(19)日本国特許庁(JP)　　(12)公開特許公報(A)　　(11)公開番号
特開2025-16554
(P2025-16554A)
(43)公開日　令和7年2月4日(2025.2.4)

(51)国際特許分類　　FI
C07K 7/06 (2006.01)　　C07K 7/06　　ZNA
C07K 7/08 (2006.01)　　C07K 7/08
C07K 16/00 (2006.01)　　C07K 16/00
C07K 14/00 (2006.01)　　C07K 14/00
C07K 19/00 (2006.01)　　C07K 19/00
審査請求　有　請求項の数　16　　OL　外国語出願　（全177頁）　最終頁に続く

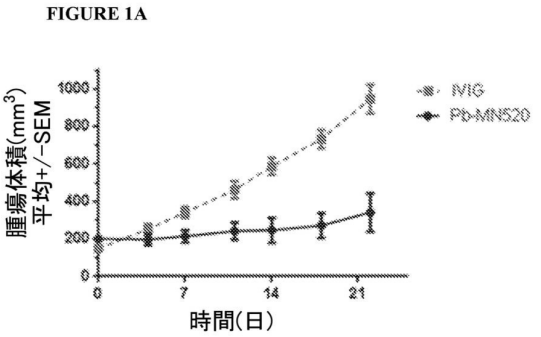
(21)出願番号　特願2024-186751(P2024-186751)
(22)出願日　令和6年10月23日(2024.10.23)
(62)分割の表示　特願2023-122426(P2023-122426)の分割
原出願日　平成26年9月25日(2014.9.25)
(31)優先権主張番号　61/882,377
(32)優先日　平成25年9月25日(2013.9.25)
(33)優先権主張国・地域又は機関　米国(US)
(31)優先権主張番号　61/971,332
(32)優先日　平成26年3月27日(2014.3.27)
(33)優先権主張国・地域又は機関　米国(US)

（特許庁注：以下のものは登録商標）
最終頁に続く

(71)出願人　514270641
シトムクス セラピューティクス，インコーポレイティド
アメリカ合衆国，カリフォルニア ９４０８０，サウス サンフランシスコ，オイスター ポイント ブールバード １５１，スイート ４００
(74)代理人　100099759
弁理士　青木 篤
(74)代理人　100123582
弁理士　三橋 真二
(74)代理人　100117019
弁理士　渡辺 陽一
(74)代理人　100141977
弁理士　中島 勝
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　マトリックスメタロプロテイナーゼ基質及び他の切断可能部分並びにそれらの使用方法

(57)【要約】
【課題】プロテアーゼのための新規基を同定し、そして種々の治療的、診断的及び予防的適用のためにそれらの基質を使用する必要性が存在する。
【解決手段】本発明は一般的に、少なくとも１つのマトリックス・メタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）のための基質である切断可能部分を含むポリペプチド、少なくとも１つのＭＭＰプロテアーゼのための基質である切断可能部分を含む活性化可能抗体及び他の大分子、及び少なくとも１つのＭＭＰプロテアーゼのための基質である切断可能部分を含むそれらのポリペプチドの製造方法及び種々の治療的、診断的及び予防的適用のためへのそれらの使用方法に関する。
【選択図】図１Ａ



【特許請求の範囲】
【請求項１】
配列番号３５３～３６３、３７２～３７５、３７６～３７８、３９５～４０１、４１１～４１９、４２６～４３３、４３７～４４９、４５４～４５６、４５９～４６９、４７５～４８２、４８７～４９５、３１８～３２３、３２５～３２７、３３０～３３５、３４１～３４７、１４～３３、及び１５９から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドであって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項２】
前記ＣＭが、配列番号３５３～３６３、３７２～３７５、３７６～３７８、３９５～４０１、４１１～４１９、４２６～４３３、４３７～４４９、４５４～４５６、４５９～４６９、４７５～４８２、及び４８７～４９５から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１に記載の単離ポリペプチド。
【請求項３】
前記ＣＭが、配列番号３１８～３２３、３２５～３２７、３３０～３３５、及び３４１～３４７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１に記載の単離ポリペプチド。
【請求項４】
前記ＣＭが、配列番号１４～３３及び１５９から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１に記載の単離ポリペプチド。
【請求項５】
配列番号３５３～３６３から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドであって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項６】
配列番号３７２～３７５から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドあって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項７】
配列番号３７６～３７８から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドあって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項８】
配列番号３９５～４０１から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドあって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項９】
配列番号４１１～４１９から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドあって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項１０】
配列番号４２６～４３３から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドあって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項１１】
配列番号４３７～４４９から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドあって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項１２】
配列番号４５４～４５６から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分

（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドあって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項１３】
配列番号４５９～４６９から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドあって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項１４】
配列番号４７５～４８２から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドあって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項１５】
配列番号４８７～４９５から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドあって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項１６】
配列番号３１８～３２３から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドあって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項１７】
配列番号３２５～３２７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドあって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項１８】
配列番号３３０～３３５から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドあって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項１９】
配列番号３４１～３４７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドあって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項２０】
配列番号３６４～３７０、３７９～３９３、４０２～４０９、４２０～４２４、４３４、４３５、４５０～４５２、４５７、４７０～４７２、４７４、及び４８３から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドあって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項２１】
配列番号３２８、３３６～３３９、及び３４８～３５１から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドあって、ここで、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質である、単離ポリペプチド。
【請求項２２】
前記ＣＭが、少なくとも１つのマトリックス・メタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）により切断される、請求項１～２１の何れか１項に記載の単離ポリペプチド。
【請求項２３】
前記ＣＭが、ＭＭＲ９又はＭＭＰ１４の少なくとも１つにより切断される、請求項２２に記載の単離ポリペプチド。
【請求項２４】
前記ＣＭが、少なくともＭＭＰ１４により切断される、請求項２に記載の単離ポリペプチド。
【請求項２５】
前記ＣＭが、少なくともＭＭＰ９により切断される、請求項３に記載の単離ポリペプチ

ド。
【請求項２６】
前記ポリペプチドが、標的を結合する抗体又はその抗原結合フラグメントを含む、請求項１～２１の何れか１項に記載の単離ポリペプチド。
【請求項２７】
前記ＣＭが、前記標的と組織において共局在するプロテアーゼのための基質である、請求項２６に記載の単離ポリペプチド。
【請求項２８】
前記その抗原結合フラグメントが、Ｆａｂフラグメント、Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメント、ｓｃＦｖ，ｓｃａｂ、ｄＡｂ、単一ドメインＨ鎖抗体、及び単一ドメインＬ鎖抗体から成る群から選択される、請求項２６に記載の単離ポリペプチド。
【請求項２９】
前記ＡＢが、前記ＣＭに連結される、請求項２６に記載の単離ポリペプチド。
【請求項３０】
前記ＡＢが、前記ＣＭに直接連結される、請求項２９に記載の単離ポリペプチド。
【請求項３１】
前記ＡＢが、連結ペプチドを介して前記ＣＭに結合される、請求項２９に記載の単離ポリペプチド。
【請求項３２】
前記単離ポリペプチドが、マスキング部分（ＭＭ）を含み、ここで、前記ＭＭが、標的への結合についてのＡＢの平衡解離定数よりも高い、ＡＢへの結合についての平衡解離定数を有する、請求項２６に記載の単離ポリペプチド。
【請求項３３】
前記ＭＭが、４０個以下のアミノ酸の長さのポリペプチドである、請求項３２に記載の単離ポリペプチド。
【請求項３４】
前記ＭＭが、未切断状態での前記単離ポリペプチドが、次のようなＮ－末端からＣ－末端への構造配置：ＭＭ－ＣＭ－ＡＢ又はＡＢ－ＣＭ－ＭＭを含むように、前記ＣＭに結合される、請求項３２に記載の単離ポリペプチド。
【請求項３５】
前記単離ポリペプチドが、前記ＭＭと前記ＣＭとの間に連結ペプチドを含む、請求項３４に記載の単離ポリペプチド。
【請求項３６】
前記単離ポリペプチドが、前記ＣＭと前記ＡＢとの間に連結ペプチドを含む、請求項３４に記載の単離ポリペプチド。
【請求項３７】
前記単離ポリペプチドが、第１連結ペプチド（ＬＰ１）及び第２連結ペプチド（ＬＰ２）を含み、そして前記単離ポリペプチドが、次のようなＮ－末端からＣ－末端への構造配置：ＭＭ－ＬＰ１－ＣＭ－ＬＰ２－ＡＢ、又はＡＢ－ＬＰ２－ＣＭ－ＬＰ１－ＭＭを有する、請求項３４に記載の単離ポリペプチド。
【請求項３８】
前記２種の連結ペプチドが、お互いに同一である必要がない、請求項３７に記載の単離ポリペプチド。
【請求項３９】
各ＬＰ１及びＬＰ２が、約１～２０個のアミノ酸の長さのペプチドである、請求項３７に記載の単離ポリペプチド。
【請求項４０】
前記ＭＭのアミノ酸配列が、前記標的の配列とは異なり、そして前記ＡＢの天然の結合パートナーのアミノ酸配列に対して５０％以下の同一性である、請求項３２に記載の単離ポリペプチド。

