変化させることもできる。ヘテロ二量体化は、配列が異なるFcドメインを含むFc領域によって異なるポリペプチド成分が互いに接続しているMBMプロタンパク質の産生を可能にする。ヘテロ二量体化戦略の例は、セクション6.10.2に例示される。

【0205】

上述の改変のうちのいずれかが、任意の好適な様式で組み合わせて所望の機能的特性を達成することができ、かつ／又は他の改変と組み合わせてMBMプロタンパク質の特性を変化させることができることが理解されるであろう。

【0206】

6.10.1. エフェクター機能が変化したFcドメイン

いくつかの実施形態では、Fcドメインは、Fc受容体及び／又はエフェクター機能への結合を低減する1つ以上のアミノ酸置換を含む。

【0207】

特定の実施形態では、Fc受容体は、Fcγ受容体である。一実施形態では、Fc受容体は、ヒトFc受容体である。一実施形態では、Fc受容体は、活性化Fc受容体である。具体的な実施形態では、Fc受容体は、活性化ヒトFcγ受容体、より具体的には、ヒトFcγRIIIa、FcγRI又はFcγRIIIa、最も具体的には、ヒトFcγRIIIaである。一実施形態では、エフェクター機能は、補体依存性細胞傷害(CDC)、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)、抗体依存性細胞食作用(ADCP)、及びサイトカイン分泌の群から選択される1つ以上である。特定の実施形態では、エフェクター機能は、ADCCである。

【0208】

一実施形態では、Fcドメイン又はFc領域(例えば、Fc領域を形成するために会合することができるMBMプロタンパク質の一方又は両方のFcドメイン)は、E233、L234、L235、N297、P331、及びP329(Kabat EUインデックスによる番号付け)の群から選択される位置にアミノ酸置換を含む。より具体的な実施形態では、Fcドメイン又はFc領域は、L234、L235及びP329(Kabat EUインデックスによる番号付け)の群から選択される位置にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、Fcドメイン又はFc領域は、アミノ酸置換L234A及びL235A(Kabat EUインデックスによる番号付け)を含む。そのような一実施形態では、Fcドメイン又は領域は、Igドメイン又は領域、特に、ヒトIgドメイン又は領域である。一実施形態では、Fcドメイン又はFc領域は、P329位にアミノ酸置換を含む。より具体的な実施形態では、アミノ酸置換は、P329A又はP329G、特にP329G(Kabat EUインデックスによる番号付け)である。一実施形態では、Fcドメイン又はFc領域は、P329位にアミノ酸置換、及びE233、L234、L235、N297及びP331(Kabat EUインデックスによる番号付け)から選択される位置に更なるアミノ酸置換を含む。より具体的な実施形態では、更なるアミノ酸置換は、E233P、L234A、L235A、L235E、N297A、N297D又はP331Sである。特定の実施形態では、Fcドメイン又はFc領域は、P329位、L234位、及びL235位にアミノ酸置換を含む(Kabat EUインデックスによる番号付け)。より特定の実施形態では、Fcドメインは、アミノ酸変異L

10

20

30

40

50

234A、L235A及びP329G（「P329G LALA」、「PGLALA」又は「LALAPG」）を含む。

【0209】

典型的には、同じ1つ以上のアミノ酸置換が、Fc領域の2つのFcドメインの各々に存在する。したがって、特定の実施形態では、Fc領域の各Fcドメインは、アミノ酸置換L234A、L235A、及びP329G（Kabata EUインデックス番号付け）を含み、すなわち、Fc領域の第1及び第2のFcドメインの各々において、234位のロイシン残基がアラニン残基で置き換えられ（L234A）、235位のロイシン残基がアラニン残基で置き換えられ（L235A）、329位のプロリン残基がグリシン残基で置き換えられる（P329G）（Kabata EUインデックスによる番号付け）。

10

【0210】

一実施形態では、Fcドメインは、IgG1 Fcドメイン、特にヒトIgG1 Fcドメインである。いくつかの実施形態では、IgG1 Fcドメインは、エフェクター機能を低減するためのD265A、N297A変異（EU番号付け）を含むバリエーションIgG1である。

【0211】

別の実施形態では、Fcドメインは、Fc受容体への結合が低減したIgG4 Fcドメインである。Fc受容体への結合が低減した例示的なIgG4 Fcドメインは、以下の表1から選択されるアミノ酸配列を含み得る。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、以下に示される配列の太字部分のみを含む：

20

【0212】

30

40

50

【表 10-1】

表 I	
Fc ドメイン	配列
配列番号 323(WO2014/121087 の配列番号 1)	Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
配列番号 324(WO2014/121087 の配列番号 2)	Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

10

20

30

40

50

【0213】

【表 10-2】

表 I	
Fe ドメイン	配列
配列番号 325(WO2014/121087 の配列番号 30)	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
	Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

10

20

【0214】

30

40

50

【表 10-3】

表 I	
Fc ドメイン	配列
配列番号 326(WO2014/121087 の配列番号 31)	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

【0215】

10

20

30

40

50

【表 10-4】

表 I	
Fc ドメイン	配列
配列番号 327(WO2014/121087 の配列番号 37)	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

【0216】

10

20

30

40

50

【表 10-5】

表 I	
Fc ドメイン	配列
配列番号 328(WO2014/121087 の配列番号 38)	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

10

20

【0217】

特定の実施形態では、低減されたエフェクター機能を有する IgG4 は、WO2014 / 121087 の配列番号 31 のアミノ酸配列の太字部分を含み、本明細書では IgG4 s 又は hIgG4 s と呼ばれることもある。

30

【0218】

ヘテロ二量体 Fc 領域について、上述のバリエーション IgG4 Fc 配列の組み合わせ、例えば、WO2014 / 121087 の配列番号 30 のアミノ酸配列（又はその太字部分）を含む Fc ドメイン及び WO2014 / 121087 の配列番号 37 のアミノ酸配列（又はその太字部分）を含む Fc ドメインを含む Fc 領域、又は WO2014 / 121087 の配列番号 31 のアミノ酸配列（又はその太字部分）を含む Fc ドメイン及び WO2014 / 121087 の配列番号 38 のアミノ酸配列（又はその太字部分）を含む Fc ドメインを含む Fc 領域、を組み込むことが可能である。

40

【0219】

6. 10. 2. Fc ヘテロ二量体化バリエーション

ある特定の MBM プロタンパク質は、天然免疫グロブリンとは異なり、非同一の N 末端領域に作動可能に連結されている 2 つの Fc ドメイン、例えば、一方の Fc ドメインは Fab に接続され、他方の Fc ドメインは ABS 又はその成分に接続されている）間の二量体化を伴う。Fc 領域を形成するための 2 つの Fc ドメインの不十分なヘテロ二量体化は、所望のヘテロ二量体分子の収量を増加させるための障害となる可能性があり、精製の課題となる。例えば、EP1870459A1、米国特許第 5, 582, 996 号、米国特許第 5, 731, 168 号、米国特許第 5, 910, 573 号、米国特許第 5, 932, 448 号、米国特許第 6, 833, 441 号、米国特許第 7, 183, 076 号、米国特

50

許出願公開第2006/204493A1号、及びPCT公開第WO2009/089004A1号に開示されているように、本開示のMBMプロタンパク質に存在し得るFcドメインの二量体化を増強するために当技術分野で利用可能な様々なアプローチを使用することができる。

【0220】

本開示は、Fcヘテロ二量体、すなわち、異種の、非同一のFcドメインを含むFc領域を含むMBMプロタンパク質を提供する。典型的には、Fcヘテロ二量体中の各Fcドメインは、抗体のCH3ドメインを含む。CH3ドメインは、前述のセクションに記載されるように、任意のアイソタイプ、クラス、又はサブクラス、好ましくはIgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4)クラスの抗体の定常領域に由来する。

10

【0221】

CH3ドメインにおける2つの異なる重鎖のヘテロ二量体化は、所望のMBMプロタンパク質を生じさせるが、同一の重鎖のホモ二量体化は、所望のMBMプロタンパク質の収量を低減させるであろう。したがって、好ましい実施形態では、本開示のMBMプロタンパク質を形成するために会合するポリペプチドは、非改変のFcドメインと比較してヘテロ二量体会合を有利にする改変を有するCH3ドメインを含むであろう。

【0222】

具体的な実施形態では、Fcヘテロ二量体の形成を促進する当該改変は、Fcドメインの一方に「ノブ」改変を含み、他方のFcドメインに「ホール」改変を含む、いわゆる「ノブ・イントゥ・ホール」又は「ノブ・イン・ホール」改変である。ノブ・イントゥ・ホール技術は、例えば、米国特許第5,731,168号、US7,695,936、Ridgway et al., 1996, Prot Eng 9:617-621、及びCarter, 2001, Immunol Meth 248:7-15に記載されている。一般に、この方法は、ヘテロ二量体形成を促進し、ホモ二量体形成を障害するために、第1のポリペプチドの界面に突起（「ノブ」）及び第2のポリペプチドの界面に対応する空洞（「ホール」）を導入して、突起を空洞内に配置できるようにすることを含む。突起は、第1のポリペプチドの界面からの小さいアミノ酸側鎖をより大きい側鎖（例えば、チロシン又はトリプトファン）で置き換えることによって構築される。突起と同じ又は類似のサイズの補償空洞は、大きいアミノ酸側鎖をより小さいアミノ酸側鎖（例えば、アラニン又はスレオニン）に置き換えることによって、第2のポリペプチドの界面に作製される。

20

30

【0223】

したがって、いくつかの実施形態では、Fcドメインの第1のサブユニットのCH3ドメイン内のアミノ酸残基は、より大きい側鎖体積を有するアミノ酸残基で置き換えられ、それによって、第2のサブユニットのCH3ドメイン内の空洞内に配置可能な第1のサブユニットのCH3ドメイン内に突起を生じさせ、Fcドメインの第2のサブユニットのCH3ドメイン内のアミノ酸残基は、より小さい側鎖体積を有するアミノ酸残基で置き換えられ、それによって、第2のサブユニットのCH3ドメイン内に空洞を生じさせ、その中に第1のサブユニットのCH3ドメイン内の突起が配置可能である。好ましくは、より大きい側鎖体積を有する当該アミノ酸残基は、アルギニン（R）、フェニルアラニン（F）、チロシン（Y）、及びトリプトファン（W）からなる群から選択される。好ましくは、より小さい側鎖体積を有する当該アミノ酸残基は、アラニン（A）、セリン（S）、スレオニン（T）、及びバリン（V）からなる群から選択される。突起及び空洞は、ポリペプチドをコードする核酸を変化させることによって、例えば、部位特異的変異誘発によって、又はペプチド合成によって作製することができる。例示的な置換は、Y470Tである。

40

【0224】

具体的なそのような実施形態では、第1のFcドメインでは、366位のスレオニン残基がトリプトファン残基で置き換えられ（T366W）、Fcドメインでは、407位のチロシン残基がバリン残基で置き換えられ（Y407V）、任意選択で、366位のスレ

50

オニン残基がセリン残基で置き換えられ（T 3 6 6 S）、3 6 8 位のロイシン残基がアラニン残基で置き換えられる（L 3 6 8 A）（K a b a t E U インデックスによる番号付け）。更なる実施形態では、第 1 の F c ドメインでは、追加的に、3 5 4 位のセリン残基がシステイン残基で置き換えられる（S 3 5 4 C）か、又は 3 5 6 位のグルタミン酸残基がシステイン残基で置き換えられる（E 3 5 6 C）（特に、3 5 4 位のセリン残基がシステイン残基で置き換えられる）。第 2 の F c ドメインでは、追加的に、3 4 9 位のチロシン残基がシステイン残基で置き換えられる（Y 3 4 9 C）（K a b a t E U インデックスによる番号付け）。特定の実施形態では、第 1 の F c ドメインはアミノ酸置換 S 3 5 4 C 及び T 3 6 6 W を含み、第 2 の F c ドメインはアミノ酸置換 Y 3 4 9 C、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A 及び Y 4 0 7 V（K a b a t E U インデックスによる番号付け）を含む。

10

【0 2 2 5】

いくつかの実施形態では、静電的ステアリング（electrostatic steering）（例えば、Gunasekaran et al., 2010, J Biol Chem 285 (25) : 19637-46 に記載）を使用して、F c 領域の第 1 及び第 2 の F c ドメインの会合を促進することができる。

【0 2 2 6】

ヘテロ二量体化を促進するように改変された F c ドメインの使用の代替として、又はそれに加えて、F c ドメインは、F c ヘテロ二量体の選択を可能にする精製戦略を可能にするように改変され得る。そのような一実施形態では、1 つのポリペプチドは、プロテイン A へのその結合を抑止する改変 F c ドメインを含み、したがって、ヘテロ二量体タンパク質をもたらす精製方法を可能にする。例えば、米国特許第 8, 586, 713 号を参照されたい。そのようなものであるから、MBM プロタンパク質は、第 1 の C H 3 ドメイン及び第 2 の I g C H 3 ドメインを含み、第 1 及び第 2 の I g C H 3 ドメインは、少なくとも 1 つのアミノ酸により互いに異なり、少なくとも 1 つのアミノ酸の差異は、アミノ酸の差異を欠く対応する MBM プロタンパク質と比較して、MBM プロタンパク質のプロテイン A への結合を低減させる。一実施形態では、第 1 の C H 3 ドメインはプロテイン A に結合し、第 2 の C H 3 ドメインは、プロテイン A 結合を減少又は消失させる変異／改変、例えば H 9 5 R 改変（I M G T エクソン番号付けによる、E U 番号付けでは H 4 3 5 R）を含む。第 2 の C H 3 は更に、Y 9 6 F 改変（I M G T による、E U によれば Y 4 3 6 F）を含んでいてもよい。このクラスの改変は、本明細書において「スター」変異と称される。

20

30

【0 2 2 7】

いくつかの実施形態では、F c は、ヘテロ二量体化を促進するための 1 つ以上の変異（例えば、ノブ及びホール変異）、並びに精製を促進するためのスター変異を含み得る。