【請求項４１】
前記ＭＭが、切断された状態で標的に結合するために、前記ＡＢに干渉しないか、又は前記ＡＢと競争しない、請求項３２に記載の単離ポリペプチド。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願
本出願は、２０１３年９月２５日に提出された米国特許仮出願第６１／８８２，３７７号及び２０１４年３月２７日に提出された米国特許仮出願第６１／９７１，３３２号の利益を主張し、その内容は参照により全体が本明細書に組込まれる。
【０００２】
本発明は一般的に、少なくとも１つのマトリックス・メタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）のための基質である切断可能部分を含むポリペプチド、少なくとも１つのＭＭＰプロテアーゼのための基質である切断可能部分を含む活性化可能抗体及び他の大分子、及び少なくとも１つのＭＭＰプロテアーゼのための基質である切断可能部分を含むそれらのポリペプチドの製造方法及び種々の治療的、診断的及び予防的適用のためへのそれらの使用方法に関する。
【背景技術】
【０００３】
プロテアーゼは、アミノ酸残基間のペプチド結合を切断することにより、タンパク質を分解する酵素である。プロテアーゼは天然において、すべての生物に存在し、そして単純な分野から高度に制御された経路までの種々の生理的反応に関与している。いくつかのプロテアーゼは、タンパク質内の特定のアミノ酸配列の存在に基づいて、特定のペプチド結合を分離することが知られている。
【０００４】
従って、プロテアーゼのための新規基を同定し、そして種々の治療的、診断的及び予防的適用のためにそれらの基質を使用する必要性が存在する。
【発明の概要】
【０００５】
本開示は、少なくとも１つのマトリックス・メタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）のための基質である切断可能部分（ＣＭ）を含むアミノ酸配列を提供する。それらのＣＭは、種々の治療的、診断的及び予防的適用において有用である。
【０００６】
いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくとも１つのマトリックス・メタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）のための基質である。ＭＭＰの例としては、次のものを包含する：ＭＭＰ１；ＭＭＰ２；ＭＭＰ３；ＭＭＰ７；ＭＭＰ８；ＭＭＰ９；ＭＭＰ１０；ＭＭＰ１１；ＭＭＰ１２；ＭＭＰ１３；ＭＭＰ１４；ＭＭＰ１５；ＭＭＰ１６;ＭＭＰ１７；ＭＭＰ１９；ＭＭＰ２０；ＭＭＰ２３；ＭＭＰ２４；ＭＭＰ２６；及び ＭＭＰ２７。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、ＭＭＰ９、ＭＭＰ１４、ＭＭＰｌ、ＭＭＰ３、ＭＭＰ１３、ＭＭＰｌ７、ＭＭＰｌ１、及び ＭＭＰｌ９のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、ＭＭＰ９のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、ＭＭＰ１４のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、複数のＭＭＰのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくともＭＭＰ９及びＭＭＰ１４のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、同じＭＭＰのための複数の基質を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくとも複数のＭＭＰ９基質を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくとも複数のＭＭＰ１４基質を含む。
【０００７】
いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、ＭＭＰのための基質であり、そして配列ＩＳＳＧＬＬＳＳ（配列番号１４）；ＱＮＱＡＬＲＭＡ （配列番号１５）；ＡＱＮＬＬＧＭＶ（配列番号１６）；ＳＴＦＰＦＧＭＦ（配列番号１７）；ＰＶＧＹＴＳＳＬ（配列番号１８）；

ＤＷＬＹＷＰＧＩ（配列番号１９）；ＭＩＡＰＶＡＹＲ（配列番号２０）；ＲＰＳＰＭＷＡＹ（配列番号２１）；ＷＡＴＰＲＰＭＲ（配列番号２２）；ＦＲＬＬＤＷＱＷ（配列番号２３）；ＬＫＡＡＰＲＷＡ（配列番号２４）；ＧＰＳＨＬＶＬＴ（配列番号２５）；ＬＰＧＧＬＳＰＷ（配列番号２６）;ＭＧＬＦＳＥＡＧ（配列番号２７）；ＳＰＬＰＬＲＶＰ（配列番号２８）；ＲＭＨＬＲＳＬＧ（配列番号２９）；ＬＡＡＰＬＧＬＬ（配列番号３０）；ＡＶＧＬＬＡＰＰ（配列番号３１）；ＬＬＡＰＳＨＲＡ（配列番号３２）；ＰＡＧＬＷＬＤＰ（配列番号３３）；及び/又はＩＳＳＧＬＳＳ（配列番号１５９）を包含する。

【０００８】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＩＳＳＧＬＬＳＳ（配列番号１４）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＱＮＱＡＬＲＭＡ（配列番号１５）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＡＱＮＬＬＧＭＶ（配列番号１６）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＳＴＦＰＦＧＭＦ（配列番号１７）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＰＶＧＹＴＳＳＬ（配列番号１８）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＤＷＬＹＷＰＧＩ（配列番号１９）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＭＩＡＰＶＡＹＲ（配列番号２０）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＲＰＳＰＭＷＡＹ（配列番号２１）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＷＡＴＰＲＰＭＲ（配列番号２２）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＦＲＬＬＤＷＱＷ（配列番号２３）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＫＡＡＰＲＷＡ（配列番号２４）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＧＰＳＨＬＶＬＴ（配列番号２５）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＰＧＧＬＳＰＷ（配列番号２６）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＭＧＬＦＳＥＡＧ（配列番号２７）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＳＰＬＰＬＲＶＰ（配列番号２８）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＲＭＨＬＲＳＬＧ（配列番号２９）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＡＡＰＬＧＬＬ（配列番号３０）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＡＶＧＬＬＡＰＰ（配列番号３１）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＬＡＰＳＨＲＡ（配列番号３２）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＰＡＧＬＷＬＤＰ（配列番号３３）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＩＳＳＧＬＳＳ（配列番号１５９）を含む。

【０００９】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、抗体に連結されるか、又は他方では、結合される。例えば、ＣＭは所定の標的を結合する抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ）に１又は２以上の剤を連結するために使用され、結果的に、ＣＭは、ＭＭＰに暴露される場合、切断され、そして剤がＡＢから放出される。典型的な標的は、表１に示される標的を包含するが、但しそれらだけには制限されない。典型的なＡＢは、表２に示される標的を包含するが、但しそれらだけには制限されない。いくつかの実施形態によれば、未切断状態での抗体は、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：剤－ＣＭ－ＡＢ又はＡＢ－Ｍ－剤。いくつかの実施形態によれば、抗体は、ＡＢとＣＭとの間に連結ペプチドを含む。いくつかの実施形態によれば、抗体は、ＣＭと接合された剤との間に連結ペプチドを含む。

【００１０】

いくつかの実施形態によれば、抗体は、第１連結ペプチド（ＬＰ１）及び第２連結ペプチド（ＬＰ２）を含み、そして未切断状態での抗体は、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：剤－ＬＰ１－ＣＭ－ＬＰ２－ＡＢ又はＡＢ－ＬＰ２－ＣＭ－ＬＰ１－剤。いくつかの実施形態によれば、各ＬＰ１及びＬＰ２は、約１～２０個の長さのアミノ酸のペプチドである。いくつかの実施形態によれば、２種の連結ペプチドは、お互い同一である必要はない。

【００１１】
いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、（ＧＳ）$_n$、（ＧＧＳ）$_n$、（ＧＳＧＧＳ）$_n$（配列番号１）及び（ＧＧＧＳ）$_n$（配列番号２）（ｎは少なくとも１つの整数である）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。
【００１２】
いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、ＧＧＳＧ（配列番号３）、ＧＧＳＧＧ（配列番号４）、ＧＳＧＳＧ（配列番号５）、ＧＳＧＧＧ（配列番号６）、ＧＧＧＳＧ（配列番号７）、及び ＧＳＳＳＧ（配列番号８）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。
【００１３】
いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１は、アミノ酸配列ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号９）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧ（配列番号１０）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳ（配列番号１１）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１５５）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号１５６）、又はＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＳ（配列番号１５７）を含む。
【００１４】
いくつかの実施形態によれば。ＬＰ２は、アミノ酸配列ＧＳＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１５８）、ＧＳＳＧＴ（配列番号１２）又は ＧＳＳＧ（配列番号１３）を含む。
【００１５】
いくつかの実施形態によれば、ＡＢは、標的への結合のために、約１００ｎＭ又はそれ以下の平衡解離定数を有する。
【００１６】
いくつかの実施形態によれば、抗体は、標的を特異的に結合する抗体又はその抗原結合フラグメントを含む。いくつかの実施形態によれば、標的を結合する抗体又はその免疫学的活性フラグメントは、モノクローナル抗体、ドメイン、抗体、一本鎖、Ｆａｂフラグメント、Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメント、ｓｃＦｖ、ｓｃＡｂ，ｄＡｂ、単一ドメインＨ鎖抗体、及び単一ドメインＬ鎖抗体である。いくつかの実施形態によれば、標的を結合するそのような抗体又はその免疫学的活性フラグメントは、マウス、他の齧歯類、ヒト化又は完全ヒトモノクローナル抗体である。
【００１７】
いくつかの実施形態によれば、ＭＭＰプロテアーゼは、組織において標的と共局在化され、そしてＭＭＰプロテアーゼは、抗体がプロテアーゼに暴露される場合、抗体におけるＣＭを切断する。
【００１８】
いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、１５個までの長さのアミノ酸のポリペプチドである。
【００１９】
いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくとも１つのマトリックス・メタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）のための基質である。ＭＭＰの例としては、次のものを包含する：ＭＭＰ１；ＭＭＰ２；ＭＭＰ３；ＭＭＰ７；ＭＭＰ８；ＭＭＰ９；ＭＭＰ１０；ＭＭＰ１１；ＭＭＰ１２；ＭＭＰ１３；ＭＭＰ１４；ＭＭＰ１５；ＭＭＰ１６;ＭＭＰ１７；ＭＭＰ１９；ＭＭＰ２０；ＭＭＰ２３；ＭＭＰ２４；ＭＭＰ２６；及び ＭＭＰ２７。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、ＭＭＰ９、ＭＭＰ１４、ＭＭＰｌ、ＭＭＰ３、ＭＭＰ１３、ＭＭＰｌ７、ＭＭＰｌ１、及び ＭＭＰｌ９のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、ＭＭＰ９のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、ＭＭＰ１４のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、複数のＭＭＰのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくともＭＭＰ９及びＭＭＰ１４のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、同じＭＭＰのための複数の基質を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくとも複数のＭＭＰ９基質を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくとも複数のＭＭＰ１４基質を含む。
【００２０】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、ＭＭＰのための基質であり、そして配列ＩＳＳＧＬＬＳＳ（配列番号１４）；ＱＮＱＡＬＲＭＡ（配列番号１５）；ＡＱＮＬＬＧＭＶ（配列番号１６）；ＳＴＦＰＦＧＭＦ（配列番号１７）；ＰＶＧＹＴＳＳＬ（配列番号１８）；ＤＷＬＹＷＰＧＩ（配列番号１９）；ＭＩＡＰＶＡＹＲ（配列番号２０）；ＲＰＳＰＭＷＡＹ（配列番号２１）；ＷＡＴＰＲＰＭＲ（配列番号２２）；ＦＲＬＬＤＷＱＷ（配列番号２３）；ＬＫＡＡＰＲＷＡ（配列番号２４）；ＧＰＳＨＬＶＬＴ（配列番号２５）；ＬＰＧＧＬＳＰＷ（配列番号２６）;ＭＧＬＦＳＥＡＧ（配列番号２７）；ＳＰＬＰＬＲＶＰ（配列番号２８）；ＲＭＨＬＲＳＬＧ（配列番号２９）；ＬＡＡＰＬＧＬＬ（配列番号３０）；ＡＶＧＬＬＡＰＰ（配列番号３１）；ＬＬＡＰＳＨＲＡ（配列番号３２）；ＰＡＧＬＷＬＤＰ（配列番号３３）；及び/又はＩＳＳＧＬＳＳ（配列番号１５９）を包含する。