6. 10. 3. ヒンジドメイン

本開示の MBM プロタンパク質は、その N 末端にヒンジドメインを含む F c ドメインを含むことができる。ヒンジ領域は、天然のヒンジ領域又は改変されたヒンジ領域であり得る。ヒンジ領域は、典型的には、F c 領域の N 末端に見出される。「ヒンジドメイン」という用語は、別段の文脈で指示されない限り、単一又はモノマーポリペプチド鎖の文脈においてモノマーヒンジドメインであり、二量体ポリペプチド（例えば、2 つの F c ドメインの会合によって形成されるホモ二量体又はヘテロ二量体 MBM プロタンパク質）の文脈において、別々のポリペプチド鎖上の 2 つの会合したヒンジ配列を含むことができる天然に存在する又は天然に存在しないヒンジ配列を指す。時には、2 つの会合したヒンジ配列は、「ヒンジレイオン（reion）」と称される。

40

【0 2 2 8】

天然のヒンジ領域は、通常、天然に存在する抗体における F a b ドメインと F c ドメインとの間に見出されるヒンジ領域である。改変されたヒンジ領域は、天然のヒンジ領域とは、長さ及び／又は組成が異なる任意のヒンジである。そのようなヒンジは、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、サメ、ブタ、ハムスター、ラクダ、ラマ、又はヤギのヒンジ領域などの他の種からのヒンジ領域を含むことができる。他の改変されたヒンジ領域は、重鎖 F

50

cドメイン又はFc領域のものとは異なるクラス又はサブクラスの抗体に由来する完全なヒンジ領域を含み得る。あるいは、改変されたヒンジ領域は、天然ヒンジの一部又は繰り返しユニットを含み得、繰り返しの各ユニットは、天然ヒンジ領域に由来する。更なる代替では、天然ヒンジ領域は、1つ以上のシステイン又は他の残基をセリン又はアラニンなどの中性残基に変換することによって、又は好適に配置された残基をシステイン残基に変換することによって変更され得る。そのような手段によって、ヒンジ領域内のシステイン残基の数を増加又は減少させることができる。他の改変されたヒンジ領域は、完全に合成であってもよく、長さ、システイン組成、及び柔軟性などの所望の特性を有するように設計されてもよい。

【0229】

いくつかの改変されたヒンジ領域は、例えば、米国特許第5,677,425号、WO 99/15549、WO 2005/003170、WO 2005/003169、WO 2005/003170、WO 98/25971、及びWO 2005/003171に既に記載されており、これらは参照により本明細書に組み込まれる。

【0230】

一実施形態では、本開示のMBMプロタンパク質は、一方又は両方のFcドメインがそのN末端に無傷のヒンジドメインを有するFc領域を含む。

様々な実施形態では、ヒンジ領域内の位置233~236は、G、G、G、及び空き；G、G、空き、及び空き；G、空き、空き、及び空き；又は全てが空きであり得、位置はEU番号付けによって番号付けされている。

【0231】

いくつかの実施形態では、本開示のMBMプロタンパク質は、同じアイソタイプ（例えば、ヒトIgG1又はヒトIgG4）の野生型ヒンジ領域と比較してFcγ受容体に対する結合親和性を低減する改変されたヒンジ領域を含む。

【0232】

一実施形態では、本開示のMBMプロタンパク質は、各Fcドメインが、そのN末端に無傷のヒンジドメインを有するFc領域を含み、各Fcドメイン及びヒンジドメインは、IgG4に由来し、各ヒンジドメインは、改変された配列CPPC（配列番号329）を含む。ヒトIgG4のコアヒンジ領域は、配列CPPC（配列番号334）を含むIgG1と比較して、配列PSC（配列番号330）を含む。IgG4配列に存在するセリン残基は、この領域における柔軟性の増加をもたらし、したがって、ある割合の分子は、IgG分子内の他の重鎖に架橋して鎖間ジスルフィドを形成するのではなく、同じタンパク質鎖内にジスルフィド結合（鎖内ジスルフィド）を形成する。（Angel et al., 1993, Mol Immunol 30(1):105-108）。セリン残基をプロリンに変更して、IgG1と同じコア配列を得ることで、IgG4ヒンジ領域内に鎖間ジスルフィドが完全な形成が可能になり、したがって、精製生成物中の不均一性が低減する。この変化したアイソタイプは、IgG4Pと呼ばれる。

【0233】

6.10.3.1. キメラヒンジ配列

ヒンジドメインは、キメラヒンジドメインであり得る。

例えば、キメラヒンジは、ヒトIgG1、ヒトIgG2、又はヒトIgG4ヒンジ領域に由来する「下部ヒンジ」配列と組み合わせられたヒトIgG1、ヒトIgG2、又はヒトIgG4ヒンジ領域に由来する「上部ヒンジ」配列を含み得る。

【0234】

特定の実施形態では、キメラヒンジ領域は、アミノ酸配列EPKSCDKTHTCPPCPAPPVA（配列番号331）（WO 2014/121087の配列番号8として以前に開示されており、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）又はESKYGP PCPPCPAPPVA（配列番号332）（WO 2014/121087の配列番号9として以前に開示されている）を含む。そのようなキメラヒンジ配列は、IgG4 CH2領域に好適に連結することができる（例えば、IgG4 Fcドメイン、例えば、ヒト

10

20

30

40

50

又はマウスFcドメインに組み込むことによって、例えば、セクション6.10.1に記載されるように、エフェクター機能を低減するためにCH2及び／又はCH3ドメインで更に改変することができる）。

【0235】

6.10.3.2. エフェクター機能が低減したヒンジ配列

更なる実施形態では、ヒンジ領域は、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるWO2016/161010A2に記載されるように、エフェクター機能を低減するように改変することができる。様々な実施形態では、改変されたヒンジ領域の位置233～236は、G、G、G、及び空き；G、G、空き、及び空き；G、空き、空き、及び空き；又は全てが空きであり得、位置はEU番号付けによって番号付けされている（WO2016/161010A2の図1に示される）。これらのセグメントは、GGG-、GG-、G-、又は-として表すことができ、「-」は、空きの位置を表す。

10

【0236】

位置236は、カノニカルヒトIgG2では空きであるが、他のカノニカルヒトIgGアイソタイプでは占有されている。位置233～235は、（WO2016/161010A2の図1に示されるように）4つのヒトアイソタイプ全てにおいて、G以外の残基によって占有される。

【0237】

位置233～236内のヒンジ改変は、Pによって占有される位置228と組み合わせることができる。位置228は、ヒトIgG1及びIgG2では本来Pによって占有されるが、ヒトIgG4ではSによって、ヒトIgG3ではRによって占有される。IgG4抗体におけるS228P変異は、IgG4抗体を安定化し、外因性抗体と内因性抗体との間の重鎖軽鎖対の交換を低減するのに有利である。好ましくは、位置226～229は、それぞれ、C、P、P、及びCによって占有される（「CPPC」は、配列番号329として開示される）。

20

【0238】

例示的なヒンジ領域は、中間（又はコア）及び下部ヒンジと称されることもある残基226-236を有し、GGG-（233～236）、GG-（233～236）、G-（233～236）及びGなし（233-236）、と表記される改変されたヒンジ配列によって占有される。任意選択で、ヒンジドメインアミノ酸配列は、CPPCPAPGGG-GPSVF（配列番号333）（WO2016/161010A2の配列番号1として以前に開示されている）、CPPCPAPGG-GPSVF（配列番号26）（WO2016/161010A2の配列番号2として以前に開示されている）、CPPCPAPG-G-GPSVF（配列番号106）（WO2016/161010A2の配列番号3として以前に開示されている）又はCPPCPAP-G-GPSVF（配列番号152）（WO2016/161010A2の配列番号4として以前に開示されている）を含む。

30

【0239】

上記の改変されたヒンジ領域は、典型的にはCH2及びCH3ドメインを含み、指定された領域に隣接する追加のヒンジセグメント（例えば、上部ヒンジ）を有し得る、重鎖定常領域に組み込むことができる。存在するそのような追加の定常領域セグメントは、典型的には同じアイソタイプ、好ましくはヒトアイソタイプのものであるが、異なるアイソタイプのハイブリッドであってもよい。そのような追加のヒト定常領域セグメントのアイソタイプは、好ましくはヒトIgG4であるが、ドメインが異なるアイソタイプであるヒトIgG1、IgG2、若しくはIgG3又はそのハイブリッドであってもよい。ヒトIgG1、IgG2、及びIgG4の例示的な配列は、WO2016/161010A2の図2～4に示されている。

40

【0240】

特定の実施形態では、改変されたヒンジ配列は、IgG4 CH2領域に連結することができる（例えば、IgG4 Fcドメイン、例えば、ヒト又はマウスFcドメインに組み込むことによって、例えば、セクション6.10.1に記載されるように、エフェクタ

50

一機能を低減するためにCH2及び／又はCH3ドメインで更に改変することができる）。

【0241】

6.11. タンデムFab

本開示のある特定の態様は、タンデムFab MBMに関する。タンデムFab MBMは、TCE ABS、例えば、セクション6.7に記載されるようなTCE ABS、及びTAA ABS、例えば、セクション6.6に記載されるようなTAA ABSの両方を、Fab、例えば、セクション6.9.1に記載されるようなFabドメインの形態において含む。TCE ABS及びTAA ABSは、例えば、セクション6.5に記載されるように、非切断可能リンカーによって分離することができる。

10

【0242】

いくつかの態様では、本開示は、タンデムFab MBMであって、(1) N末端からC末端の配向の、CH1ドメインに作動可能に連結されたTCE ABSのVH、任意選択のリンカー、例えば、非切断可能リンカー、及びCH1ドメインに作動可能に連結されたTAA ABSのVHを含む第1のポリペプチド鎖と、(2) CLドメインに作動可能に連結されたTAA ABSのVLを含む第2のポリペプチド鎖と、(3) CLドメインに作動可能に連結されたTCE ABSのVLを含む第3のポリペプチド鎖と、を含む、タンデムFab MBMを提供する。いくつかの実施形態では、タンデムFab MBMは、(1) N末端からC末端の配向の、(a) TCE ABSのVH、(b) CH1ドメイン、(c) 非切断可能リンカー、(d) TAA ABSのVH、及び(c) CH1ドメインを含む第1のポリペプチド鎖と、(2) (a) TAA ABSのVL及び(b) CLドメインを含む第2のポリペプチド鎖と、(3) (a) TCE ABSのVL及び(b) CLドメインを含む第3のポリペプチド鎖と、を含む。

20

【0243】

他の態様では、本開示は、タンデムFab MBMであって、(1) N末端からC末端の配向の、CH1ドメインに作動可能に連結されたTAA ABSのVH、任意選択のリンカー、例えば、非切断可能リンカー、及びCH1ドメインに作動可能に連結されたTCE ABSのVHを含む第1のポリペプチド鎖と、(2) CLドメインに作動可能に連結されたTAA ABSのVLを含む第2のポリペプチド鎖と、(3) CLドメインに作動可能に連結されたTCE ABSのVLを含む第3のポリペプチド鎖と、を含む、タンデムFab MBMを提供する。いくつかの実施形態では、タンデムFab MBMは、(1) N末端からC末端の配向の、(a) TAA ABSのVH、(b) CH1ドメイン、(c) 非切断可能リンカー、(d) TCE ABSのVH、及び(c) CH1ドメインを含む第1のポリペプチド鎖と、(2) (a) TAA ABSのVL及び(b) CLドメインを含む第2のポリペプチド鎖と、(3) (a) TCE ABSのVL及び(b) CLドメインを含む第3のポリペプチド鎖と、を含む。

30

【0244】

いくつかの実施形態では、TCE ABSのCH1及びTAA ABSのCH1は、同じである。更なる実施形態では、TCE ABSのCL及びTAA ABSのCLは、同じである。なお更なる実施形態では、TAA ABS及びTCE ABSのVLは、同一であり、ユニバーサル軽鎖VLである。TAA ABS及びTCE ABSに組み込むことができる例示的なユニバーサル軽鎖は、以下の表Jに記載される。

40

【0245】

50

【表 1 1】

表 J 例示的なユニバーサル軽鎖	
参照	ユニバーサル軽鎖の名称及び/又は配列番号(複数可)
WO2021/244522A1	配列番号 38、39、及び 40
WO2021/173844A1	抗 CD38003 の VL
WO2021/123090A1	配列番号 101 及び 103
US2021/0206865A1	配列番号 129
US2021/0206870A1	配列番号 3
WO2020/229621A1	0325L 及び 0128L
US2020/0199250A1	配列番号 405 及び配列番号 414
US2022/0090125A1	配列番号 1 及び配列番号 2
US11,254,736B2	配列番号 1~9
US2021/0179731A1	配列番号 17、36、200、及び 204
WO2019/190327A2	配列番号 29、35、37、及び 40
US10,986,820B2	配列番号 1 のヌクレオチド 2362~2686、及び配列番号 11 の ヌクレオチド 2373~2697 によってコードされる ULC。
US2019/0100771A1	配列番号 01
WO2016/079081A1	配列番号 31 及び配列番号 35
US2021/0206865A1	配列番号 82 の VL 配列番号 84 の CDR-L1 配列番号 86 の CDR-L2 配列番号 88 の CDR-L3

10

20

【0 2 4 6】

任意選択のリンカーは、好ましくは、セクション【0 1 1 2】に開示されるリンカーから選択される。いくつかの実施形態では、リンカーは、50 アミノ酸長未満のアミノ酸長であり（例えば、5~45 アミノ酸長、10~35 アミノ酸長、又は 5~25 アミノ酸長であり）、グリシン-セリン配列、例えば、G4S（配列番号 1）又はその多量体を含む。

30

【0 2 4 7】

6. 1 2. 核酸及び宿主細胞

別の態様では、本開示は、本開示の MBM プロタンパク質及びタンデム Fab MBM をコードする核酸を提供する。いくつかの実施形態では、MBM プロタンパク質及びタンデム Fab MBM は、単一の核酸によってコードされる。他の実施形態では、MBM プロタンパク質及びタンデム Fab MBM は、複数の（例えば、2 つ、3 つ、4 つ、又はそれ以上の）核酸によってコードすることができる。

40

【0 2 4 8】

単一の核酸は、単一のポリペプチド鎖を含む MBM プロタンパク質若しくはタンデム Fab MBM、2 つ以上のポリペプチド鎖を含む MBM プロタンパク質若しくはタンデム Fab MBM、又は 3 つ以上のポリペプチド鎖を含む MBM プロタンパク質若しくはタンデム Fab MBM の一部分をコードすることができる（例えば、単一の核酸は、3 つ、4 つ、若しくはそれ以上のポリペプチド鎖を含む MBM プロタンパク質若しくはタンデム Fab MBM の 2 つのポリペプチド鎖、又は 4 つ若しくはそれ以上のポリペプチド鎖を含む MBM プロタンパク質の 3 つのポリペプチド鎖をコードすることができる）。発現を別々に制御するために、2 つ以上のポリペプチド鎖をコードするオープンリーディング