【００２１】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＩＳＳＧＬＬＳＳ（配列番号１４）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＱＮＱＡＬＲＭＡ（配列番号１５）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＡＱＮＬＬＧＭＶ（配列番号１６）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＳＴＦＰＦＧＭＦ（配列番号１７）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＰＶＧＹＴＳＳＬ（配列番号１８）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＤＷＬＹＷＰＧＩ（配列番号１９）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＭＩＡＰＶＡＹＲ（配列番号２０）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＲＰＳＰＭＷＡＹ（配列番号２１）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＷＡＴＰＲＰＭＲ（配列番号２２）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＦＲＬＬＤＷＱＷ（配列番号２３）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＫＡＡＰＲＷＡ（配列番号２４）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＧＰＳＨＬＶＬＴ（配列番号２５）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＰＧＧＬＳＰＷ（配列番号２６）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＭＧＬＦＳＥＡＧ（配列番号２７）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＳＰＬＰＬＲＶＰ（配列番号２８）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＲＭＨＬＲＳＬＧ（配列番号２９）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＡＡＰＬＧＬＬ（配列番号３０）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＡＶＧＬＬＡＰＰ（配列番号３１）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＬＡＰＳＨＲＡ（配列番号３２）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＰＡＧＬＷＬＤＰ（配列番号３３）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＩＳＳＧＬＳＳ（配列番号１５９）を含む。

【００２２】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくとも１つのマトリックス・メタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）のための基質であり、そしてＭＭＰ９により認識されるモチーフ配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくとも１つのＭＭＰのための基質であり、そしてＭＭＰ１４により認識されるモチーフ配列を含む。

【００２３】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくとも１つのＭＭＰのための基質であり、そしてＣＭポリペプチド、及び／又はＣＭを含む任意のポリペプチドのＣＭ部分は、５０未満の長さのアミノ酸、４０未満の長さのアミノ酸、３０未満の長さのアミノ酸、２５未満の長さのアミノ酸、２０未満の長さのアミノ酸、１９未満の長さのアミノ酸、１８未満の長さのアミノ酸、１７未満の長さのアミノ酸、１６未満の長さのアミノ酸、１５未満の長さのアミノ酸、１４未満の長さのアミノ酸、１３未満の長さのアミノ酸、１２未満の長さのアミノ酸、１１未満の長さのアミノ酸、又は１０未満の長さのアミノ酸を有するポリペプチドを含む。

【００２４】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくとも１つのＭＭＰのための基質であり、そして同じＭＭＰプロテアーゼにより、天然において切断される任意のヒトポリペプチド配列とは実質的に同一ではないポリペプチド配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくとも１つのＭＭＰのための基質であり、そして同じＭＭＰプロテアーゼにより、天然において切断される任意のヒトポリペプチド配列に対して、せいぜい９０％又はそれ以上、同一であるポリペプチド配列を含む。

【００２５】

いくつかの実施形態によれば、モチーフ配列は、少なくともＭＭＰのための基質であり、そして下記表８Ａ－８Ｍに示されるコアーＣＭコンセンサス配列を含む。いくつかの実施形態によれば、モチーフ配列は、下記表８Ａ－８Ｍに示されるコアーＣＭコンセンサス配列の下位部類、すなわち下位組を含む。

【００２６】

いくつかの実施形態によれば、モチーフ配列は、少なくともＭＭＰ９のための基質であり、そして表８Ａ－８Ｄに示されるコアーＣＭコンセンサス配列を含む。いくつかの実施形態によれば、モチーフ配列は、少なくともＭＭＰ９のための基質であり、そして下記表８Ａ－８Ｄに示されるコアーＣＭコンセンサス配列の下位部類、すなわち下位組を含む。

【００２７】

いくつかの実施形態によれば、モチーフ配列は、少なくともＭＭＰ１４のための基質であり、そして表８Ｅ－８Ｍに示されるコアーＣＭコンセンサス配列を含む。いくつかの実施形態によれば、モチーフ配列は、少なくともＭＭＰ１４のための基質であり、そして下記表８Ｅ－８Ｍに示されるコアーＣＭコンセンサス配列の下位部類、すなわち下位組を含む。

【００２８】

表８Ａ.ＭＭＰ９切断可能コアーＣＭコンセンサス配列１

【表１】

コアCMコンセンサス１	コアCMコンセンサス１（subgenus）
$X_{22}X_{23}X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}$（配列番号317），（式中、$X_{22}$はA，C，D，G，H，L，P，R，又はS；$X_{23}$はL，M，P，S，又はT；$X_{24}$はA，D，F，G，L，M，N，P，R，S，T，又はV；X_{25}はA，D，E，G，H，I，M，P，S，又はV；X_{26}はA，C，D，G，L，M，N，R，V，W，又はY；X_{27}はC，F，G，H，P，Q，R，T，V，又はW；X_{28}はA，D，G，L，M，S，T，V，又はY；及びX_{29}はC，H，L，R，S，V，W，又はYである。）	Subgenus1.1：$X_{22}X_{23}X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}$（配列番号318），（式中、$X_{22}$はG，P，R，又はS；$X_{23}$はP又はS；$X_{24}$はL，M，P，又はS；$X_{25}$はA，G，P，又はS；$X_{26}$はL，M，又はR；$X_{27}$はG又はW；$X_{28}$はA，G，S，又はY；及び$X_{29}$はL，R，V，又はYである。）
	Subgenus1.2：$X_{22}X_{23}X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}$（配列番号319），（式中、$X_{22}$はG，P又はR；$X_{23}$はP；$X_{24}$はL，M又はS；$X_{25}$はG，P，又はS；$X_{26}$はL，M，又はR；$X_{27}$はW；$X_{28}$はA，G，又はS；及び$X_{29}$はR，V，又はYである。）
	Subgenus1.3：$X_{22}X_{23}X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}$（配列番号320），（式中、$X_{22}$はP又はR；$X_{23}$はP；$X_{24}$はM又はS；$X_{25}$はG又はP；$X_{26}$はL，M，又はR；$X_{27}$はW；$X_{28}$はA，G，又はS；及び$X_{29}$はR，V，又はYである。）
	Subgenus1.4：$X_{22}X_{23}X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}$（配列番号321），（式中、$X_{22}$はP又はR；$X_{23}$はP；$X_{24}$はS；$X_{25}$はG又はP；$X_{26}$はM，又はR；$X_{27}$はW；$X_{28}$はA　G，又はS；及び$X_{29}$はV又はYである。）
	Subgenus1.5：$X_{22}X_{23}X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}$（配列番号322），（式中、$X_{22}$はP又はR；$X_{23}$はP；$X_{24}$はS；$X_{25}$はG又はP；$X_{26}$はM，又はR；$X_{27}$はW；$X_{28}$はA又はS；及び$X_{29}$はYである。）
	Subgenus1.6：$X_{22}X_{23}X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}$（配列番号323），（式中、$X_{22}$はC，G，H，L，又はR；$X_{23}$はP，S又はT；$X_{24}$はN，R，S又はT；$X_{25}$はP又はS；$X_{26}$はC，M，R，V，又はW；$X_{27}$はC，P，R，又はW；$X_{28}$はA，D，又はG；及び$X_{29}$はC又はYである。）

【００２９】

表８Ｂ.ＭＭＰ９切断可能コアーＣＭコンセンサス配列２

【表２】

コアCMコンセンサス２	コアCMコンセンサス２（subgenus）
$X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$（配列番号324），（式中、$X_{32}$はF，G，V，又はW；$X_{33}$はA，D，L，M，P，R，T，又はV；$X_{34}$はC，G，H，L，Q，S，T，W，$X_{35}$はD，G，L，P；$X_{36}$はE，G，I，L，N，P，R，又はV；$X_{37}$はG，L，P，R，S，又はV；$X_{38}$はA，I，L，M，T，又はV；及び$X_{39}$はA，G，L，P，Q，R，S，又はVである。）	Subgenus2.1：$X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$（配列番号325），（式中、$X_{32}$はW；$X_{33}$はD，P，又はT；$X_{34}$はH，Q，又はW；$X_{35}$はD又はP；$X_{36}$はI又はR；$X_{37}$はS；$X_{38}$はL，M，又はV；及び$X_{39}$はG，L，又はSである。）
	Subgenus2.2：$X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$（配列番号326），（式中、$X_{32}$はW；$X_{33}$はD；$X_{34}$はH，Q，又はW；$X_{35}$はD又はP；$X_{36}$はI又はR；$X_{37}$はG，S又はV；$X_{38}$はL，M，又はV；及び$X_{39}$はG，L，又はSである。）
	Subgenus2.3：$X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$（配列番号327），（式中、$X_{32}$はW；$X_{33}$はD；$X_{34}$はH，Q，又はW；$X_{35}$はP；$X_{36}$はI又はR；$X_{37}$はS；$X_{38}$はL，M，又はV；及び$X_{39}$はLである。）

【００３０】

表８Ｃ.ＭＭＰ９切断可能コアーＣＭコンセンサス配列３

【表３】

コアCMコンセンサス３	コアCMコンセンサス３（subgenus）
$X_{42}X_{43}X_{44}X_{45}X_{46}X_{47}X_{48}X_{49}$（配列番号329）．（式中、$X_{42}$はＧ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｐ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；$X_{43}$はＡ，Ｄ，Ｈ，Ｉ，Ｌ，Ｐ，Ｓ，又はＴ；$X_{44}$はＦ，Ｌ，Ｓ，又はＶ；$X_{45}$はＨ，Ｌ．Ｍ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，又はＴ；$X_{46}$はＡ，Ｄ，Ｆ，Ｇ，Ｌ，Ｍ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；$X_{47}$はＡ，Ｃ，Ｇ，Ｈ，Ｑ，Ｔ又はＹ；$X_{48}$はＣ，Ｇ，Ｉ，Ｍ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，又はＷ；及び$X_{49}$はＦ，Ｌ，Ｓ，又はＹである。）	Subgenus3.1：$X_{42}X_{43}X_{44}X_{45}X_{46}X_{47}X_{48}X_{49}$（配列番号330），（式中、$X_{42}$はＩ，Ｌ，Ｍ，又はＳ；$X_{43}$はＤ，Ｐ，Ｓ，又はＴ；$X_{44}$はＦ，Ｌ，Ｓ，又はＶ；$X_{45}$はＬ．Ｐ，又はＳ；$X_{46}$はＡ，Ｆ，Ｒ，Ｓ，又はＴ；$X_{47}$はＧ，Ｈ，Ｔ又はＹ；$X_{48}$はＧ，Ｉ，Ｍ，Ｖ，又はＷ；及び$X_{49}$はＦ，Ｌ，又はＳである。）
	Subgenus3.2：$X_{42}X_{43}X_{44}X_{45}X_{46}X_{47}X_{48}X_{49}$（配列番号331），（式中、$X_{42}$はＬ，Ｍ，又はＳ；$X_{43}$はＳ又はＴ；$X_{44}$はＦ又はＬ；$X_{45}$はＰ；$X_{46}$はＡ，Ｆ，又はＴ；$X_{47}$はＧ，Ｈ，Ｔ又はＹ；$X_{48}$はＩ，Ｍ，又はＷ；及び$X_{49}$はＦである。）
	Subgenus3.3：$X_{42}X_{43}X_{44}X_{45}X_{46}X_{47}X_{48}X_{49}$（配列番号332），（式中、$X_{42}$はＬ，Ｍ，又はＳ；$X_{43}$はＳ又はＴ；$X_{44}$はＦ；$X_{45}$はＰ；$X_{46}$はＡ，Ｆ，又はＴ；$X_{47}$はＧ，Ｈ，又はＹ；$X_{48}$はＩ，Ｍ，又はＷ；及び$X_{49}$はＦである。）
	Subgenus3.4：$X_{42}X_{43}X_{44}X_{45}X_{46}X_{47}X_{48}X_{49}$（配列番号333），（式中、$X_{42}$はＬ又はＭ；$X_{43}$はＳ又はＴ；$X_{44}$はＦ；$X_{45}$はＰ；$X_{46}$はＡ又はＴ；$X_{47}$はＨ又はＹ；$X_{48}$はＩ又はＷ；及び$X_{49}$はＦである。）
	Subgenus3.5：$X_{42}X_{43}X_{44}X_{45}X_{46}X_{47}X_{48}X_{49}$（配列番号334），（式中、$X_{42}$はＧ，Ｉ，Ｒ，又はＳ；$X_{43}$はＨ又はＴ；$X_{44}$はＦ，Ｌ，Ｓ，又はＶ；$X_{45}$はＬ，Ｐ，又はＲ；$X_{46}$はＦ，Ｌ，又はＳ；$X_{47}$はＡ，Ｃ，又はＧ；$X_{48}$はＩ，Ｍ，又はＶ；及び$X_{49}$はＦ又はＬである。）
	Subgenus3.6：$X_{42}X_{43}X_{44}X_{45}X_{46}X_{47}X_{48}X_{49}$（配列番号335），（式中、$X_{42}$はＳ；$X_{43}$はＴ；$X_{44}$はＦ又はＶ；$X_{45}$はＬ又はＰ；$X_{46}$はＦ又はＬ；$X_{47}$はＧ；$X_{48}$はＩ又はＭ；及び$X_{49}$はＦである。）

【００３１】

表８Ｄ．ＭＭＰ９切断可能コアーＣＭコンセンサス配列４

【表４】

コアCMコンセンサス４	コアCMコンセンサス４（subgenus）
$X_{52}X_{53}X_{54}X_{55}X_{56}X_{57}X_{58}X_{59}$（配列番号340），（式中、 X_{52}はD，G，H，L，N，P，Q，R，S，W，又はY X_{53}はA，C，D，G，L，R，V，W，又はY； X_{54}はD，H，L，P，Q，R，S，又はY； X_{55}はD，F，H，I，L，M，P，S，又はY； X_{56}はA，C，E，F，G，K，M，R，S，V，又はW； X_{57}はA，G，K　L，M，N，P，R，S，又はT； X_{58}はA，F，G，H，L，P，R，S，又はT；及び X_{59}はA，G，H，I，N，P，S，T，又はYである。）	Subgenus4.1：$X_{52}X_{53}X_{54}X_{55}X_{56}X_{57}X_{58}X_{59}$（配列番号341），（式中、$X_{52}$はD，G，H，L，P，Q，S，又はY X_{53}はD，W，又はY；X_{54}はH，L，又はR；X_{55}はH，L，M，P，又はY；X_{56}はE，F，G，M，R，又はW；X_{57}はA，L，M，N，P，又はR；X_{58}はG，L，P，R，又はS；及びX_{59}はG，I，P，S，T，又はYである。）
	Subgenus4.2：$X_{52}X_{53}X_{54}X_{55}X_{56}X_{57}X_{58}X_{59}$（配列番号342），（式中、$X_{52}$はD又はH；$X_{53}$はW又はY；$X_{54}$はH又はL；$X_{55}$はH，L，又はY；$X_{56}$はG又はW；$X_{57}$はP又はR；$X_{58}$はG，L，又はP；及び$X_{59}$はG，I，S，又はTである。）
	Subgenus4.3：$X_{52}X_{53}X_{54}X_{55}X_{56}X_{57}X_{58}X_{59}$（配列番号343），（式中、$X_{52}$はH；$X_{53}$はW；$X_{54}$はH又はL；$X_{55}$はH，L，又はY；$X_{56}$はG又はW；$X_{57}$はP；$X_{58}$はL又はP；及び$X_{59}$はG，I，S，又はTである。）
	Subgenus4.4：$X_{52}X_{53}X_{54}X_{55}X_{56}X_{57}X_{58}X_{59}$（配列番号344），（式中、$X_{52}$はH；$X_{53}$はW；$X_{54}$はH又はL；$X_{55}$はL又はY；$X_{56}$はG；$X_{57}$はP；$X_{58}$はL又はP；及び$X_{59}$はG，I，S，又はTである。）
	Subgenus4.5：$X_{52}X_{53}X_{54}X_{55}X_{56}X_{57}X_{58}X_{59}$（配列番号345），（式中、$X_{52}$はH；$X_{53}$はW；$X_{54}$はH又はL　X_{55}はL又はY　X_{56}はG；X_{57}はP；X_{58}はP；及びX_{59}はTである。）
	Subgenus4.6：$X_{52}X_{53}X_{54}X_{55}X_{56}X_{57}X_{58}X_{59}$（配列番号346），（式中、$X_{52}$はD，G，S，又はY；$X_{53}$はW；$X_{54}$はL又はP；$X_{55}$はD又はY；$X_{56}$はC，E，G，又はW；$X_{57}$はM又はP；$X_{58}$はG，R，又はS；及び$X_{59}$はH，I，又はYである。）
	Subgenus4.7：$X_{52}X_{53}X_{54}X_{55}X_{56}X_{57}X_{58}X_{59}$（配列番号347），（式中、$X_{52}$はD，G，又はS；$X_{53}$はW；$X_{54}$はL；$X_{55}$はY；$X_{56}$はE又はW；$X_{57}$はM又はP；$X_{58}$はG又はS；及び$X_{59}$はI又はYである。）