50

フレームは、別々の転写調節エレメント（例えば、プロモーター及び／又はエンハンサー）の制御下におくことができる。2つ以上のポリペプチドをコードするオープンリーディングフレームは、同じ転写調節エレメントによって制御され、内部リボソーム進入部位（IRES）配列によって分離され、別々のポリペプチドへの翻訳を可能にすることもできる。

【0249】

いくつかの実施形態では、2つ以上のポリペプチド鎖を含むMBMプロタンパク質又はタンデムFab MBMは、2つ以上の核酸によってコードされる。MBMプロタンパク質又はタンデムFab MBMをコードする核酸の数は、MBMプロタンパク質又はタンデムFab MBM中のポリペプチド鎖の数以下であり得る（例えば、2つ以上のポリペプチド鎖が単一の核酸によってコードされる場合）。

10

【0250】

本開示の核酸は、DNA又はRNA（例えば、mRNA）であり得る。

別の態様では、本開示は、本開示の核酸を含む宿主細胞及びベクターを提供する。核酸は、本明細書において以下により詳細に記載されるように、単一のベクター中に存在してもよいし、同じ宿主細胞又は別個の宿主細胞中に存在する別個のベクター中に存在してもよい。

【0251】

6.12.1. ベクター

本開示は、本明細書に記載されるMBMプロタンパク質、タンデムFab MBM、又はその成分、例えば、MBMプロタンパク質の半抗体のポリペプチド鎖のうちの1つ又は2つをコードするヌクレオチド配列を含むベクターを提供する。ベクターは、ウイルス、プラスミド、コスミド、ラムダファージ、又は酵母人工染色体（YAC）を含むが、これらに限定されない。

20

【0252】

多数のベクター系を用いることができる。例えば、ベクターの1つのクラスは、例えば、ウシバピローマウイルス、ポリオーマウイルス、アデノウイルス、ワクシニアウイルス、バキュロウイルス、レトロウイルス（ラウス肉腫ウイルス、MMTV若しくはMOMLV）、又はSV40ウイルスなどの動物ウイルスに由来するDNAエレメントを利用する。別のクラスのベクターは、セムリキ森林ウイルス、東部ウマ脳炎ウイルス、及びフラビウイルスなどのRNAウイルスに由来するRNAエレメントを利用する。

30

【0253】

追加的に、DNAを染色体に安定的に組み込んだ細胞は、トランスフェクトされた宿主細胞の選択を可能にする1つ以上のマーカーを導入することによって選択することができる。マーカーは、例えば、栄養要求性宿主に対するプロトトロピー（prototropy）、殺生物剤耐性（例えば、抗生物質）、又は銅などの重金属に対する耐性などを提供し得る。選択可能なマーカー遺伝子は、発現されるDNA配列に直接連結されるか、又は共形質転換によって同じ細胞内に導入されるかのいずれかであり得る。mRNAの最適な合成のために、追加のエレメントも必要とされ得る。これらのエレメントは、スプライシングシグナル、並びに転写プロモーター、エンハンサー、及び終結シグナルを含み得る。

40

【0254】

発現ベクター又は構築物を含むDNA配列が発現のために調製されると、発現ベクターを適切な宿主細胞にトランスフェクトするか、又は導入することができる。これを達成するために、例えば、プロトプラスト融合、リン酸カルシウム沈殿、エレクトロポレーション、レトロウイルス形質導入、ウイルストランスフェクション、遺伝子銃、脂質ベースのトランスフェクション、又は他の従来技法などの様々な技法が用いられ得る。得られたトランスフェクトされた細胞を培養し、発現されたポリペプチドを回収するための方法及び条件は、当業者に既知であり、本明細書に基づいて、用いられる特異的発現ベクター及び哺乳類宿主細胞に応じて変化又は最適化され得る。

【0255】

50

6.12.2. 細胞

本開示はまた、本開示の核酸を含む宿主細胞を提供する。

一実施形態では、宿主細胞は、本明細書に記載される1つ以上の核酸を含むように遺伝子操作される。

【0256】

一実施形態では、宿主細胞は、発現カセットを使用することによって遺伝子操作される。「発現カセット」という語句は、そのような配列と互換性のある宿主における遺伝子の発現に影響を与えることができるヌクレオチド配列を指す。そのようなカセットには、プロモーター、イントロンを有する又は有さないオープンリーディングフレーム、及び終結シグナルが含まれ得る。発現にもたらすのに必要な、又は役立つ追加の因子、例えば、誘導性プロモーターも使用されてもよい。

【0257】

本開示はまた、本明細書に記載されるベクターを含む宿主細胞を提供する。

細胞は、限定されないが、真核細胞、細菌細胞、昆虫細胞、又はヒト細胞であり得る。好適な真核細胞としては、Vero細胞、HeLa細胞、COS細胞、CHO細胞、HEK293細胞、BHK細胞、及びMDCKII細胞が挙げられるが、これらに限定されない。好適な昆虫細胞としては、限定されないが、Sf9細胞が挙げられる。

【0258】

6.13. 薬学的組成物

本開示のMBMプロタンパク質及びタンデムFab MBMは、MBMプロタンパク質又はタンデムFab MBM、並びに1つ以上の担体、賦形剤、及び／又は希釈剤を含む、組成物の形態にあり得る。組成物は、獣医学的使用又はヒトにおける薬学的使用などの特定の使用のために製剤化され得る。組成物の形態（例えば、乾燥粉末、液体製剤など）、並びに使用される賦形剤、希釈剤、及び／又は担体は、MBMプロタンパク質及びタンデムFab MBMの意図される用途、並びに治療用途の場合、投与様式に依存するであろう。

【0259】

治療用途の場合、組成物は、薬学的に許容される担体を含む滅菌の薬学的組成物の一部として供給され得る。この組成物は、（患者に投与する所望の方法に応じて）任意の好適な形態であり得る。薬学的組成物は、経口、経皮、皮下、鼻腔内、静脈内、筋肉内、腫瘍内、髄腔内、局部、又は局所などの様々な経路によって患者に投与され得る。いずれかの所与の場合における投与のための最も好適な経路は、特定のMBMプロタンパク質又はタンデムFab MBM、対象、並びに疾患の性質及び重症度、並びに対象の身体状態に依存するであろう。典型的には、薬学的組成物は、静脈内又は皮下に投与されるであろう。

【0260】

薬学的組成物は、用量当たり所定量の本開示のMBMプロタンパク質又はタンデムFab MBMを含有する単位剤形で都合よく提示することができる。単位用量に含まれるMBMプロタンパク質又はタンデムFab MBMの量は、治療される疾患、及び当技術分野で周知の他の因子に依存するであろう。そのような単位投薬量は、単回投与に好適な量のMBMプロタンパク質若しくはタンデムFab MBMを含有する凍結乾燥された乾燥粉末の形態、又は液体の形態にあり得る。乾燥粉末単位剤形は、シリンジ、好適な量の希釈剤、及び／又は投与に有用な他の構成要素とともにキットに包装することができる。液体形態における単位投薬量は、単回投与に好適な量のMBMプロタンパク質を予め充填したシリンジの形態において都合よく供給されてもよい。

【0261】

薬学的組成物はまた、複数回投与に好適な量のMBMプロタンパク質又はタンデムFab MBMを含有することからバルクで供給されてもよい。

薬学的組成物は、所望の純度を有するMBMプロタンパク質又はタンデムFab MBMを、当技術分野で典型的に用いられる任意選択の薬学的に許容される担体、賦形剤、又は安定剤（これらの全てを本明細書では「担体」と称する）、すなわち、緩衝剤、安定剤

10

20

30

40

50

、保存剤、等張化剤、非イオン性界面活性剤、抗酸化物質、及び他の種々の添加剤と混合することによって、凍結乾燥された製剤又は水溶液として保存するために調製され得る。Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition (Osol, ed. 1980)を参照されたい。そのような添加剤は、用いられる投薬量及び濃度においてレシピエントに対して無毒であるべきである。

【0262】

緩衝剤は、生理学的条件に近い範囲でpHを維持するのに役立つ。それらは、多種多様な濃度で存在し得るが、典型的には、約2mM～約50mMの範囲の濃度で存在するであろう。本開示で使用するための好適な緩衝剤としては、有機酸及び無機酸の両方並びにその塩、例えば、クエン酸緩衝液（例えば、クエン酸－ナトリウム－クエン酸二ナトリウム混合物、クエン酸－クエン酸三ナトリウム混合物、クエン酸－クエン酸－ナトリウム混合物など）、コハク酸緩衝液（例えば、コハク酸－コハク酸－ナトリウム混合物、コハク酸－水酸化ナトリウム混合物、コハク酸－コハク酸二ナトリウム混合物など）、酒石酸緩衝液（例えば、酒石酸－酒石酸ナトリウム混合物、酒石酸－酒石酸カリウム混合物、酒石酸－水酸化ナトリウム混合物など）、フマル酸緩衝液（例えば、フマル酸－フマル酸－ナトリウム混合物、フマル酸二ナトリウム混合物、フマル酸－ナトリウム－フマル酸二ナトリウム混合物など）、グルコン酸緩衝液（例えば、グルコン酸－グリコン酸ナトリウム（sodium glyconate）混合物、グルコン酸－水酸化ナトリウム混合物、グルコン酸－グリコン酸カリウム（potassium glyconate）混合物など）、シュウ酸緩衝液（例えば、シュウ酸－シュウ酸ナトリウム混合物、シュウ酸－水酸化ナトリウム混合物、シュウ酸－シュウ酸カリウム混合物など）、乳酸緩衝液（例えば、乳酸－乳酸ナトリウム混合物、乳酸－水酸化ナトリウム混合物、乳酸－乳酸カリウム混合物など）、及び酢酸緩衝液（例えば、酢酸－酢酸ナトリウム混合物、酢酸－水酸化ナトリウム混合物など）が挙げられる。追加的に、リン酸緩衝液、ヒスチジン緩衝液、及びトリメチルアミン塩（例えば、Tris）が使用され得る。

【0263】

保存剤は、微生物の成長を遅延させるために添加されてもよく、約0.2%～1%（w/v）の範囲の量で添加され得る。本開示で使用するのに好適な保存剤としては、フェノール、ベンジルアルコール、メタクレゾール、メチルパラベン、プロピルパラベン、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド、ベンザルコニウムハライド（benzalconium halide）（例えば、塩化物、臭化物、及びヨウ化物）、塩化ヘキサメトニウム、及びアルキルパラベン（例えば、メチル又はプロピルパラベン）、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサノール、及び3－ペンタノールが挙げられる。時に「安定剤」として既知の等張化剤は、本開示の液体組成物の等張性を確保するために添加され得、多価糖アルコール、例えば、三価以上の糖アルコール（例えば、グリセリン、エリスリトール、アラビトール、キシリトール、ソルビトール、及びマンニトールなど）を含む。安定剤とは、機能において、増量剤から添加剤までの範囲であり得る幅広いカテゴリーの賦形剤を指し、治療薬を可溶化するか、変性若しくは容器壁への付着を防ぐのに役立つ。典型的な安定剤は、多価糖アルコール（上で列挙した）、アミノ酸（例えば、アルギニン、リジン、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アラニン、オルニチン、L－ロイシン、2－フェニルアラニン、グルタミン酸、スレオニンなど）、有機糖又は糖アルコール（例えば、ラクトース、トレハロース、スタキオース、マンニトール、ソルビトール、キシリトール、リビトール、ミオイニシトール（myoinisitol）、ガラクトール、グリセロールなど、イノシトールなどのシクリトールを含む）、ポリエチレングリコール、アミノ酸ポリマー、含硫還元剤（例えば、尿素、グルタチオン、チオクト酸、チオグリコール酸ナトリウム、チオグリセロール、α－モノチオグリセロール、及びチオ硫酸ナトリウムなど）、低分子量ポリペプチド（例えば、10残基以下のペプチド）、タンパク質（例えば、ヒト血清アルブミン、ウシ血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリンなど）、親水性ポリマー（例えば、ポリビニルピロリドンなど）、単糖類（例えば、キシロース、マンノース、フルクトース、グルコースなど）、二糖類

(例えば、ラクトース、マルトース、スクロース及びトレハロースなど)、三糖類(例えば、ラフィノースなど)、及び多糖類(例えば、デキストランなど)であり得る。安定剤は、MBMプロタンパク質又はタンデムFab MBMの重量当たり0.5～10重量%の範囲の量で存在してもよい。

【0264】

非イオン性界面活性剤又は洗剤(「湿潤剤」としても既知)を添加して、糖タンパク質の可溶化を助けるとともに、攪拌誘導性凝集から糖タンパク質を保護することができ、これにより、タンパク質の変性を引き起こすことなく、製剤を負荷のかかる剪断面に曝露することも可能になる。好適な非イオン性界面活性剤としては、ポリソルベート(20、80など)、ポリオキサマー(184、188など)、及びプルロニック(登録商標)ポリオールが挙げられる。非イオン性界面活性剤は、約0.05mg/mL～約1.0mg/mL(例えば、約0.07mg/mL～約0.2mg/mL)の範囲で存在し得る。

10

【0265】

追加の種々の賦形剤としては、増量剤(例えば、デンプン)、キレート剤(例えば、EDTA)、抗酸化物質(例えば、アスコルビン酸、メチオニン、ビタミンE)、及び共溶媒が挙げられる。

【0266】

本開示のMBMプロタンパク質及びタンデムFab MBMは、例えば、1つ以上の薬学的に許容される賦形剤又は担体を含む、MBMプロタンパク質又はタンデムFab MBMを含む薬学的組成物として製剤化することができる。本開示のMBMプロタンパク質及びタンデムFab MBMを含む薬学的組成物又は滅菌の組成物を調製するために、MBMプロタンパク質又はタンデムFab MBM調製物は、1つ以上の薬学的に許容される賦形剤又は担体と組み合わせることができる。

20

【0267】

例えば、MBMプロタンパク質及びタンデムFab MBMの製剤は、MBMプロタンパク質又はタンデムFab MBMを、例えば、凍結乾燥された粉末、スラリー、水溶液、ローション、又は懸濁液の形態における生理学的に許容される担体、賦形剤、又は安定剤と混合することによって調製することができる(例えば、Hardman et al., 2001, Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, N.Y., Gennaro, 2000, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, N.Y., Avis, et al. (eds.), 1993, Pharmaceutical Dosage Forms: General Medications, Marcel Dekker, NY, Lieberman, et al. (eds.), 1990, Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY, Lieberman, et al. (eds.), 1990, Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY, Weiner and Kotkoskie, 2000, Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.を参照されたい)。

30

40

【0268】

特定の対象についての有効量は、治療される状態、対象の全体的な健康、投与方法経路及び用量、並びに副作用の重症度などの因子に応じて異なり得る(例えば、Maynard, et al. (1996) A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice, Interpharm Press, Boca Raton, Fla., Dent (2001) Good Laboratory and Good Clinical Practice, Urch Publ., London, UKを参照されたい)。

50

【0269】

本開示の組成物はまた、当技術分野で既知の様々な方法のうちの1つ以上を使用して、1つ以上の投与経路を介して投与され得る。当業者には理解されるであろうが、投与経路及び／又は方式は、所望の結果に応じて異なるであろう。MBMプロタンパク質及びタンデムFab MBMのための選択された投与経路としては、例えば、注射又は注入による、静脈内、筋肉内、皮内、腹腔内、皮下、脊髄、又は他の一般的な投与経路が挙げられる。一般的な投与は、通常、注射による、経腸及び局所投与以外の投与様式を表し得、静脈内、筋肉内、動脈内、くも膜下腔内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、硬膜外、及び胸骨内注射及び注入が挙げられるが、これらに限定されない。あるいは、本開示の組成物は、非一般的な経路、例えば、局所、上皮、又は粘膜投与経路、例えば、鼻腔内、経口、膣、直腸、舌下、又は局所を介して投与することができる。一実施形態では、MBMプロタンパク質及びタンデムFab MBMは、注入によって投与される。別の実施形態では、本開示のMBMプロタンパク質又はタンデムFab MBMは、皮下投与される。

10

【0270】

6.14. 治療適応症及び治療方法

本開示のMBMプロタンパク質及びタンデムFab MBMは、TAAを発現する任意の増殖性障害（例えば、がん）の治療に使用することができる。特定の実施形態では、がんは、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、副腎皮質がん、肛門がん、虫垂がん、星状細胞腫、基底細胞がん、脳腫瘍、胆管がん、膀胱がん、骨がん、乳がん、気管支腫瘍、パーキットリンパ腫、原発不明がん、心臓腫瘍、子宮頸がん、脊索腫、慢性リンパ球性白血病（CLL）、慢性骨髄性白血病（CML）、慢性骨髄増殖性新生物、結腸がん、結腸直腸がん、頭蓋咽頭腫、皮膚T細胞リンパ腫、腺管がん、胎児性腫瘍、子宮内膜がん、上衣腫、食道がん、鼻腔神経芽細胞腫、線維性組織球腫、ユーイング肉腫、眼がん、胚細胞腫瘍、胆嚢がん、胃がん、胃腸カルチノイド腫瘍、胃腸間質腫瘍、妊娠性絨毛性疾患、神経膠腫、頭頸部がん、有毛細胞性白血病、肝細胞がん、組織球増殖症、ホジキンリンパ腫、下咽頭がん、眼内黒色腫、膵島細胞腫瘍、カポジ肉腫、腎臓がん、ランゲルハンス細胞組織球増殖症、喉頭がん、白血病、口唇がん及び口腔がん、肝臓がん、非浸潤性小葉がん、肺がん、リンパ腫、マクログロブリン血症、悪性線維性組織球腫、黒色腫、メルケル細胞がん、中皮腫、原発不明の転移性頸部扁平上皮がん、NUT遺伝子を伴う正中線管がん、口腔がん、多発性内分泌新生物症候群、多発性骨髄腫、菌状息肉腫、骨髄異形成症候群、骨髄異形成／骨髄増殖性新生物、鼻腔がん及び副鼻腔がん、鼻咽腔がん、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、非小細胞肺がん、口腔咽頭がん、骨肉腫、卵巣がん、膵臓がん、乳頭腫症、傍神経節腫、副甲状腺がん、陰茎がん、咽頭がん、褐色細胞腫、下垂体腫瘍、胸膜肺芽腫、原発性中枢神経系リンパ腫、前立腺がん、直腸がん、腎細胞がん、腎盂がん及び尿管がん、網膜芽細胞腫、ラブドイド腫瘍、唾液腺がん、セザリー症候群、皮膚がん、小細胞肺がん、小腸がん、軟部組織肉腫、脊髄腫瘍、胃がん、T細胞リンパ腫、奇形腫、精巣がん、咽喉がん、胸腺腫及び胸腺がん、甲状腺がん、尿道がん、子宮がん、膣がん、外陰がん、並びにウィルムス腫瘍である。

20

30

【0271】

以下の表Kは、特定のTAAを標的化するMBMプロタンパク質及びタンデムFab MBMを使用することができる例示的な適応症を示す。

40

【0272】

50

【表 12-1】

表 K 腫瘍関連抗原の適応症の例	
標的	代表的な適応症(複数可)
ADRB3	ユーイング肉腫
ALK	NSCLC、ALCL、IMT、神経芽細胞腫
B7H3	黒色腫、骨肉腫、白血病、乳、前立腺、卵巣、膵臓、結腸直腸がん
BCMA	多発性骨髄腫、白血病(例えば、急性リンパ芽球性白血病(「ALL」)、急性骨髄性白血病(「AML」)、慢性リンパ球性白血病(「CLL」)、慢性骨髄性白血病(「CML」)、及び有毛細胞性白血病(「HCL」))、リンパ腫(例えば、ホジキンリンパ腫、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫(「DLBCL」)を含む非ホジキンリンパ腫)
カドヘリン 17	胃、膵臓、及び結腸直腸腺がん
CAIX	明細胞腎細胞がん、低酸素性固形腫瘍、頭頸部扁平上皮がん
CD123	白血病(例えば、ALL、CLL、AML、CML、HCL)、リンパ腫(例えば、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、例えば、DLBCL)、多発性骨髄腫。好ましい実施形態では、適応症は、AML である。
CD171	神経芽細胞腫、傍神経節腫
CD179a	B 細胞悪性腫瘍
CD19	白血病(例えば、ALL、CLL、AML、CML、HCL)、リンパ腫(例えば、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、例えば、DLBCL)、多発性骨髄腫。
CD20	白血病(例えば、ALL、CLL、AML、CML、HCL)、リンパ腫(例えば、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、例えば、DLBCL)、多発性骨髄腫。
CD22	白血病(例えば、ALL、CLL、AML、CML、HCL)、リンパ腫(例えば、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、例えば、DLBCL)、多発性骨髄腫、肺がん
CD24	卵巣、乳、前立腺、膀胱、腎、非小細胞がん
CD30	未分化大細胞リンパ腫、胎児性がん、ホジキンリンパ腫
CD32b	B 細胞悪性腫瘍、胃、膵臓、食道、膠芽腫、乳、結腸直腸
CD33	白血病(例えば、ALL、CLL、AML、CML、HCL)、リンパ腫(例えば、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、例えば、DLBCL)、多発性骨髄腫。好ましい実施形態では、適応症は、AML である。
CD38	白血病(例えば、ALL、CLL、AML、CML、HCL)、リンパ腫(例えば、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、例えば、DLBCL)、多発性骨髄腫
CD44v6	結腸がん、頭頸部小細胞がん
CD97	B 細胞悪性腫瘍、胃、膵臓、食道、膠芽腫、乳、結腸直腸
CEA(CEACAM5)	結腸直腸がん、胃がん、膵臓がん、肺がん、乳がん、甲状腺髄様がん
CLDN6	卵巣、乳、肺がん
CLL-1	白血病(例えば、ALL、CLL、AML、CML、HCL)、リンパ腫(例えば、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、例えば、DLBCL)、多発性骨髄腫。好ましい実施形態では、適応症は、AML である。
CS1(SLAMF7)	多発性骨髄腫
EGFR	肺の扁平上皮細胞がん、肛門がん、膠芽腫、頭頸部の上皮腫瘍、結腸がん
EGFRvIII	膠芽腫

【0273】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2】

表 K 腫瘍関連抗原の適応症の例	
標的	代表的な適応症(複数可)
EPCAM	胃腸がん、結腸直腸がん
EphA2	カボジ肉腫、膠芽腫、固形腫瘍、神経膠腫
Ephrin B2	甲状腺がん、乳がん、悪性黒色腫
ERBB2(Her2/neu)	乳、卵巣、胃がん、肺腺がん、非小細胞肺癌がん、子宮がん、子宮漿液性子宮内膜がん(uterine serous endometrial carcinoma)、唾液管がん
FAP	脾臓がん、結腸直腸がん、転移、上皮がん、軟部組織肉腫
FCRL5	多発性骨髄腫
FLT3	白血病(例えば、ALL、CLL、AML、CML、HCL)、リンパ腫(例えば、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、例えば、DLBCL)、多発性骨髄腫
葉酸受容体アルファ	卵巣、乳、腎、肺、結腸直腸、脳がん
葉酸受容体ベータ	卵巣がん
フコシル GM1	AML、骨髄腫
GD2	悪性黒色腫、神経芽細胞腫
GD3	黒色腫
GloboH	卵巣、胃、前立腺、肺、乳、及び脾臓がん
gp100	黒色腫
GPNCB	乳がん、頭頸部がん
GPR20	GIST
GPR64	ユーイング肉腫、前立腺、腎臓、及び肺肉腫
GPRC5D	多発性骨髄腫
HAVCR1	腎がん
HER2	HER-2(+)食道胃接合部腺がん、HER-2 陽性胃腺がん、HER2 陽性乳がん
HER3	結腸及び胃がん
HMWMAA	黒色腫、膠芽腫、乳がん
IGF-I 受容体	乳、前立腺、肺がん
IL11Rα	乳頭状甲状腺がん、骨肉腫、結腸直腸腺がん、リンパ球性白血病
IL13Rα2	腎細胞がん、前立腺がん、神経膠腫、頭頸部がん、星状細胞腫
KIT	骨髄性白血病、カボジ肉腫、赤白血病、胃腸間質腫瘍
KLRG2	乳がん、肺がん、及び卵巣がん。
LewisY	扁平上皮細胞肺癌がん、肺腺がん、卵巣がん、及び結腸直腸腺がん
LMP2	前立腺がん、ホジキンリンパ腫、鼻咽頭がん
LRP6	乳がん
LY6K	乳、肺、卵巣、及び子宮頸がん
LYPD8	結腸直腸及び胃がん
メソセリン	中皮腫、脾臓がん、卵巣がん、胃がん、肺がん、子宮内膜がん
MUC1	乳及び卵巣がん、肺、胃、脾臓、前立腺がん

【 0 2 7 4 】

【表 1 2 - 3】

表 K 腫瘍関連抗原の適応症の例	
標的	代表的な適応症(複数可)
NCAM	黒色腫、ウィルムス腫瘍、小細胞肺がん、神経芽細胞腫、骨髄腫、傍神経節腫、膵腺房細胞がん、骨髄性白血病
NY-BR-1	乳がん
α-アセチル GD2	神経芽細胞腫、黒色腫
OR51E2	前立腺がん
PANX3	骨肉腫
PLAC1	肝細胞がん
ポリシアル酸	小細胞肺がん
PDGFR-ベータ	骨髄単球性白血病、慢性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病
PRSS21	結腸がん、精巣がん、卵巣がん
PSCA	前立腺がん、胃及び膀胱がん
PSMA	前立腺がん
ROR1	転移性がん、慢性リンパ球性白血病、肺、乳、卵巣、結腸、膵臓、肉腫における固形腫瘍
SLC34A2	膀胱がん
SLC39A6	乳がん、食道がん
SLITRK6	乳がん、尿路上皮がん、肺がん
SSEA-4	乳がん、がん幹細胞、上皮性卵巣がん
STEAP1	前立腺がん
STEAP2	前立腺がん(去勢抵抗性前立腺がんを含む)、膀胱がん、子宮頸がん、肺がん、結腸がん、腎臓がん、乳がん、膵臓がん、胃がん、子宮がん、卵巣がん、好ましくは前立腺がん
TACSTD2	がん腫、例えば、非小細胞肺がん
TAG72	卵巣、乳、結腸、肺、膵臓がん、胃がん
TEM1/CD248	結腸直腸がん
TEM7R	結腸直腸がん
Tn	結腸直腸、乳がん、子宮頸、肺、胃がん
TSHR	甲状腺がん、多発性骨髄腫
チロシナーゼ	前立腺がん、黒色腫
UPK2	膀胱がん
VEGFR2	卵巣及び膵臓がん、腎細胞がん、結腸直腸がん、甲状腺髄様がん

10

20

30

40

【0 2 7 5】

追加の TAA 及び対応する適応症は、例えば、Hafeez et al., 2020, Molecules 25:4764, doi:10.3390/molecules25204764、特に表 1 に開示される。表 1 は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0 2 7 6】

7. 番号付き実施形態

様々な具体的な実施形態を例示し、記載してきたが、本開示（複数可）の趣旨及び範囲から逸脱することなく様々な変更を行うことができることが理解されるであろう。本開示

50

は、以下に記載される番号付き実施形態によって例示される。

【0277】

以下の番号付き実施形態では、T A A A B Sは、好ましくは、哺乳類T A Aに結合し、T C E A B Sは、好ましくは、哺乳類T C Eに結合し、F cドメインは、好ましくは、哺乳類抗体に由来し、対象は、好ましくは、哺乳類。より好ましくは、哺乳類は、ヒトである。

【0278】

本開示は、以下に記載される群A及び群B番号付き実施形態によって例示される。別段に指定されない限り、特定の群の番号付き実施形態のうちのいずれかの特徴は、他の群の番号付き実施形態に変更すべき点を変更して適用可能である。

【0279】

群A番号付き実施形態

1. 結合分子であって、

(a) 第1のF cドメインと、

(b) 第2のF cドメインと、

(c) プロテアーゼ切断可能リンカー(P C L)を介して第1のF cドメインに接続された第1の抗原結合部位(A B S)の第1の成分と、を含み、

(i) P C Lが、25アミノ酸長以下であり、かつ／又は(ii)第1のA B Sが、その標的に結合することを立体的に障害される、結合分子。

【0280】

2. 第1のA B Sのその標的への結合が、P C Lのプロテアーゼ切断後に増強される、実施形態1に記載の結合分子。

3. 第1のA B Sが、P C Lのプロテアーゼ切断前に、その標的に結合することを立体的に障害され、立体的障害が、P C Lのプロテアーゼ切断後に解除される、実施形態1に記載の結合分子。