【００３２】

表８Ｅ.ＭＭＰ１４切断可能コアーＣＭコンセンサス配列５

【表５】

コアCMコンセンサス５	コアCMコンセンサス５（subgenus）
$X_{62}X_{63}X_{64}X_{65}X_{66}X_{67}X_{68}X_{69}$（配列番号352），（式中、$X_{62}$はＡ，Ｉ，Ｇ，Ｌ，Ｍ，Ｐ，Ｑ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；$X_{63}$はＡ，Ｄ，Ｌ，Ｐ，Ｑ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，又はＹ；$X_{64}$はＡ，Ｃ，Ｅ，Ｆ，Ｇ，Ｈ，Ｋ，Ｌ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，又はＶ；X_{65}はＤ，Ｅ，Ｇ，Ｓ，又はＶ；X_{66}はＡ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，又はＶ；X_{67}はＣ，Ｅ，Ｇ，Ｉ，Ｋ，Ｌ，Ｍ，Ｎ，Ｑ，Ｒ，又はＹ；X_{68}はＡ，Ｆ，Ｈ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｎ，Ｐ，Ｒ，Ｓ，又はＴ；及びX_{69}はＡ，Ｃ，Ｇ，Ｈ，Ｉ，Ｌ，Ｎ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，又はＷである。）	Subgenus5.1：$X_{62}X_{63}X_{64}X_{65}X_{66}X_{67}X_{68}X_{69}$（配列番号353），（式中、$X_{62}$はＡ，Ｇ，Ｉ，Ｐ，Ｑ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；$X_{63}$はＡ，Ｌ，Ｑ，Ｓ，又はＶ；$X_{64}$はＡ，Ｅ，Ｌ，Ｒ，又はＳ；$X_{65}$はＤ又はＧ；$X_{66}$はＩ又はＬ；$X_{67}$はＥ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｑ，Ｒ，又はＹ；$X_{68}$はＦ，Ｈ，Ｌ，Ｍ，Ｒ，又はＳ；及び$X_{69}$はＡ，Ｇ，Ｈ，Ｌ，Ｎ，Ｐ，Ｑ，又はＳである。）
	Subgenus5.2：$X_{62}X_{63}X_{64}X_{65}X_{66}X_{67}X_{68}X_{69}$（配列番号354），（式中、$X_{62}$はＡ，Ｉ，Ｓ又はＴ；$X_{63}$はＬ，Ｑ，Ｓ，又はＶ；$X_{64}$はＡ，Ｌ，Ｒ，又はＳ；$X_{65}$はＧ；$X_{66}$はＩ又はＬ；$X_{67}$はＥ，Ｌ，Ｒ，又はＹ；$X_{68}$はＦ，Ｈ，Ｌ，Ｒ，又はＳ；及び$X_{69}$はＨ，Ｌ，Ｐ，又はＳである。）
	Subgenus5.3：$X_{62}X_{63}X_{64}X_{65}X_{66}X_{67}X_{68}X_{69}$（配列番号355），（式中、$X_{62}$はＡ，Ｉ，Ｓ又はＴ；$X_{63}$はＬ，Ｓ，又はＶ；$X_{64}$はＡ，Ｒ，又はＳ；$X_{65}$はＧ；$X_{66}$はＬ；$X_{67}$はＥ，Ｌ，又はＲ；$X_{68}$はＦ，Ｈ，又はＳ；及び$X_{69}$はＬ，Ｐ，又はＳである。）
	Subgenus5.4：$X_{62}X_{63}X_{64}X_{65}X_{66}X_{67}X_{68}X_{69}$（配列番号356），（式中、$X_{62}$はＡ，Ｉ，Ｓ又はＴ；$X_{63}$はＬ，Ｓ，又はＶ；$X_{64}$はＲ又はＳ；$X_{65}$はＧ；$X_{66}$はＬ；$X_{67}$はＬ又はＲ；$X_{68}$はＦ，Ｈ，又はＳ；及び$X_{69}$はＰ又はＳである。）
	Subgenus5.5：$X_{62}X_{63}X_{64}X_{65}X_{66}X_{67}X_{68}X_{69}$（配列番号357），（式中、$X_{62}$はＡ，Ｉ，Ｓ又はＴ；$X_{63}$はＬ，Ｓ，又はＶ；$X_{64}$はＲ又はＳ；$X_{65}$はＧ；$X_{66}$はＬ；$X_{67}$はＬ又はＲ；$X_{68}$はＳ；及び$X_{69}$はＰ又はＳである。）
	Subgenus5.6：$X_{62}X_{63}X_{64}X_{65}X_{66}X_{67}X_{68}X_{69}$（配列番号358），（式中、$X_{62}$はＴ；$X_{63}$はＬ，Ｓ，又はＶ；$X_{64}$はＳ；$X_{65}$はＧ；$X_{66}$はＬ；$X_{67}$はＲ；$X_{68}$はＳ；及び$X_{69}$はＰである。）

【００３３】

【表６】

コアCMコンセンサス５	コアCMコンセンサス５（subgenus）
	Subgenus5.7：$X_{62}X_{63}X_{64}X_{65}X_{66}X_{67}X_{68}X_{69}$（配列番号359），（式中、$X_{62}$はＡ，Ｇ，Ｉ，Ｍ，Ｐ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；$X_{63}$はＬ，Ｑ，Ｓ，又はＶ；$X_{64}$はＡ，Ｃ，Ｆ，Ｋ，Ｌ，Ｑ，Ｒ又はＳ；$X_{65}$はＤ，Ｇ，Ｓ，又はＶ；$X_{66}$はＬ又はＭ；$X_{67}$はＧ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｎ，Ｑ，又はＲ；$X_{68}$はＩ，Ｎ，Ｐ，又はＳ；及び$X_{69}$はＡ，Ｈ，Ｉ，Ｎ，Ｑ，又はＳである。）
	Subgenus5.8：$X_{62}X_{63}X_{64}X_{65}X_{66}X_{67}X_{68}X_{69}$（配列番号360），（式中、$X_{62}$はＡ，Ｉ，又はＳ；$X_{63}$はＬ，Ｑ，Ｓ，又はＶ；$X_{64}$はＬ，Ｒ又はＳ；$X_{65}$はＧ；$X_{66}$はＬ；$X_{67}$はＬ，Ｍ，又はＲ；$X_{68}$はＳ；及び$X_{69}$はＡ，Ｈ，Ｎ，Ｑ，又はＳである。）
	Subgenus5.9：$X_{62}X_{63}X_{64}X_{65}X_{66}X_{67}X_{68}X_{69}$（配列番号361），（式中、$X_{62}$はＡ，Ｉ，又はＳ；$X_{63}$はＬ，Ｑ，Ｓ，又はＶ；$X_{64}$はＬ，Ｒ又はＳ；$X_{65}$はＧ；$X_{66}$はＬ；$X_{67}$はＬ，Ｍ，又はＲ；$X_{68}$はＳ；及び$X_{69}$はＡ，Ｈ，Ｎ，Ｑ，又はＳである。）
	Subgenus5.10：$X_{62}X_{63}X_{64}X_{65}X_{66}X_{67}X_{68}X_{69}$（配列番号362），（式中、$X_{62}$はＡ又はＳ；$X_{63}$はＬ又はＶ；$X_{64}$はＬ又はＳ；$X_{65}$はＧ；$X_{66}$はＬ；$X_{67}$はＬ又はＲ；$X_{68}$はＳ；及び$X_{69}$はＨ，又はＳである。）
	Subgenus5.11：$X_{62}X_{63}X_{64}X_{65}X_{66}X_{67}X_{68}X_{69}$（配列番号363），（式中、$X_{62}$はＡ又はＳ；$X_{63}$はＬ又はＶ；$X_{64}$はＳ；$X_{65}$はＧ；$X_{66}$はＬ；$X_{67}$はＬ又はＲ；$X_{68}$はＳ；及び$X_{69}$はＨ，又はＳである。）

【００３４】

表８Ｆ－１.ＭＭＰ１４切断可能コアーＣＭコンセンサス配列６

【表７】

コアCMコンセンサス６	コアCMコンセンサス６（subgenus）
$X_{72}X_{73}X_{74}X_{75}X_{76}X_{77}X_{78}X_{79}$（配列番号371），（式中、$X_{72}$はA，C，D，E，F，G，H，I，K，L，M，N，P，Q，R，S，又はV；X_{73}はA，C，E，F，H，L，N，R，S，又はV；X_{74}はA，D，E，K，N，P　Q，S，T，又はY；X_{75}はA，E，G，H，K，L，N，P，R，S，又はT；X_{76}はI，K，L，M，N，R，T，V又はY；X_{77}はA，D，E，I，K，L，P，Q，R，S，T，V，又はY；X_{78}はA，C，D，E，G，I，L，M，Q，R，S，T，又はV；及びX_{79}はA，F，G，H，I，L，P，Q，R，S，T，又はYである。）	Subgenus6.1：$X_{72}X_{73}X_{74}X_{75}X_{76}X_{77}X_{78}X_{79}$（配列番号372），（式中、$X_{72}$はA，F，G，H，I，L，M，Q，R，又はS；$X_{73}$はA，F，H，L，又はN；$X_{74}$はA，E，N，Q，又はS；$X_{75}$はA，E，K，N，S，又はT；$X_{76}$はL又はM；$X_{77}$はA，I，K，L，P，R，又はV；$X_{78}$はA，D，I，L，M，R，T，又はV；及び$X_{79}$はA，F，G，H，I，L，P，Q，R，又はSである。）
	Subgenus6.2：$X_{72}X_{73}X_{74}X_{75}X_{76}X_{77}X_{78}X_{79}$（配列番号373），（式中、$X_{72}$はG，L又はR，又はS；$X_{73}$はA又はL；$X_{74}$はA，E，N，Q，又はS；$X_{75}$はA，E，N，S，又はT；$X_{76}$はL又はM；$X_{77}$はL又はR；$X_{78}$はA，L，又はT；及び$X_{79}$はF，G，L，R，又はSである。）
	Subgenus6.3：$X_{72}X_{73}X_{74}X_{75}X_{76}X_{77}X_{78}X_{79}$（配列番号374），（式中、$X_{72}$はL；$X_{73}$はA又はL；$X_{74}$はE，N，Q，又はS；$X_{75}$はA又はS；$X_{76}$はL又はM；$X_{77}$はR；$X_{78}$はA又はT；及び$X_{79}$はF，L，又はRである。）
	Subgenus6.4：$X_{72}X_{73}X_{74}X_{75}X_{76}X_{77}X_{78}X_{79}$（配列番号375），（式中、$X_{72}$はL；$X_{73}$はA又はL；$X_{74}$はE，N，Q，又はS；$X_{75}$はA又はS；$X_{76}$はL又はM；$X_{77}$はR；$X_{78}$はA；及び$X_{79}$はL又はRである。）

【００３５】

表８Ｆ－２.ＭＭＰ１４切断可能コアーＣＭコンセンサス配列６Ａ

【表８】

コアCMコンセンサス6A	コアCMコンセンサス6A（subgenus）
$X_{72}X_{73}X_{74}X_{75}X_{76}X_{77}X_{78}$（配列番号485），（式中、 X_{72}はA，C，D，E，F，G，H，I，K，L，M，N，P，Q，R，S，又はV； X_{73}はA，C，E，F，H，L，N，R，S，又はV； X_{74}はA，D，E，K，N，P　Q，S，T，又はY； X_{75}はA，E，G，H，K，L，N，P，R，S，又はT； X_{76}はI，K，L，M，N，R，T，V又はY； X_{77}はA，D，E，I，K，L，P，Q，R，S，T，V，又はY；及び X_{78}はA，C，D，E，G，I，L，M，Q，R，S，T，又はVである。）	Subgenus6A.1：$X_{72}X_{73}X_{74}X_{75}X_{76}X_{77}X_{78}$（配列番号376），（式中、$X_{72}$はA，E，L，N，P，又はQ；$X_{73}$はF，H，L，N，又はS；$X_{74}$はQ又はY；$X_{75}$はA；$X_{76}$はL，T，V又はY；$X_{77}$はD，E，P，Q，又はR；及び$X_{78}$はA，C，G，I，M，R，S，又はTである。）
	Subgenus6A.2：$X_{72}X_{73}X_{74}X_{75}X_{76}X_{77}X_{78}$（配列番号377），（式中、$X_{72}$はA，E，L，又はQ；$X_{73}$はF，H，又はN；$X_{74}$はQ；$X_{75}$はA；$X_{76}$はL又はT；$X_{77}$はQ又はR；及び$X_{78}$はI又はMである。）
	Subgenus6A.3：$X_{72}X_{73}X_{74}X_{75}X_{76}X_{77}X_{78}$（配列番号378），（式中、$X_{72}$はA；$X_{73}$はF，H，又はN；$X_{74}$はQ；$X_{75}$はA；$X_{76}$はL；$X_{77}$はR；及び$X_{78}$はMである。）

【００３６】

表８Ｇ.ＭＭＰ１４切断可能コアーＣＭコンセンサス配列７

【表９】

コアCMコンセンサス７	コアCMコンセンサス７（subgenus）
$X_{82}X_{83}X_{84}X_{85}X_{86}X_{87}X_{88}X_{89}$（配列番号394）．（式中、$X_{82}$はＡ，Ｆ，Ｌ，Ｑ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；$X_{83}$はＡ，Ｅ，Ｇ，Ｈ，Ｋ，Ｑ，Ｒ，Ｖ，又はＹ；$X_{84}$はＡ，Ｇ，Ｉ，Ｋ，Ｌ，Ｍ，Ｎ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；$X_{85}$はＡ，Ｄ，Ｆ，Ｇ，Ｉ，Ｌ，Ｎ，Ｐ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；X_{86}はＡ，Ｐ，又はＲ；X_{87}はＡ，Ｄ，Ｇ，Ｌ，Ｍ，Ｐ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，Ｗ，又はＹ；X_{88}はＡ，Ｃ，Ｅ，Ｆ，Ｈ，Ｉ，Ｌ，Ｎ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，Ｗ，又はＹ；及びX_{89}はＡ，Ｆ，Ｇ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，又はＶである。）	Subgenus7.1：$X_{82}X_{83}X_{84}X_{85}X_{86}X_{87}X_{88}X_{89}$（配列番号395），（式中、$X_{82}$はＬ；$X_{83}$はＨ，Ｋ，Ｑ，Ｒ，又はＹ；$X_{84}$はＡ，Ｌ，Ｍ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；$X_{85}$はＡ，Ｉ，Ｌ，Ｓ，又はＶ；$X_{86}$はＰ；$X_{87}$はＡ，Ｇ，Ｒ，Ｓ，Ｖ，又はＷ；$X_{88}$はＩ，Ｒ，Ｔ，又はＷ；及び$X_{89}$はＡ，Ｆ，Ｇ，Ｌ，Ｓ，又はＶである。）
	Subgenus7.2：$X_{82}X_{83}X_{84}X_{85}X_{86}X_{87}X_{88}X_{89}$（配列番号396），（式中、$X_{82}$はＬ；$X_{83}$はＨ，Ｋ，Ｒ，又はＹ；$X_{84}$はＡ，Ｌ，又はＶ；$X_{85}$はＡ，Ｉ，又はＬ；$X_{86}$はＰ；$X_{87}$はＧ，Ｒ，又はＶ；$X_{88}$はＴ又はＷ；及び$X_{89}$はＡ，Ｆ，Ｌ，又はＳである。）
	Subgenus7.3：$X_{82}X_{83}X_{84}X_{85}X_{86}X_{87}X_{88}X_{89}$（配列番号397），（式中、$X_{82}$はＬ；$X_{83}$はＫ，Ｒ，又はＹ；$X_{84}$はＡ；$X_{85}$はＡ又はＬ；$X_{86}$はＰ；$X_{87}$はＧ，Ｒ，又はＶ；$X_{88}$はＷ；及び$X_{89}$はＡ又はＬである。）
	Subgenus7.4：$X_{82}X_{83}X_{84}X_{85}X_{86}X_{87}X_{88}X_{89}$（配列番号398），（式中、$X_{82}$はＡ，Ｆ，Ｌ，Ｑ，又はＳ；$X_{83}$はＡ，Ｅ，Ｇ，Ｈ，Ｋ，Ｑ，又はＹ；$X_{84}$はＡ，Ｇ，Ｋ，Ｓ，又はＶ；$X_{85}$はＡ，Ｉ，Ｌ，Ｐ，又はＴ；$X_{86}$はＡ，Ｐ，又はＲ；$X_{87}$はＡ，Ｌ，Ｍ，Ｒ，Ｖ，又はＹ；$X_{88}$はＣ，Ｈ，Ｒ，Ｔ，又はＷ；及び$X_{89}$はＡ，Ｆ，Ｌ，Ｒ，Ｓ，又はＴである。）
	Subgenus7.5：$X_{82}X_{83}X_{84}X_{85}X_{86}X_{87}X_{88}X_{89}$（配列番号399），（式中、$X_{82}$はＦ又はＬ；$X_{83}$はＧ，Ｋ，Ｑ，又はＹ；$X_{84}$はＡ，Ｇ，Ｓ，又はＶ；$X_{85}$はＡ，Ｉ，又はＬ；$X_{86}$はＰ；$X_{87}$はＡ，Ｒ，又はＶ；$X_{88}$はＲ又はＷ；及び$X_{89}$はＡ，Ｆ，Ｌ，又はＲである。）
	Subgenus7.6：$X_{82}X_{83}X_{84}X_{85}X_{86}X_{87}X_{88}X_{89}$（配列番号400），（式中、$X_{82}$はＬ；$X_{83}$はＫ又はＹ；$X_{84}$はＡ又はＳ；$X_{85}$はＡ，Ｉ，又はＬ；$X_{86}$はＰ；$X_{87}$はＡ，Ｒ，又はＶ；$X_{88}$はＷ；及び$X_{89}$はＡ又はＦである。）
	Subgenus7.7：$X_{82}X_{83}X_{84}X_{85}X_{86}X_{87}X_{88}X_{89}$（配列番号401），（式中、$X_{82}$はＬ；$X_{83}$はＫ又はＹ；$X_{84}$はＡ；$X_{85}$はＡ又はＩ；$X_{86}$はＰ；$X_{87}$はＲ又はＶ；$X_{88}$はＷ；及び$X_{89}$はＡ又はＦである。）

【００３７】

表８Ｈ－１．ＭＭＰ１４切断可能コアーＣＭコンセンサス配列８

【表１０】

コアCMコンセンサス８	コアCMコンセンサス８（subgenus）
$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}$（配列番号410），（式中、$X_{92}$はＡ，Ｄ，Ｆ，Ｇ，Ｈ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｎ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，又はＷ；X_{93}はＡ，Ｐ，Ｒ，又はＴ；X_{94}はＡ，Ｅ，Ｆ，Ｇ，Ｈ，Ｉ，Ｋ，Ｌ，Ｎ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；X_{95}はＡ，Ｄ，Ｅ，Ｇ，Ｈ，Ｋ，Ｍ，Ｎ，Ｐ，Ｒ，Ｓ，又はＴ；X_{96}はＣ，Ｆ，Ｈ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｐ，Ｒ，Ｓ，Ｖ，Ｗ，又はＹ；X_{97}はＡ，Ｃ，Ｆ，Ｇ，Ｈ，Ｉ，Ｋ，Ｌ，Ｍ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，Ｗ，又はＹ；及びX_{98}はＡ，Ｄ，Ｅ，Ｆ，Ｇ，Ｈ，Ｉ，Ｋ，Ｌ，Ｍ，Ｎ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，又はＹである。）	Subgenus8.1：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}$（配列番号411），（式中、$X_{92}$はＡ，Ｆ，Ｇ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｎ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，又はＷ；X_{93}はＰ；X_{94}はＡ，Ｅ，Ｆ，Ｈ，Ｉ，Ｋ，Ｎ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；X_{95}はＡ，Ｄ，Ｅ，Ｇ，Ｈ，Ｎ，Ｐ，又はＳ；X_{96}はＣ，Ｆ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｒ，Ｓ，又はＶ；X_{97}はＣ，Ｆ，Ｇ，Ｉ，Ｌ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，又はＹ；及びX_{98}はＡ，Ｆ，Ｌ，Ｍ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，又はＹである。）
	Subgenus8.2：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}$（配列番号412），（式中、$X_{92}$はＦ，Ｇ，Ｌ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；$X_{93}$はＰ；$X_{94}$はＡ，Ｅ，Ｈ，Ｋ，Ｎ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；$X_{95}$はＡ，Ｇ，Ｈ，Ｎ，Ｐ，又はＳ；$X_{96}$はＩ，Ｌ，Ｍ，又はＶ；$X_{97}$はＦ，Ｉ，Ｌ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，又はＹ；及び$X_{98}$はＡ，Ｆ，Ｌ，Ｒ，Ｔ，Ｖ，又はＹである。）
	Subgenus8.3：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}$（配列番号413），（式中、$X_{92}$はＦ，Ｌ，又はＳ；$X_{93}$はＰ；$X_{94}$はＡ，Ｋ，Ｑ，Ｒ，又はＳ；$X_{95}$はＡ，Ｇ，Ｈ，又はＳ；$X_{96}$はＩ，Ｌ，Ｍ，又はＶ；$X_{97}$はＦ，Ｌ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，又はＹ及び；$X_{98}$はＦ，Ｌ，Ｔ，又はＶである。）
	Subgenus8.4：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}$（配列番号414），（式中、$X_{92}$はＦ，Ｌ，又はＳ；$X_{93}$はＰ；$X_{94}$はＡ，Ｑ，又はＳ；$X_{95}$はＧ又はＳ；$X_{96}$はＩ，Ｌ，又はＭ；$X_{97}$はＬ，Ｓ，又はＶ；及び$X_{98}$はＦ，Ｌ，又はＴである。）
	Subgenus8.5：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}$（配列番号415），（式中、$X_{92}$はＦ，Ｌ，又はＳ；$X_{93}$はＰ；$X_{94}$はＡ，Ｑ又はＳ；$X_{95}$はＧ；$X_{96}$はＩ，Ｌ，又はＭ；$X_{97}$はＬ又はＶ；及び$X_{98}$はＬである。）
	Subgenus8.6：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}$（配列番号416），（式中、$X_{92}$はＦ，Ｌ，又はＳ；$X_{93}$はＰ；$X_{94}$はＡ又はＳ；$X_{95}$はＧ；$X_{96}$はＩ，Ｌ，又はＭ；$X_{97}$はＬ又はＶ；及び$X_{98}$はＬである。）
	Subgenus8.7：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}$（配列番号417），（式中、$X_{92}$はＦ，Ｇ，Ｌ，Ｍ，Ｐ，Ｓ，Ｖ，又はＷ；$X_{93}$はＰ；$X_{94}$はＡ，Ｎ，Ｑ，又はＳ；$X_{95}$はＡ，Ｄ，Ｇ，Ｈ，Ｍ，Ｎ，Ｐ，又はＳ；$X_{96}$はＦ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，又はＶ；$X_{97}$はＡ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｓ，又はＶ；及び$X_{98}$はＡ，Ｇ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｎ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，又はＹである。）
	Subgenus8.8：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}$（配列番号418），（式中、$X_{92}$はＬ，Ｓ，又はＶ；$X_{93}$はＰ；$X_{94}$はＡ，Ｎ，Ｑ，又はＳ；$X_{95}$はＨ，Ｎ，Ｐ，又はＳ；$X_{96}$はＦ，Ｉ，Ｌ，又はＭ；$X_{97}$はＩ，Ｌ，Ｓ，又はＶ；及び$X_{98}$はＡ，Ｌ，又はＱである。）
	Subgenus8.9：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}$（配列番号419），（式中、$X_{92}$はＬ；$X_{93}$はＰ；$X_{94}$はＡ，Ｎ，Ｑ，又はＳ；$X_{95}$はＨ；$X_{96}$はＩ又はＬ；$X_{97}$はＶ；及び$X_{98}$はＬである。）