【0281】

4. P C Lが、20アミノ酸長以下である、実施形態1～3のいずれか1つに記載の結合分子。

5. P C Lが、15アミノ酸長以下である、実施形態1～3のいずれか1つに記載の結合分子。

【0282】

6. P C Lが、10アミノ酸長以下である、実施形態1～3のいずれか1つに記載の結合分子。

7. P C Lのプロテアーゼ切断後、第1のA B Sが、その標的への結合を少なくとも10倍増強している、実施形態1～6のいずれか1つに記載の結合分子。

【0283】

8. P C Lのプロテアーゼ切断後、第1のA B Sが、その標的への結合を少なくとも100倍増強している、実施形態1～6のいずれか1つに記載の結合分子。

9. 第1のA B Sが、F a bである、実施形態1～8のいずれか1つに記載の結合分子。

【0284】

10. 第1のA B Sが、F vである、実施形態1～8のいずれか1つに記載の結合分子。

11. 第1の成分が、V Hである、実施形態1～10のいずれか1つに記載の結合分子。

【0285】

12. 第1の成分が、V Lである、実施形態1～10のいずれか1つに記載の結合分子。

13. 結合分子が、少なくとも2つのポリペプチド鎖を含み、第1のポリペプチド鎖が、第1のF cドメイン及び第1のA B Sの第1の成分を含み、第2のポリペプチド鎖が、

10

20

30

40

50

第2のFcドメインを含む、実施形態1～12のいずれか1つに記載の結合分子。

【0286】

14. 第2のポリペプチド鎖が、第1のABSの第2の成分を含む、実施形態13に記載の結合分子。

15. 第1の成分及び第2の成分が、第1のABSを形成するために会合する、実施形態14に記載の結合分子。

【0287】

16. 第1の成分が、VHであり、第2の成分が、VLである、実施形態14又は15に記載の結合分子。

17. (1) 第1のポリペプチド鎖が、VHに対するC末端のCH1を更に含み、(2) 第2のポリペプチド鎖が、VLに対するC末端のCLを更に含む、実施形態16に記載の結合分子。

10

【0288】

18. 第1のABSの第3の成分を含む第3のポリペプチド鎖を更に含む、実施形態13～15のいずれか1つに記載の結合分子。

19. 第2のABSを含む多重特異性結合分子プロタンパク質である、実施形態1～18のいずれか1つに記載の結合分子。

【0289】

20. (a) 第1のABSが、TCE ABSであり、第2のABSが、TAA ABSであるか、又は(b) 第1のABSが、TAA ABSであり、第2のABSが、TCE ABSである、実施形態19に記載の結合分子。

20

【0290】

21. 第1のABSが、TCE ABSである、実施形態20に記載の結合分子。

22. TCE ABSが、CD3、TCR $\alpha\beta$ 、又はTCR $\gamma\delta$ に結合することができる、実施形態21に記載の結合分子。

【0291】

23. TAA ABSが、

(a) セクション6.6で特定される任意のTAA、あるいは

(b) AFP、ALK、BAGEタンパク質、BIRC5 (サバイビン)、BIRC7、 β -カテニン、brca-abl、BRCA1、BORIS、CA9、炭酸脱水酵素IX、カスパーゼ-8、CALR、CEACAM5 (がん胎児性抗原若しくはCEAとしても既知)、CCR5、CD19、CD20 (MS4A1)、CD22、CD30、CD40、CDK4、CEA、CTLA4、サイクリン-B1、CYP1B1、EGFR、EGFRvIII、ErbB2/Her2、ErbB3、ErbB4、ETV6-AML、EPCAM、EphA2、Fra-1、FOLR1、GAGEタンパク質 (例えば、GAGE-1若しくは-2)、GD2、GD3、GloboH、グリピカン-3、GM3、gp100、Her2、HLA/B-ras、HLA/k-ras、HLA/MAGE-A3、hTERT、LMP2、MAGEタンパク質 (例えば、MAGE-1、-2、-3、-4、-6、及び-12)、MART-1、メソセリン、ML-IAP、Muc1、Muc2、Muc3、Muc4、Muc5、Muc16 (CA-125)、MUM1、NA17、NY-BR1、NY-BR62、NY-BR85、NY-ESO1、OX40、p15、p53、PAP、PAX3、PAX5、PCTA-1、PLAC1、PRLR、PRAME、PSMA (FOLH1)、RAGEタンパク質、Ras、RGS5、Rho、SART-1、SART-3、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TGF- β 、TMPRSS2、Thompson-nouvelle抗原 (Tn)、TRP-1、TRP-2、チロシナーゼ、又はウロプラキン-3に結合することができる、実施形態20～22のいずれか1つに記載の結合分子。

30

40

【0292】

24. 第1のFcドメイン及び第2のFcドメインが、Fcヘテロ二量体を形成するために会合する、実施形態1～23のいずれか1つに記載の結合分子。

50

25. Fcヘテロ二量体が、ノブ・イン・ホール変異を含み、例えば、(i)第1のFcドメインが、1つ以上のノブ変異を含み、第2のFcドメインが、1つ以上のホール変異を含むか、又は(ii)第1のFcドメインが、1つ以上のホール変異を含み、第2のFcドメインが、1つ以上のノブ変異を含む、実施形態24に記載の結合分子。

【0293】

26. 第1のFcドメイン及び／又は第2のFcドメインが、スター変異を含む、実施形態1～25のいずれか1つに記載の結合分子。

27. タンデムFabが、PCLのプロテアーゼ切断後に産生される、実施形態1～26のいずれか1つに記載の結合分子。

【0294】

28. 第1のFcドメイン及び第2のFcドメインを含む多重特異性結合分子が、PCLのプロテアーゼ切断後に産生される、実施形態1～26のいずれか1つに記載の結合分子。

【0295】

29. PCLが、表Aに記載される任意のプロテアーゼによって切断可能な基質配列を含む、実施形態1～28のいずれか1つに記載の結合分子。

30. PCLが、表Bに記載される基質配列から選択される1つ以上の基質配列を含む、実施形態1～29のいずれか1つに記載の結合分子。

【0296】

31. PCLが、表Dに記載される配列から選択されるPCL配列のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、実施形態1～30のいずれか1つに記載の結合分子。

32. 結合分子が、図3Aに描写される構成を有する、実施形態1～31のいずれか1つに記載の結合分子。

【0297】

33. 結合分子が、図3Bに描写される構成を有する、実施形態1～31のいずれか1つに記載の結合分子。

34. 結合分子が、図3Cに描写される構成を有する、実施形態1～31のいずれか1つに記載の結合分子。

【0298】

35. 結合分子が、図3Dに描写される構成を有する、実施形態1～31のいずれか1つに記載の結合分子。

36. 結合分子が、図3Eに描写される構成を有する、実施形態1～31のいずれか1つに記載の結合分子。

【0299】

37. 結合分子が、図3Fに描写される構成を有する、実施形態1～31のいずれか1つに記載の結合分子。

38. 結合分子が、図7に描写される構成を有する、実施形態1～31のいずれか1つに記載の結合分子。

【0300】

39. 第1のFcドメイン及び／又は第2のFcドメインが、配列番号335、336、337、及び338のうちのいずれか1つに対して少なくとも約90%の配列同一性を有する、実施形態1～38のいずれか1つに記載の結合分子。

【0301】

40. 第1のFcドメイン及び／又は第2のFcドメインが、配列番号335、336、337、及び338のうちのいずれか1つに対して少なくとも約95%の配列同一性を有する、実施形態1～38のいずれか1つに記載の結合分子。

【0302】

41. 第1のFcドメイン及び／又は第2のFcドメインが、配列番号335、336、337、及び338のうちのいずれか1つに対して少なくとも約95%の配列同一性を有する、実施形態1～38のいずれか1つに記載の結合分子。

10

20

30

40

50

【0303】

42. 第1のFcドメイン及び／又は第2のFcドメインが、（例えば、セクション6.10.1に記載されるように）エフェクター機能を低減する1つ以上のアミノ酸置換を含む、実施形態1～41のいずれか1つに記載の結合分子。

【0304】

43. 第1のFcドメイン及び／又は第2のFcドメインが、（例えば、セクション6.10.2に記載されるように）ヘテロ二量体化を促進する1つ以上のアミノ酸置換を含む、実施形態1～41のいずれか1つに記載の結合分子。

【0305】

44. 実施形態1～43のいずれか1つに記載の結合分子及び賦形剤を含む、薬学的組成物。

10

45. 有効量の実施形態1～43のいずれか1つに記載の結合分子又は実施形態44に記載の薬学的組成物を、がん罹患している対象に投与することを含む、がんを治療する方法。

【0306】

46. がんが、例えば、表Kに記載されるように、TAA ABSによって結合されるエピトープの発現に関連する、実施形態45に記載の方法。

47. 実施形態1～43のいずれか1つに記載の結合分子をコードする、核酸又は複数の核酸。

【0307】

20

48. 実施形態1～43のいずれか1つに記載の結合分子を1つ以上のプロモーターの制御下でコードする1つ以上の核酸配列を含む1つ以上の発現ベクターでトランスフェクトされた、細胞。

【0308】

49. 結合分子を産生する方法であって、

- (a) 結合分子が発現する条件下で実施形態48に記載の細胞を培養することと、
- (b) 細胞培養物から結合分子を回収することと、を含む、方法。

【0309】

50. 結合分子を濃縮すること、及び／又は結合分子を精製することを更に含む、実施形態49に記載の方法。

30

群B番号付き実施形態

1. 多重特異性結合分子(MBM)プロタンパク質であって、

(a) Fc領域を形成するために会合することができる第1のFcドメイン及び第2のFcドメインと、

(b) 第1のFcドメイン及び／又は第2のFcドメインに対するC末端のT細胞係合抗原結合部位(「TCE ABS」)と、

(c) 腫瘍関連抗原に結合することができる少なくとも1つの抗原結合部位(「TAA ABS」)と、

(d) 第1のFcドメイン又は第2のFcドメインに対するC末端のプロテアーゼ切断可能リンカー(PCL)と、を含み、

40

MBMプロタンパク質におけるTAA ABSが、PCLが非切断状態にある場合にその標的に結合することができ、TCE ABSのその標的への結合が、PCLのプロテアーゼ切断後に増強される、MBMプロタンパク質。

【0310】

2. PCLの切断が、TAA ABS及びTCE ABSを含むMBMを解除する、実施形態1に記載のMBMプロタンパク質。

3. MBMプロタンパク質におけるTCE ABSが、抗イディオタイプ抗体によってマスキングされる、実施形態1又は実施形態2に記載のMBMプロタンパク質。

【0311】

4. MBMプロタンパク質におけるTCE ABSが、Fcドメインによってその標的

50

への結合を立体的に障害される、実施形態 1 又は実施形態 2 に記載の MBM プロタンパク質。

【0312】

5. MBM が、第 1 及び第 2 の Fc ドメインを含む、実施形態 1～4 のいずれか 1 つに記載の MBM プロタンパク質。

6. 図 1 A に描写される構成を有する、実施形態 5 に記載の MBM プロタンパク質。

【0313】

7. 図 1 B に描写される構成を有する、実施形態 5 に記載の MBM プロタンパク質。

8. 図 1 C に描写される構成を有する、実施形態 5 に記載の MBM プロタンパク質。

9. 図 3 A に描写される構成を有する、実施形態 5 に記載の MBM プロタンパク質。

10

【0314】

10. 図 3 B に描写される構成を有する、実施形態 5 に記載の MBM プロタンパク質。

11. 図 3 C に描写される構成を有する、実施形態 5 に記載の MBM プロタンパク質。

12. 図 3 D に描写される構成を有する、実施形態 5 に記載の MBM プロタンパク質。

【0315】

13. 図 3 E に描写される構成を有する、実施形態 5 に記載の MBM プロタンパク質。

14. 図 3 F に描写される構成を有する、実施形態 5 に記載の MBM プロタンパク質。

15. MBM が、第 1 及び第 2 の Fc ドメインを欠く、実施形態 1～4 のいずれか 1 つに記載の MBM プロタンパク質。

【0316】

20

16. 図 5 に描写される構成を有する、実施形態 15 に記載の MBM プロタンパク質。

17. 図 7 に描写される構成を有する、実施形態 15 に記載の MBM プロタンパク質。

18. 任意選択で、実施形態 1～8 のいずれか 1 つに記載の MBM である、多重特異性結合分子 (MBM) プロタンパク質であって、

(a) 第 1 のポリペプチド鎖であって、N 末端から C 末端の配向で、

(i) 任意選択の第 1 のリンカー、

(ii) 第 1 の Fc ドメイン、

(iii) 第 2 のリンカー、及び

(iv) T 細胞係合抗原結合部位 (「TCE ABS」) 又はその成分を含む、第 1 のポリペプチド鎖と、

30

(b) 第 2 のポリペプチド鎖であって、N 末端から C 末端の配向で、

(i) 任意選択の第 3 のリンカー、

(ii) Fc ヘテロ二量体を形成するために第 1 の Fc ドメインとヘテロ二量体化することができる第 2 の Fc ドメイン、

(iii) プロテアーゼ切断可能リンカー (「PCL」) である第 4 のリンカー、及び

(iv) TCE ABS (「抗 TCE ABS」) 又はその成分の抗イディオタイプである抗原結合部位を含む、第 2 のポリペプチド鎖と、を含み、第 1 のポリペプチド鎖及び／又は第 2 のポリペプチド鎖が、腫瘍関連抗原に結合することができる抗原結合部位 (「TAA ABS」) 又はその成分を含む、MBM プロタンパク質。

40

【0317】

19. TAA ABS (複数可)、TCE ABS、及び抗 TCE ABS が、Fab の形態にあり、TAA ABS 鎖 (複数可)、TCE ABS 鎖、及び抗 TCE ABS 鎖が、別々のポリペプチド鎖上のそれらのそれぞれの VL ドメインと会合する VH ドメインを含む、実施形態 18 に記載の MBM プロタンパク質。

【0318】

20. VL ドメインが、ユニバーサル軽鎖 VL ドメインである、実施形態 18 に記載の MBM プロタンパク質。

21. 抗 TCE ABS が、scFv の形態にある、実施形態 1～18 のいずれか 1 つ

50

に記載のMBMプロタンパク質。

【0319】

22. 抗TCE ABSが、VHHの形態にある、実施形態1～18のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

23. 抗TCE ABSが、VHの形態にある、実施形態1～18のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

【0320】

24. PCL以外のリンカーが、非切断可能リンカー（「NCL」）である、実施形態18～20のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

25. 任意選択で、実施形態1～5及び9～14のいずれか1つに記載のMBMである、多重特異性結合分子（MBM）プロタンパク質であって、 10

（a）第1のポリペプチド鎖であって、N末端からC末端の配向で、

（i）任意選択の第1のリンカー、

（ii）第1のFcドメイン、

（iii）第2のリンカー、及び

（iv）VHを含むT細胞係合抗原結合部位（「TCE ABS」）成分を含む、第1のポリペプチド鎖と、

（b）第2のポリペプチド鎖であって、N末端からC末端の配向で、

（i）任意選択の第3のリンカー、

（ii）Fcヘテロ二量体を形成するために第1のFcドメインとヘテロ二量体化 20
することができる第2のFcドメイン、

（iii）第4のリンカー、及び

（iv）VLを含むT細胞係合抗原結合部位（「TCE ABS」）成分を含む、第2のポリペプチド鎖と、を含み、

（A）第2のリンカー又は第4のリンカーが、プロテアーゼ切断可能リンカー（「PCL」）であり、（B）第1のポリペプチド鎖及び／又は第2のポリペプチド鎖が、腫瘍関連抗原に結合することができる抗原結合部位（「TAA ABS」）を含み、（C）TCE ABSが、その標的への結合を立体的に障害される、MBMプロタンパク質。

【0321】

26. TCE ABSが、Fabである、実施形態25に記載のMBMプロタンパク質。 30

27. 第1のポリペプチド鎖が、TCE ABSのVHに対するC末端のCH1ドメインを含み、第2のポリペプチド鎖が、TCE ABSのVLに対するC末端のCLドメインを含む、実施形態26に記載のMBMプロタンパク質。

【0322】

28. TCE ABSが、Fvである、実施形態25に記載のMBMプロタンパク質。

29. 第1のポリペプチド鎖が、TCE ABSのVHに対するC末端のCH1ドメインを欠き、第2のポリペプチド鎖が、TCE ABSのVLに対するC末端のCLドメインを欠く、実施形態28に記載のMBMプロタンパク質。

【0323】

30. TAA ABS（複数可）が、Fabの形態にあり、TAA ABS鎖（複数可）が、各々、別々のポリペプチド鎖上のそれぞれのVLドメインと会合するVHドメインを含む、実施形態25～29のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。 40

【0324】

31. 別々のポリペプチド鎖上のVLドメインが、ユニバーサル軽鎖VLドメインである、実施形態30に記載のMBMプロタンパク質。

32. PCL以外のリンカーが、非切断可能リンカー（「NCL」）である、実施形態25～31のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

【0325】

33. 第2のリンカー又は第4のリンカーが、25個以下のアミノ酸、20個以下のアミノ酸、15個以下のアミノ酸、又は10個以下のアミノ酸である、実施形態25～32 50

のいずれか 1 つに記載の MBM プロタンパク質。

【0326】

34. 任意選択で、実施形態 1～8、15、及び 16 のいずれか 1 つに記載の MBM である、多重特異性結合分子 (MBM) プロタンパク質であって、

(a) 第 1 のポリペプチド鎖であって、N 末端から C 末端の配向で、

(i) 任意選択の第 1 のリンカー、

(ii) 第 1 の Fc ドメイン、

(iii) 第 2 のリンカー、及び

(iv) 第 2 のポリペプチド鎖の TCE ABS (「抗 TCE ABS」) 又はその成分の抗イディオタイプである抗原結合部位を含む、第 1 のポリペプチド鎖と、

(b) 第 2 のポリペプチド鎖であって、N 末端から C 末端の配向で、

(i) 任意選択の第 3 のリンカー、

(ii) Fc ヘテロ二量体を形成するために第 1 の Fc ドメインとヘテロ二量体化することができる第 2 の Fc ドメイン、

(iii) プロテアーゼ切断可能リンカー (「PCL」) である第 4 のリンカー、

(iv) T 細胞係合抗原結合部位 (「TCE ABS」) 又はその成分、

(v) 任意選択の第 5 のリンカー、及び

(vi) 腫瘍関連抗原に結合することができる抗原結合部位 (「TAA ABS」) 又はその成分を含む、第 2 のポリペプチド鎖と、を含む、MBM プロタンパク質。

【0327】

35. TAA ABS、TCE ABS、及び抗 TCE ABS が、Fab の形態にあり、TAA ABS 鎖、TCE ABS 鎖、及び抗 TCE ABS 鎖が、別々のポリペプチド鎖上のそれらのそれぞれの VLD ドメインと会合する VH ドメインを含む、実施形態 34 に記載の MBM プロタンパク質。

【0328】

36. VLD ドメインが、ユニバーサル軽鎖 VLD ドメインである、実施形態 35 に記載の MBM プロタンパク質。

37. 抗 TCE ABS が、scFv の形態にある、実施形態 34 に記載の MBM プロタンパク質。

【0329】

38. 抗 TCE ABS が、VHH の形態にある、実施形態 34 に記載の MBM プロタンパク質。

39. 抗 TCE ABS が、VH の形態にある、実施形態 34 に記載の MBM プロタンパク質。

【0330】

40. PCL 以外のリンカーが、非切断可能リンカー (「NCL」) である、実施形態 34～39 のいずれか 1 つに記載の MBM プロタンパク質。

41. 任意選択で、実施形態 1～4、15、及び 17 のいずれか 1 つに記載の MBM である、多重特異性結合分子 (MBM) プロタンパク質であって、

(a) 第 1 のポリペプチド鎖であって、N 末端から C 末端の配向で、

(i) 任意選択の第 1 のリンカー、

(ii) 第 1 の Fc ドメイン、

(iii) プロテアーゼ切断可能リンカー (「PCL」) である第 2 のリンカー、

及び

(iv) VH を含む T 細胞係合抗原結合部位 (「TCE ABS」) 成分を含む、第 1 のポリペプチド鎖と、

(b) 第 2 のポリペプチド鎖であって、N 末端から C 末端の配向で、

(i) 任意選択の第 3 のリンカー、

(ii) Fc ヘテロ二量体を形成するために第 1 の Fc ドメインとヘテロ二量体化することができる第 2 の Fc ドメイン、

10

20

30

40

50

(i i i) プロテアーゼ切断可能リンカー (「 P C L 」) である第 4 のリンカー、及び

(i v) V L を含む T 細胞係合抗原結合部位 (「 T C E A B S 」) 成分を含む、第 2 のポリペプチド鎖と、を含み、

第 1 のポリペプチド鎖又は第 2 のポリペプチド鎖が、 T C E A B S 鎖に対する C 末端の、腫瘍関連抗原に結合することができる抗原結合部位 (「 T A A A B S 」) 又はその成分を含む、 M B M プロタンパク質。

【 0 3 3 1 】

4 2 . T C E A B S が、 F a b である、実施形態 4 1 に記載の M B M プロタンパク質。

4 3 . 第 1 のポリペプチド鎖が、 T C E A B S の V H に対する C 末端の C H 1 ドメインを含み、第 2 のポリペプチド鎖が、 T C E A B S の V L に対する C 末端の C L ドメインを含む、実施形態 4 2 に記載の M B M プロタンパク質。

【 0 3 3 2 】

4 4 . T C E A B S が、 F v である、実施形態 4 1 に記載の M B M プロタンパク質。

4 5 . 第 1 のポリペプチド鎖が、 T C E A B S の V H に対する C 末端の C H 1 ドメインを欠き、第 2 のポリペプチド鎖が、 T C E A B S の V L に対する C 末端の C L ドメインを欠く、実施形態 4 4 に記載の M B M プロタンパク質。

【 0 3 3 3 】

4 6 . T A A A B S が、 F a b の形態にあり、 T A A A B S 鎖が、別々のポリペプチド鎖上の V L ドメインと会合する V H ドメインを含む、実施形態 4 1 ~ 4 5 のいずれか 1 つに記載の M B M プロタンパク質。

【 0 3 3 4 】

4 7 . 別々のポリペプチド鎖上の V L ドメインが、ユニバーサル軽鎖 V L ドメインである、実施形態 4 6 に記載の M B M プロタンパク質。

4 8 . P C L 以外のリンカーが、非切断可能リンカー (「 N C L 」) である、実施形態 4 1 ~ 4 7 のいずれか 1 つに記載の M B M プロタンパク質。

【 0 3 3 5 】

4 9 . 第 2 のリンカー又は第 4 のリンカーが、 2 5 個以下のアミノ酸、 2 0 個以下のアミノ酸、 1 5 個以下のアミノ酸、又は 1 0 個以下のアミノ酸である、実施形態 4 1 ~ 4 8 のいずれか 1 つに記載の M B M プロタンパク質。

【 0 3 3 6 】

5 0 . 各 P C L が、表 A に記載される任意のプロテアーゼによって切断可能な基質配列を含む、実施形態 1 ~ 4 9 のいずれか 1 つに記載の M B M プロタンパク質。

5 1 . 各 P C L が、表 B に記載される基質配列から選択される 1 つ以上の基質配列を含む、実施形態 1 ~ 5 0 のいずれか 1 つに記載の M B M プロタンパク質。

【 0 3 3 7 】

5 2 . 各 P C L が、表 C に記載される基質配列から選択される 1 つ以上のスペーサー配列を含み、任意選択で、 P C L が、以下のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つを含むか、又はそれからなる、実施形態 1 ~ 5 1 のいずれか 1 つに記載の M B M プロタンパク質。

【 0 3 3 8 】

(a) G G G G S G G G G S G G G G S I S S G L L S G R S D N H G G S G G S (配列番号 2 0 5) ;

(b) G G G G S G G G G S G G G G S V P L S L Y S G G G S G G S G G S G S (配列番号 2 0 6) ;

(c) I S S G L L S G R S D N H (配列番号 2 3 0) 、及び

(d) 1 ~ 5 個のアミノ酸置換を有する、前述のうちのいずれか 1 つのバリエーション。

【 0 3 3 9 】

5 3 . 各 P C L が、表 D に記載される基質配列から選択される P C L 配列のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、実施形態 1 ~ 5 2 のいずれか 1 つに記載の M B M プロタンパク質。

10

20

30

40

50

【0340】

54. PCL（複数可）以外の分子内の全てのリンカーが、非切断可能リンカー（「NCL」）である、実施形態1～53のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

55. NCLが、表Eから選択される、実施形態54に記載のMBMプロタンパク質。

【0341】

56. TAA ABSが、

(a) セクション4.5で特定される任意のTAA、あるいは

(b) AFP、ALK、BAGEタンパク質、BIRC5（サバイビン）、BIRC7、 β -カテニン、brc-abl、BRCA1、BORIS、CA9、炭酸脱水酵素IX、カスパーゼ-8、CALR、CEACAM5（がん胎児性抗原若しくはCEAとしても既知）、CCR5、CD19、CD20（MS4A1）、CD22、CD30、CD40、CDK4、CEA、CTLA4、サイクリン-B1、CYP1B1、EGFR、EGFRvIII、ErbB2/Her2、ErbB3、ErbB4、ETV6-AML、EpCAM、EphA2、Fra-1、FOLR1、GAGEタンパク質（例えば、GAGE-1若しくは-2）、GD2、GD3、GloboH、グリピカン-3、GM3、gp100、Her2、HLA/B-ras、HLA/k-ras、HLA/MAGE-A3、hTERT、LMP2、MAGEタンパク質（例えば、MAGE-1、-2、-3、-4、-6、及び-12）、MART-1、メソセリン、ML-IAP、Muc1、Muc2、Muc3、Muc4、Muc5、Muc16（CA-125）、MUM1、NA17、NY-BR1、NY-BR62、NY-BR85、NY-ESO1、OX40、p15、p53、PAP、PAX3、PAX5、PCTA-1、PLAC1、PRLR、PRAME、PSMA（FOLH1）、RAGEタンパク質、Ras、RGS5、Rho、SART-1、SART-3、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TGF- β 、TMPRSS2、Thompson-nouvelle抗原（Tn）、TRP-1、TRP-2、チロシナーゼ、又はウロプラキン-3に結合することができる、実施形態1～55のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

10

20

【0342】

57. TAA ABSが、(a) (i) CDR、若しくは(ii)表Fに記載される抗体のVH及びVL配列を含むか、又は(b) TAAへの結合について表Fに記載される抗体と競合する、実施形態1～56のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

30

【0343】

58. TAAが、CEACAM5である、実施形態1～57のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

59. TAAが、EpCAMである、実施形態1～57のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

【0344】

60. TAAが、HER2である、実施形態1～57のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

61. TAAが、PMSAである、実施形態1～5571のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

40

【0345】

62. TAAが、STEAP2である、実施形態1～57のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

63. TAAが、EGFRである、実施形態1～57のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

【0346】

64. TCE ABSが、T細胞受容体（TCR）複合体の成分に結合することができる、実施形態1～57のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

65. TCR複合体の成分が、CD3である、実施形態64に記載のMBMプロタンパク質。

50

【0347】

66. TCR複合体の成分が、TCR $\alpha\beta$ である、実施形態64に記載のMBMプロタンパク質。

67. TCR複合体の成分が、TCR $\gamma\delta$ である、実施形態64に記載のMBMプロタンパク質。

【0348】

68. TCE ABSが、(a) (i) CDR、若しくは(ii)表Gに記載される抗体のVH及びVL配列を含むか、又は(b)その標的への結合について表Gに記載される抗体と競合する、実施形態1～67のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

【0349】

69. PCLのプロテアーゼ切断後に二重特異性結合分子(「BBM」)を産生する、実施形態1～68のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

70. BBMが、二価である、実施形態69に記載のMBMプロタンパク質。

【0350】

71. BBMが、三価である、実施形態69に記載のMBMプロタンパク質。

72. Fc領域が、ヘテロ二量体である、実施形態1～71のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

【0351】

73. Fcヘテロ二量体が、ノブ・イン・ホール変異を含む、実施形態72に記載のMBMプロタンパク質。

74. 少なくとも1つのFcドメインが、野生型Fcドメインと比較した場合にスター変異を含む、実施形態1～72のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