【００３８】

表８Ｈ－２．ＭＭＰ１４切断可能拡張コアーＣＭコンセンサス配列８

【表１１】

拡張コアCMコンセンサス8A	拡張コアCMコンセンサス8A（subgenus）
$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}X_{99}$（配列番号486），（式中、$X_{92}$はA，D，F，G，H，I，L，M，N，P，Q，R，S，T，V，又はW；X_{93}はA，P，R，又はT；X_{94}はA，E，F，G，H，I，K，L，N，P，Q，R，S，T，又はV；X_{95}はA，D，E，G，H，K，M，N，P，R，S，又はT；X_{96}はC，F，H，I，L，M，P，R，S，V，W，又はY；X_{97}はA，C，F，G，H，I，K，L，M，R，S，T，V，W，又はY；X_{98}はA，D，E，F，G，H，I，K，L，M，N，P，Q，R，S，T，V，又はY；及びX_{99}はA，D，E，F，G，H，I，K，L，N，P，Q，R，S，T，V，W，又はYである。）	Subgenus8A.1：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}X_{99}$（配列番号487），（式中、$X_{92}$はA，F，G，I，L，M，N，S，T，V，又はW；X_{93}はP；X_{94}はA，E，F，H，I，K，N，P，Q，R，S，T，又はV；X_{95}はA，D，E，G，H，N，P，又はS；X_{96}はC，F，I，L，M，R，S，又はV；X_{97}はC，F，G，I，L，R，S，T，V，又はY；X_{98}はA，F，L，M，P，Q，R，S，T，V，又はY；及びX_{99}はA，D，E，G，H，I，L，N，P，Q，R，S，T，V，W，又はYである。）
	Subgenus8A.2：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}X_{99}$（配列番号488），（式中、$X_{92}$はF，G，L，S，T，又はV；$X_{93}$はP；$X_{94}$はA，E，H，K，N，Q，R，S，T，又はV；$X_{95}$はA，G，H，N，P，又はS；$X_{96}$はI，L，M，又はV；$X_{97}$はF，I，L，R，S，T，V，又はY；$X_{98}$はA，F，L，R，T，V，又はY；及び$X_{99}$はA，D，G，L，P，R，S，T，V，又はYである。）
	Subgenus8A.3：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}X_{99}$（配列番号489），（式中、$X_{92}$はF，L，又はS；$X_{93}$はP；$X_{94}$はA，K，Q，R，又はS；$X_{95}$はA，G，H，又はS；$X_{96}$はI，L，M，又はV；$X_{97}$はF，L，R，S，T，V，又はY；$X_{98}$はF，L，T，又はV；及び$X_{99}$はA，D，G，L，R，T又はVである。）
	Subgenus8A.4：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}X_{99}$（配列番号490），（式中、$X_{92}$はF，L，又はS；$X_{93}$はP；$X_{94}$はA，Q，又はS；$X_{95}$はG又はS；$X_{96}$はI，L，又はM；$X_{97}$はL，S，又はV；$X_{98}$はF，L，又はT；及び$X_{99}$はA，R，又はTである。）
	Subgenus8A.5：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}X_{99}$（配列番号491），（式中、$X_{92}$はF，L，又はS；$X_{93}$はP；$X_{94}$はA，Q又はS；$X_{95}$はG；$X_{96}$はI，L，又はM；$X_{97}$はL又はV；$X_{98}$はL；及び$X_{99}$はRである。）

【００３９】

【表１２】

拡張コアCMコンセンサス8A	拡張コアCMコンセンサス8A（subgenus）
	Subgenus8A.6：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}X_{99}$（配列番号492），（式中、$X_{92}$はＦ，Ｌ，又はＳ；$X_{93}$はＰ；$X_{94}$はＡ又はＳ；$X_{95}$はＧ；$X_{96}$はＩ，Ｌ，又はＭ；$X_{97}$はＬ又はＶ；$X_{98}$はＬ；及び$X_{99}$はＲである。）
	Subgenus8A.7：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}X_{99}$（配列番号493），（式中、$X_{92}$はＦ，Ｇ，Ｌ，Ｍ，Ｐ，Ｓ，Ｖ，又はＷ；$X_{93}$はＰ；$X_{94}$はＡ，Ｎ，Ｑ，又はＳ；$X_{95}$はＡ，Ｄ，Ｇ，Ｈ，Ｍ，Ｎ，Ｐ，又はＳ；$X_{96}$はＦ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，又はＶ；$X_{97}$はＡ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｓ，又はＶ；$X_{98}$はＡ，Ｇ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｎ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，又はＹ；及びX_{99}はＡ，Ｆ，Ｈ，Ｉ，Ｌ，Ｑ，Ｒ，Ｔ，Ｖ，Ｗ，又はＹである。）
	Subgenus8A.8：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}X_{99}$（配列番号494），（式中、$X_{92}$はＬ，Ｓ，又はＶ；$X_{93}$はＰ；$X_{94}$はＡ，Ｎ，Ｑ，又はＳ；$X_{95}$はＨ，Ｎ，Ｐ，又はＳ；$X_{96}$はＦ，Ｉ，Ｌ，又はＭ；$X_{97}$はＩ，Ｌ，Ｓ，又はＶ；$X_{98}$はＡ，Ｌ，又はＱ；及び$X_{99}$はＬ，Ｔ，Ｖ，又はＹである。）
	Subgenus8A.9：$X_{92}X_{93}X_{94}X_{95}X_{96}X_{97}X_{98}X_{99}$（配列番号495），（式中、$X_{92}$はＬ；$X_{93}$はＰ；$X_{94}$はＡ，Ｎ，Ｑ，又はＳ；$X_{95}$はＨ；$X_{96}$はＩ又はＬ；$X_{97}$はＶ；$X_{98}$はＬ；及び$X_{99}$はＬ又はＶである。）

【００４０】

表８Ｉ.ＭＭＰ１４切断可能コアーＣＭコンセンサス配列９

【表１３】

コアCMコンセンサス９	コアCMコンセンサス９（subgenus）
$X_{102}X_{103}X_{104}X_{105}X_{106}X_{107}X_{108}X_{109}$（配列番号425），（式中、$X_{102}$はA，D，F，G，H，I，L，M，P，R，S，T，又はV；X_{103}はA，D，E，L，M，P，Q，R，S，T，V，又はY；X_{104}はA，G，H，L，N，P，R，S，T，又はV；X_{105}はA，D，E，H，L，M，N，P，Q，R，S，T，又はV；X_{106}はA，G，R，S，又はT；X_{107}はC，F，L，M，S，V，W，又はY；X_{108}はA，E，F，G，H，I，L，M，N，Q，R，S，V，W，又はY；及びX_{109}はA，E，G，L，P，R，S，又はVである。）	Subgenus9.1：$X_{102}X_{103}X_{104}X_{105}X_{106}X_{107}X_{108}X_{109}$（配列番号426），（式中、$X_{102}$はA，D，F，G，I，R，又はS；$X_{103}$はD，E，L，M，P，R，S，T，V，又はY；$X_{104}$はA，H，P，又はS；$X_{105}$はA，D，E，H，L，M，N，R，T，又はV；$X_{106}$はA，G，又はR；$X_{107}$はF，L，M，S，V，又はW；$X_{108}$はA，E，H，L，M，R，S，又はV；及び$X_{109}$はA，G，L，P，R，S，又はVである。）
	Subgenus9.2：$X_{102}X_{103}X_{104}X_{105}X_{106}X_{107}X_{108}X_{109}$（配列番号427），（式中、$X_{102}$はF，G，I，R，又はS；$X_{103}$はL，P，R，又はV；$X_{104}$はA又はH；$X_{105}$はA，D，又はR；$X_{106}$はA又はG；$X_{107}$はL又はV；$X_{108}$はH，L，M，R，S，又はV；及び$X_{109}$はA，L，S，又はVである。）
	Subgenus9.3：$X_{102}X_{103}X_{104}X_{105}X_{106}X_{107}X_{108}X_{109}$（配列番号428），（式中、$X_{102}$はG，R，又はS；$X_{103}$はR又はV；$X_{104}$はA又はH；$X_{105}$はA，D，又はR；$X_{106}$はA又はG；$X_{107}$はL又はV；$X_{108}$はH又はR；及び$X_{109}$はA，L，S，又はVである。）
	Subgenus9.4：$X_{102}X_{103}X_{104}X_{105}X_{106}X_{107}X_{108}X_{109}$（配列番号429），（式中、$X_{102}$はR；$X_{103}$はR；$X_{104}$はA又はH；$X_{105}$はA又はD；$X_{106}$はG；$X_{107}$はL又はV；$X_{108}$はR；及び$X_{109}$はA，S，又はVである。）
	Subgenus9.5：$X_{102}X_{103}X_{104}X_{105}X_{106}X_{107}X_{108}X_{109}$（配列番号430），（式中、$X_{102}$はD，F，G，I，L，R，S，又はT；$X_{103}$はE，L，M，R，S，T，又はV；$X_{104}$はH又はN；$X_{105}$はA，D，L，M，R，又はT；$X_{106}$はA，G，R，又はT；$X_{107}$はC，L，M，S，V，又はW；$X_{108}$はA，E，F，G，L，R，S，又はW；及び$X_{109}$はA，G，L，P，R，S，又はVである。）
	Subgenus9.6：$X_{102}X_{103}X_{104}X_{105}X_{106}X_{107}X_{108}X_{109}$（配列番号431），（式中、$X_{102}$はF，I，R，又はS；$X_{103}$はE，L，R，又はV；$X_{104}$はH；$X_{105}$はD，M，R，又はT；$X_{106}$はA又はG；$X_{107}$はL，M，S，又はV；$X_{108}$はE，R，又はS；及び$X_{109}$はA，P，S，又はVである。）
	Subgenus9.7：$X_{102}X_{103}X_{104}X_{105}X_{106}X_{107}X_{108}X_{109}$（配列番号432），（式中、$X_{102}$はI又はR；$X_{103}$はE，R，又はV；$X_{104}$はH；$X_{105}$はD，M，R，又はT；$X_{106}$はA又はG；$X_{107}$はL又はV；$X_{108}$はR又はS；及び$X_{109}$はA，P，S，又はVである。）
	Subgenus9.8：$X_{102}X_{103}X_{104}X_{105}X_{106}X_{107}X_{108}X_{109}$（配列番号433），（式中、$X_{102}$はI又はR；$X_{103}$はR；$X_{104}$はH；$X_{105}$はD；$X_{106}$はA又はG；$X_{107}$はL又はV；$X_{108}$はR又はS；及び$X_{109}$はA又はSである。）