【0352】

75. TCE ABSが、N末端に1つ以上のアミノ酸の欠失を有するVLを含む、実施形態1～74のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

76. TCE ABSが、N末端に1つ以上のアミノ酸の欠失を有するVHを含む、実施形態1～74のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

【0353】

77. 第1のFcドメインが、野生型Fcドメインに対してC末端に1つ以上のアミノ酸の欠失を含む、実施形態1～76のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

78. 第1のFcドメインが、野生型Fcドメインに対してC末端に1つのアミノ酸の欠失を含む、実施形態77に記載のMBMプロタンパク質。

【0354】

79. 第1のFcドメインが、野生型Fcドメインに対してC末端に2つのアミノ酸の欠失を含む、実施形態77に記載のMBMプロタンパク質。

80. 第1のFcドメインが、野生型Fcドメインに対してC末端に3つのアミノ酸の欠失を含む、実施形態77に記載のMBMプロタンパク質。

【0355】

81. 第1のFcドメインが、野生型Fcドメインに対してC末端に4つのアミノ酸の欠失を含む、実施形態77に記載のMBMプロタンパク質。

82. 第1のFcドメインが、野生型Fcドメインに対してC末端に5つのアミノ酸の欠失を含む、実施形態77に記載のMBMプロタンパク質。

【0356】

83. 第1のFcドメインが、野生型Fcドメインに対してC末端に6つのアミノ酸の欠失を含む、実施形態77に記載のMBMプロタンパク質。

84. 第2のFcドメインが、野生型Fcドメインに対してC末端に1つ以上のアミノ酸の欠失を含む、実施形態1～83のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質。

【0357】

85. 第2のFcドメインが、野生型Fcドメインに対してC末端に1つのアミノ酸の欠失を含む、実施形態84に記載のMBMプロタンパク質。

10

20

30

40

50

86. 第2のFcドメインが、野生型Fcドメインに対してC末端に2つのアミノ酸の欠失を含む、実施形態84に記載のMBMプロタンパク質。

【0358】

87. 第2のFcドメインが、野生型Fcドメインに対してC末端に3つのアミノ酸の欠失を含む、実施形態84に記載のMBMプロタンパク質。

88. 第2のFcドメインが、野生型Fcドメインに対してC末端に4つのアミノ酸の欠失を含む、実施形態84に記載のMBMプロタンパク質。

【0359】

89. 第2のFcドメインが、野生型Fcドメインに対してC末端に5つのアミノ酸の欠失を含む、実施形態84に記載のMBMプロタンパク質。

10

90. 第2のFcドメインが、野生型Fcドメインに対してC末端に6つのアミノ酸の欠失を含む、実施形態84に記載のMBMプロタンパク質。

【0360】

91. タンデムFab MBMであって、(1) N末端からC末端の配向の、CH1ドメインに作動可能に連結されたTCE ABSのVH、任意選択のリンカー、例えば、非切断可能リンカー、及びCH1ドメインに作動可能に連結されたTAA ABSのVHを含む第1のポリペプチド鎖と、(2) CLドメインに作動可能に連結されたTAA ABSのVLを含む第2のポリペプチド鎖と、(3) CLドメインに作動可能に連結されたTCE ABSのVLを含む第3のポリペプチド鎖と、を含む、タンデムFab MBM。

【0361】

20

92. タンデムFab MBMであって、(1) N末端からC末端の配向の、(a) TCE ABSのVH、(b) CH1ドメイン、(c) 非切断可能リンカー、(d) TAA ABSのVH、及び(c) CH1ドメインを含む第1のポリペプチド鎖と、(2) (a) TAA ABSのVL及び(b) CLドメインを含む第2のポリペプチド鎖と、(3) (a) TCE ABSのVL及び(b) CLドメインを含む第3のポリペプチド鎖と、を含む、タンデムFab MBM。

【0362】

93. タンデムFab MBMを含むタンデムFab MBMであって、(1) N末端からC末端の配向の、CH1ドメインに作動可能に連結されたTAA ABSのVH、任意選択のリンカー、例えば、非切断可能リンカー、及びCH1ドメインに作動可能に連結されたTCE ABSのVHを含む第1のポリペプチド鎖と、(2) CLドメインに作動可能に連結されたTAA ABSのVLを含む第2のポリペプチド鎖と、(3) CLドメインに作動可能に連結されたTCE ABSのVLを含む第3のポリペプチド鎖と、を含む、タンデムFab MBM。

30

【0363】

94. タンデムFab MBMであって、(1) N末端からC末端の配向の、(a) TAA ABSのVH、(b) CH1ドメイン、(c) 非切断可能リンカー、(d) TCE ABSのVH、及び(c) CH1ドメインを含む第1のポリペプチド鎖と、(2) (a) TAA ABSのVL及び(b) CLドメインを含む第2のポリペプチド鎖と、(3) (a) TCE ABSのVL及び(b) CLドメインを含む第3のポリペプチド鎖と、を含む、タンデムFab MBM。

40

【0364】

95. TCE ABSのCH1及びTAA ABSのCH1が、同じである、実施形態91～94のいずれか1つに記載のタンデムFab MBM。

96. TCE ABSのCL及びTAA ABSのCLが、同じである、実施形態91～95のいずれか1つに記載のタンデムFab MBM。

【0365】

97. TAA ABS及びTCE ABSのVLが、同一であり、かつユニバーサル軽鎖VLである、実施形態91～96のいずれか1つに記載のタンデムFab MBM。

【0366】

50

98. TAA ABSが、実施形態50～57のうちのいずれか1つで定義されたとおりである、実施形態91～97のいずれか1つに記載のタンデムFab MBM。

99. TCE ABSが、実施形態64～68のうちのいずれか1つで定義されたとおりである、実施形態91～98のいずれか1つに記載のタンデムFab MBM。

【0367】

100. 実施形態1～90のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質又は実施形態91～99のいずれか1つに記載のタンデムFab MBM、及び賦形剤を含む、薬学的組成物。

【0368】

101. がんを治療する方法であって、有効量の実施形態1～90のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質、実施形態91～99のいずれか1つに記載のタンデムFab MBM、又は実施形態100に記載の薬学的組成物を、がん罹患している対象に投与することを含む、方法。

【0369】

102. がんが、例えば、表Kに記載されるように、TAA ABSによって結合されるエピトープの発現に関連する、実施形態101に記載の方法。

103. 実施形態1～90のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質又は実施形態91～99のいずれか1つに記載のタンデムFab MBMをコードする、核酸又は複数の核酸。

【0370】

104. 実施形態1～90のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質又は実施形態91～99のいずれか1つに記載のタンデムFab MBMを発現するように操作された、細胞。

【0371】

105. 実施形態1～90のいずれか1つに記載のMBMプロタンパク質又は実施形態91～99のいずれか1つに記載のタンデムFab MBMを1つ以上のプロモーターの制御下でコードする1つ以上の核酸配列を含む1つ以上の発現ベクターでトランスフェクトされた、細胞。

【0372】

106. MBMプロタンパク質又はタンデムFab MBMを産生する方法であって、
(a) MBMが発現する条件下で実施形態104又は実施形態105に記載の細胞を培養することと、

(b) 該当する場合、細胞培養物からMBMプロタンパク質又はタンデムFab MBMを回収することと、を含む、方法。

【0373】

107. 該当する場合、MBMプロタンパク質又はタンデムFab MBMを濃縮することを更に含む、実施形態106に記載の方法。

108. 該当する場合、MBMプロタンパク質又はタンデムFab MBMを精製することを更に含む、実施形態106又は実施形態107に記載の方法。

【実施例】

【0374】

8. 実施例

8.1. 実施例1：C末端抗原結合部位のFcマスキングに対するリンカー長の影響

(図3Bを参照して)リンカーBが非切断可能リンカーであったことを除いて、Fcドメインに対するC末端の異なるリンカー長(5、15、及び25アミノ酸)を有する図3Bに描写される構成を有する抗TAA×CD3二重特異性抗体を生成した。この研究の目標は、JURKAT細胞上でその標的、この場合ではCD3に結合するABSの能力に対する、FcドメインをC末端ABS又はABS鎖から分離するリンカーの影響を決定することであった。従来の二重特異性抗TAA×CD3二重特異性抗体を、CD3結合についての対照として使用した。

10

20

30

40

50

【0375】

フローサイトメトリー分析を利用して、JURKAT細胞へのTAA×CD3二重特異性抗体の結合を決定し、続いてアロフィコシアニン（APC）標識抗ヒトIgG抗体で検出した。簡潔に説明すると、 1×10^5 細胞／ウェルを、抗TAA×CD3二重特異性抗体の段階希釈物とともに4℃で30分間インキュベートした。インキュベーション後、細胞を、1%濾過FBSを含有する冷PBSで2回洗浄し、APC標識抗ヒト二次抗体を細胞に添加して、更に30分間インキュベートした。二次のみを含有するウェルを対照として使用した。

【0376】

インキュベーション後、細胞を洗浄し、1%濾過FBSを含有する200μLの冷PBSに再懸濁し、BD FACS Canto IIにおいてフローサイトメトリーによって分析した。

【0377】

結果を図9に示す。図9に明らかなように、CD3 ABSのその標的に結合する能力は、リンカー長と相関し、より短いリンカー長は、Fcによる立体的障害を最大化し、CD3結合の最大の障害をもたらし、より長いリンカー長は、CD3結合に対してより許容的であった（ただし、従来の二重特異性抗体と比較して依然として低減していた）。

【0378】

8.2. 実施例2：Fc立体的障害は、抗TAA×CD3二重特異性抗体標的結合を低減させる

図7に描写される構成を有する抗TAA×CD3二重特異性抗体を、Exp1293細胞における一過性トランスフェクションによって生成し、リンカーA及びBは、例示されるような切断可能リンカー、又は非切断可能G4Sリンカー（配列番号1）によって置き換えられたもののいずれかであった。図10は、単一ステップのPro A精製後の、切断可能リンカーA及びBを有する抗TAA×CD3二重特異性抗体（Fc-PCLE-CD3-TAA）、並びに切断可能リンカーA及びBを含まない抗TAA×CD3二重特異性抗体（Fc-G4S-CD3-TAA）の発現を示す。

【0379】

フローサイトメトリー分析を、セクション8.1に記載されるように利用し、それによって、JURKAT細胞へのTAA×CD3二重特異性抗体の結合を評価した。

IgG構成における抗TAA×CD3二重特異性抗体と比較して、Fc立体的障害を有する全ての抗TAA×CD3二重特異性抗体は、JURKAT細胞上のCD3結合の障害を示した（図11A）。4若しくは6アミノ酸によるFcのC末端での切断、及び／又は1若しくは2アミノ酸によるVH／VLのN末端での切断を有する類似の構築物は、同様に、JURKAT細胞に対してCD3の結合を障害した（データは示さない）。

【0380】

9. 参考文献の引用

本出願で引用される全ての刊行物、特許、特許出願、及び他の文書は、個々の刊行物、特許、特許出願、又は他の文書が、全ての目的のために参照により組み込まれることが個別に示されているのと同じ程度に、全ての目的のためにその全体が参照により本明細書に組み込まれる。本明細書に組み込まれる参照のうちの1つ以上の教示と本開示との間に矛盾がある場合には、本明細書の教示が意図される。

10

20

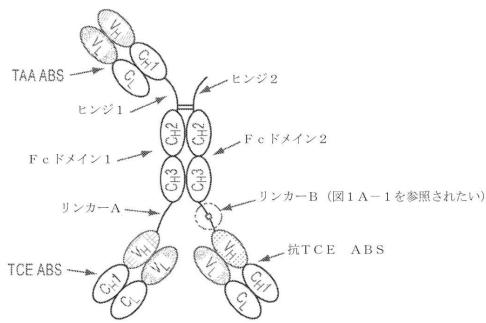
30

40

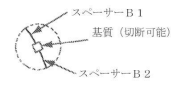
50

【図面】

【図 1 A】

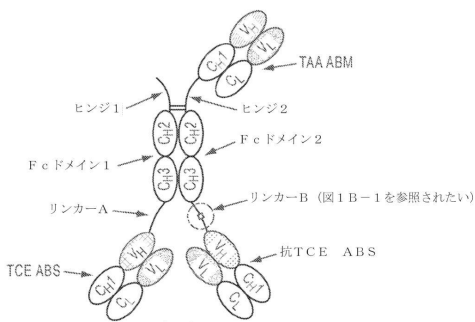


【図 1 A - 1】

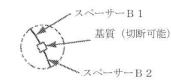


10

【図 1 B】

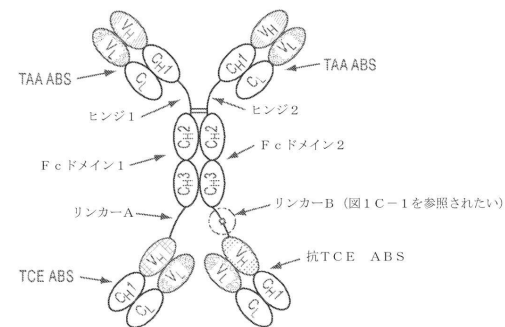


【図 1 B - 1】

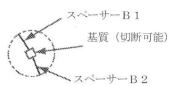


20

【図 1 C】



【図 1 C - 1】

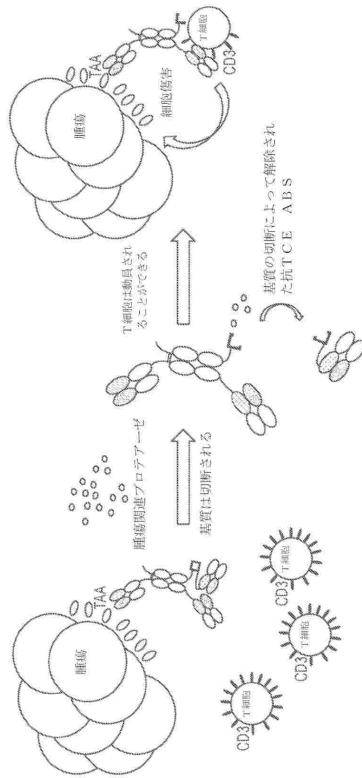


30

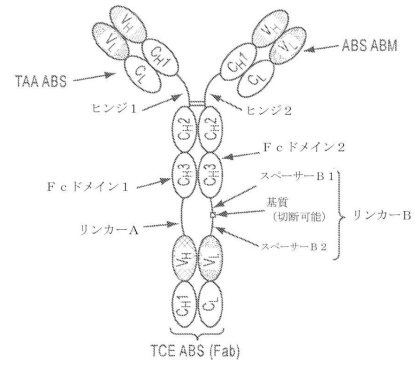
40

50

【図 2】



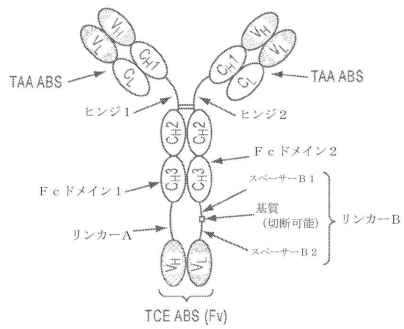
【図 3 A】



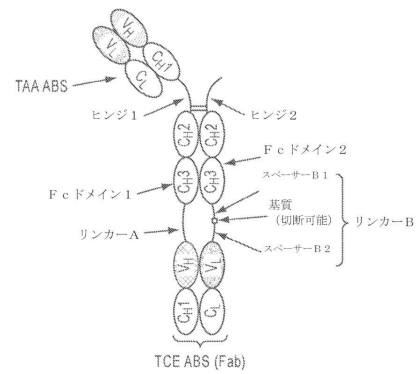
10

20

【図 3 B】



【図 3 C】

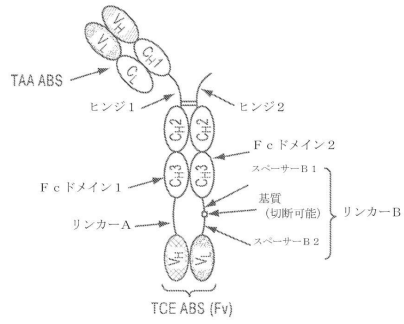


30

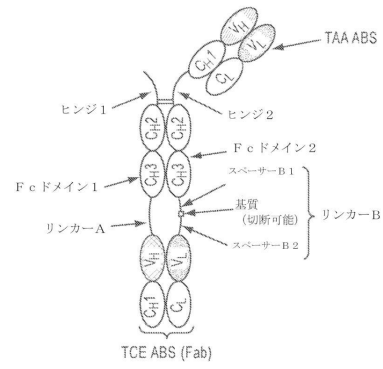
40

50

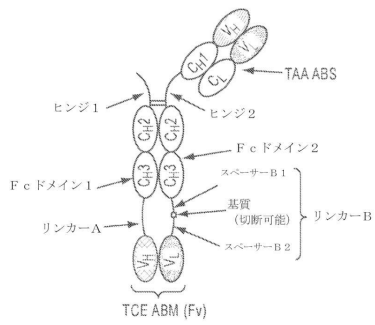
【図 3 D】



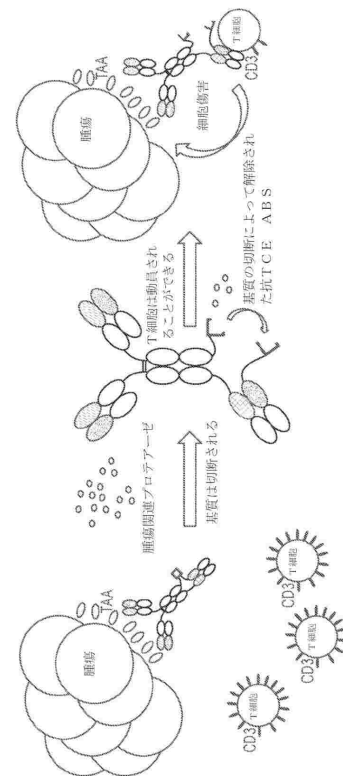
【図 3 E】



【図 3 F】



【図 4】



10

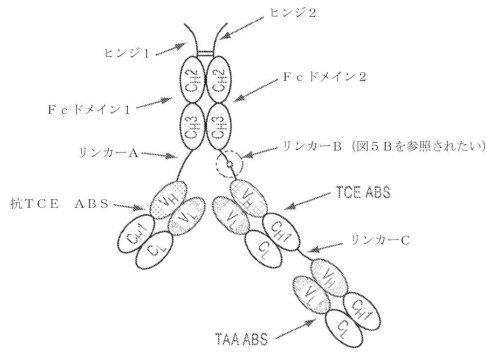
20

30

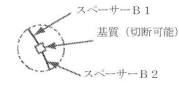
40

50

【図 5 A】

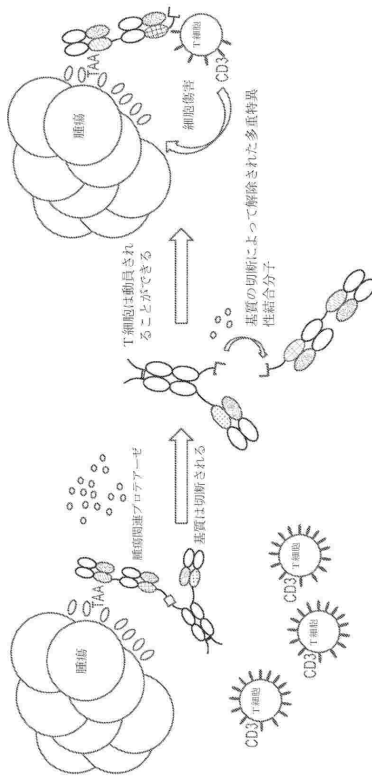


【図 5 B】

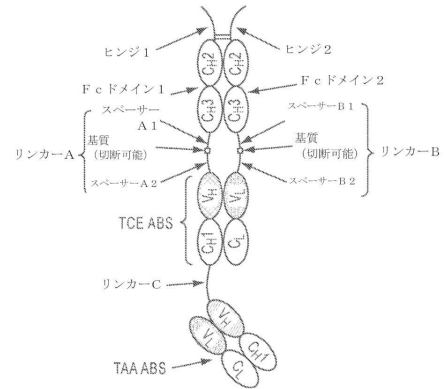


10

【図 6】



【図 7】



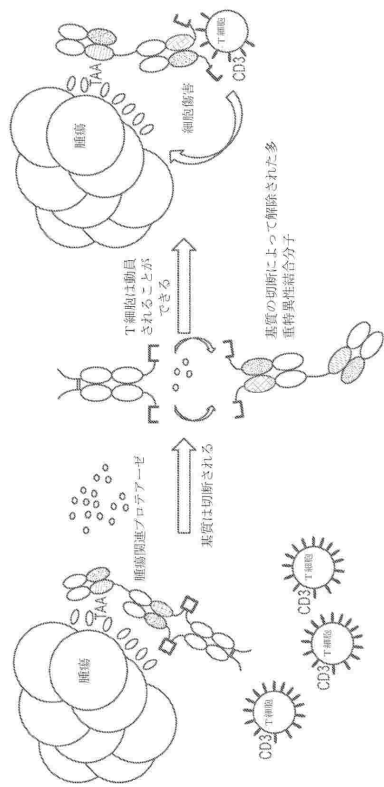
20

30

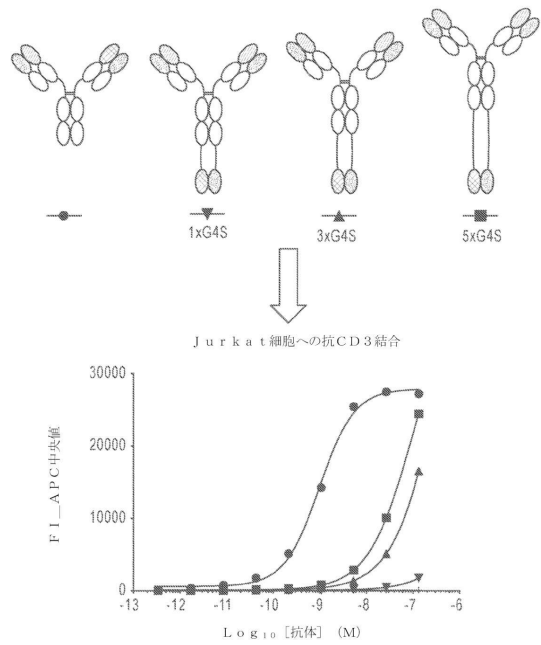
40

50

【図 8】



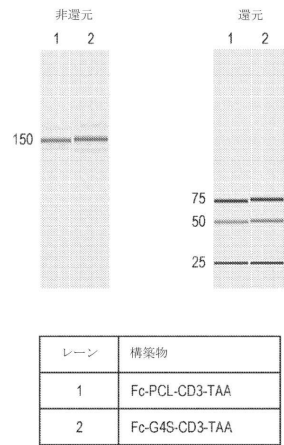
【図 9】



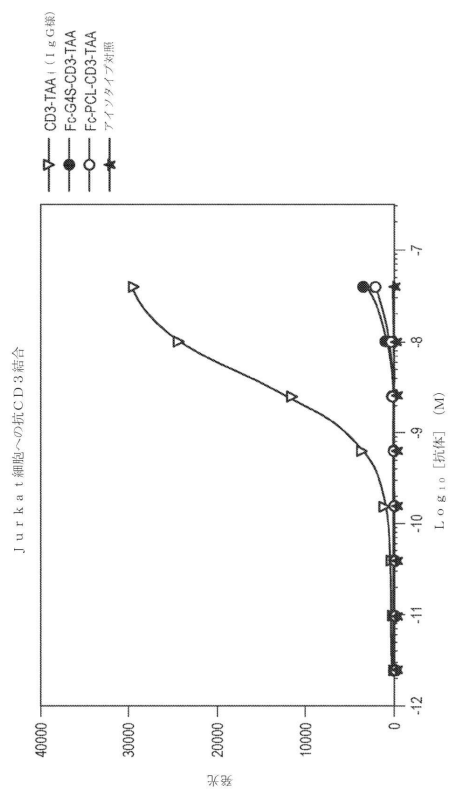
10

20

【図 10】



【図 11】



30

40

50

【配列表】

2025516596000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/066841

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07K16/00 C07K16/28 C07K16/30
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	S. METZ ET AL: "Bispecific antibody derivatives with restricted binding functionalities that are activated by proteolytic processing", PROTEIN ENGINEERING DESIGN AND SELECTION, vol. 25, no. 10, 1 October 2012 (2012-10-01), pages 571-580, XP055069824, ISSN: 1741-0126, DOI: 10.1093/protein/gzs064 The whole document, in particular, Fig.1; Table 1 ----- -/--	1-28, 39-50

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 July 2023

Date of mailing of the international search report

08/08/2023

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Chapman, Rob

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/066841

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 13ter.1(a)).
- ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/066841**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.: **29-38**
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:

30

40

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/066841

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WEN-WEI LIN ET AL: "Ab locks for improving the selectivity and safety of antibody drugs", JOURNAL OF BIOMEDICAL SCIENCE, vol. 27, no. 1, 25 June 2020 (2020-06-25), pages 1-20, XP055751564, Do ISSN: 1423-0127, DOI: 10.1186/s12929-020-00652-z The whole document, in particular, Fig.5 -----	1-28, 39-50
X	XUEJUN FAN ET AL: "A single proteolytic cleavage within the lower hinge of trastuzumab reduces immune effector function and in vivo efficacy", BREAST CANCER RESEARCH, CURRENT MEDICINE GROUP LTD, GB, vol. 14, no. 4, 8 August 2012 (2012-08-08), page R116, XP021123342, ISSN: 1465-5411, DOI: 10.1186/BCR3240 The whole document, in particular, Fig.2 -----	1
A	ELTER ADRIAN ET AL: "Protease-Activation of Fc-Masked Therapeutic Antibodies to Alleviate Off-Tumor Cytotoxicity", FRONTIERS IN IMMUNOLOGY, vol. 12, 3 August 2021 (2021-08-03), XP093048541, DOI: 10.3389/fimmu.2021.715719 The whole document, in particular, Fig.1 -----	1

International Application No. PCT/US2023 /066841

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 29-38

Present claims 29 - 38 encompass compounds by reference only to the description contrary to Rule 6.2(a) PCT, or defined only by their desired function, contrary to the requirements of clarity of Article 6 PCT, because the result-to-be-achieved type of definition does not allow the scope of the claim to be ascertained. The fact that any compound could be screened does not overcome this objection, as the skilled person would not have knowledge beforehand as to whether it would fall within the scope claimed, except for the compounds disclosed in the description. Undue experimentation would be required to screen compounds randomly. The non-compliance with the substantive provisions is to such an extent that no meaningful search of claims 29- 38 could be carried out at all (Article 17(2) PCT).

The applicant/representative was informed that the search is the responsibility of the ISA under Chapter I of the PCT, the procedure before the ISA is closed and that there is no provision in the PCT for a review of or an appeal against the findings of the ISA by the IPEA.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guidelines C-IV, 7.2), should the problems which led to the Article 17(2) PCT declaration be overcome.

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 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63	Z
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
	A 6 1 P 35/00	

(32)優先日 令和5年3月13日(2023.3.13)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(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,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,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,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,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,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW)

弁理士 中村 美樹

(72)発明者 ハイバー、ローリック

アメリカ合衆国 1 0 5 9 1 ニューヨーク州 タリータウン オールド ソー ミル リバー ロード
7 7 7 リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内

(72)発明者 クロフォード、アリソン

アメリカ合衆国 1 0 5 9 1 ニューヨーク州 タリータウン オールド ソー ミル リバー ロード
7 7 7 リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内

(72)発明者 チャン、トン

アメリカ合衆国 1 0 5 9 1 ニューヨーク州 タリータウン オールド ソー ミル リバー ロード
7 7 7 リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内

(72)発明者 スミス、エリック

アメリカ合衆国 1 0 5 9 1 ニューヨーク州 タリータウン オールド ソー ミル リバー ロード
7 7 7 リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内

(72)発明者 リン、チャーヤン

アメリカ合衆国 1 0 5 9 1 ニューヨーク州 タリータウン オールド ソー ミル リバー ロード
7 7 7 リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内

F ターム (参考) 4B064 AG27 CA19 CC24 DA05

4B065 AA01X AA57X AA72X AA87X AA92Y AA94Y AB01 AC14 BA02 CA25
CA44

4C085 AA13 AA14 BB41 BB42 BB44 DD62 EE01 GG01

4H045 AA11 AA20 AA30 DA76 EA28 FA74

【要約の続き】

、及び抗原結合分子プロタンパク質を産生する方法を更に提供する。

【選択図】 図 3 B