【００４１】

表８Ｊ.ＭＭＰ１４切断可能コアーＣＭコンセンサス配列１０

【表１４】

コアCMコンセンサス10	コアCMコンセンサス10（subgenus）
$X_{112}X_{113}X_{114}X_{115}X_{116}X_{117}X_{118}X_{119}$（配列番号436），（式中、$X_{112}$はA，D，G，H，I，L，N，P，R，S，T，V，W，又はY；X_{113}はA，D，G，H，L，M，N，P，Q，R，S，V，又はY；X_{114}はA，H，K，L，N，P，Q，R，S，T，又はV；X_{115}はA，D，F，G，H，I，L，P，R，S，V，又はY；X_{116}はC，F，I，L，P，V，又はY；X_{117}はA，D，E，F，G，I，K，M，N，R，S，T，V，又はW；X_{118}はA，D，E，F，H，K，L，M，N，Q，R，V，又はY；及びX_{119}はA，F，I，L，M，又はVである。）	Subgenus10.1：$X_{112}X_{113}X_{114}X_{115}X_{116}X_{117}X_{118}X_{119}$（配列番号437），（式中、$X_{112}$はA，I，P，S，T，V，又はY；$X_{113}$はA，D，G，L，M，Q，R，S，V，又はY；$X_{114}$はA，H，K，L，N，S，又はT；$X_{115}$はG，H，I，L，S，又はV；$X_{116}$はI，L，又はV；$X_{117}$はA，F，G，K，R，S，又はW；$X_{118}$はD，H，L，M，N，Q，R，又はV；及び$X_{119}$はA，I，L，又はVである。）
	Subgenus10.2：$X_{112}X_{113}X_{114}X_{115}X_{116}X_{117}X_{118}X_{119}$（配列番号438），（式中、$X_{112}$はA，I，T，又はV；$X_{113}$はA，L，M，Q，R，V，又はY；$X_{114}$はA，N，S，又はT；$X_{115}$はG，L，S，又はV；$X_{116}$はL又はV；$X_{117}$はA，F，G，K，又はS；$X_{118}$はM，N，Q，R，又はV；及び$X_{119}$はI，L，又はVである。）
	Subgenus10.3：$X_{112}X_{113}X_{114}X_{115}X_{116}X_{117}X_{118}X_{119}$（配列番号439），（式中、$X_{112}$はA，I，T，又はV；$X_{113}$はM，Q，又はY；$X_{114}$はA，N，又はS；$X_{115}$はG，L，S，又はV；$X_{116}$はL又はV；$X_{117}$はA，F，G，又はS；$X_{118}$はM，N，Q，又はR；及び$X_{119}$はI，L，又はVである。）
	Subgenus10.4：$X_{112}X_{113}X_{114}X_{115}X_{116}X_{117}X_{118}X_{119}$（配列番号440），（式中、$X_{112}$はA，I，又はV；$X_{113}$はY；$X_{114}$はN又はS；$X_{115}$はG，L，又はV；$X_{116}$はL；$X_{117}$はA，G，又はS；$X_{118}$はM，Q，又はR；及び$X_{119}$はL又はVである。）
	Subgenus10.5：$X_{112}X_{113}X_{114}X_{115}X_{116}X_{117}X_{118}X_{119}$（配列番号441），（式中、$X_{112}$はA，I，又はV；$X_{113}$はY；$X_{114}$はN又はS；$X_{115}$はG，L，又はV；$X_{116}$はL；$X_{117}$はG又はS；$X_{118}$はM又はR；及び$X_{119}$はL又はVである。）
	Subgenus10.6：$X_{112}X_{113}X_{114}X_{115}X_{116}X_{117}X_{118}X_{119}$（配列番号442），（式中、$X_{112}$はA，I，又はV；$X_{113}$はY；$X_{114}$はN又はS；$X_{115}$はG，L，又はV；$X_{116}$はL；$X_{117}$はS；$X_{118}$はM又はR；及び$X_{119}$はL又はVである。）

【００４２】

【表１５】

コアCMコンセンサス10	コアCMコンセンサス10（subgenus）
	Subgenus10.7：$X_{112}X_{113}X_{114}X_{115}X_{116}X_{117}X_{118}X_{119}$（配列番号443），（式中、$X_{112}$はＡ；$X_{113}$はＹ；$X_{114}$はＮ又はＳ；$X_{115}$はＧ又はＬ；$X_{116}$はＬ；$X_{117}$はＳ；$X_{118}$はＲ；及び$X_{119}$はＬ又はＶである。）
	Subgenus10.8：$X_{112}X_{113}X_{114}X_{115}X_{116}X_{117}X_{118}X_{119}$（配列番号444），（式中、$X_{112}$はＡ，Ｄ，Ｇ，Ｉ，Ｌ，Ｎ，Ｐ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，Ｗ，又はＹ；X_{113}はＡ，Ｄ，Ｇ，Ｌ，Ｍ，Ｑ，Ｓ，又はＶ；X_{114}はＨ，Ｋ，Ｎ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，又はＴ；X_{115}はＨ，Ｉ，Ｌ，Ｒ，又はＶ；X_{116}はＩ，Ｌ，Ｐ，又はＶ；X_{117}はＡ，Ｄ，Ｅ，Ｇ，Ｉ，Ｋ，Ｍ，Ｎ，Ｓ，又はＴ；X_{118}はＤ，Ｆ，Ｌ，Ｍ，Ｑ，Ｒ，又はＶ；及びX_{119}はＡ，Ｆ，Ｉ，Ｌ，又はＶである。）
	Subgenus10.9：$X_{112}X_{113}X_{114}X_{115}X_{116}X_{117}X_{118}X_{119}$（配列番号445），（式中、$X_{112}$はＡ，Ｉ，Ｔ，又はＶ；$X_{113}$はＡ，Ｄ，Ｇ，Ｌ，Ｍ，Ｑ，Ｓ，又はＶ；$X_{114}$はＨ，Ｋ，Ｎ，Ｓ，又はＴ；$X_{115}$はＨ，Ｉ，Ｌ，又はＶ；$X_{116}$はＬ；$X_{117}$はＡ，Ｇ，Ｋ，又はＳ；$X_{118}$はＬ，Ｍ，Ｑ，Ｒ，又はＶ；及び$X_{119}$はＡ，Ｌ，又はＶである。）
	Subgenus10.10：$X_{112}X_{113}X_{114}X_{115}X_{116}X_{117}X_{118}X_{119}$（配列番号446），（式中、$X_{112}$はＡ又はＩ；$X_{113}$はＡ，Ｌ，又はＱ；$X_{114}$はＮ，Ｓ，又はＴ；$X_{115}$はＬ又はＶ；$X_{116}$はＬ；$X_{117}$はＡ，Ｇ，Ｋ，又はＳ；$X_{118}$はＭ，Ｒ，又はＶ；及び$X_{119}$はＬ又はＶである。）
	Subgenus10.11：$X_{112}X_{113}X_{114}X_{115}X_{116}X_{117}X_{118}X_{119}$（配列番号447），（式中、$X_{112}$はＡ又はＩ；$X_{113}$はＡ，Ｌ，又はＱ；$X_{114}$はＮ又はＳ；$X_{115}$はＬ又はＶ；$X_{116}$はＬ；$X_{117}$はＡ又はＳ；$X_{118}$はＭ又はＲ；及び$X_{119}$はＬ又はＶである。）
	Subgenus10.12：$X_{112}X_{113}X_{114}X_{115}X_{116}X_{117}X_{118}X_{119}$（配列番号448），（式中、$X_{112}$はＩ；$X_{113}$はＡ，Ｌ，又はＱ；$X_{114}$はＮ；$X_{115}$はＬ又はＶ；$X_{116}$はＬ；$X_{117}$はＡ又はＳ；$X_{118}$はＭ又はＲ；及び$X_{119}$はＬ又はＶである。）
	Subgenus10.13：$X_{112}X_{113}X_{114}X_{115}X_{116}X_{117}X_{118}X_{119}$（配列番号449），（式中、$X_{112}$はＩ；$X_{113}$はＡ，Ｌ，又はＱ；$X_{114}$はＮ；$X_{115}$はＬ又はＶ；$X_{116}$はＬ；$X_{117}$はＳ；$X_{118}$はＭ；及び$X_{119}$はＬ又はＶである。）

【００４３】

表８Ｋ.ＭＭＰ１４切断可能コアーＣＭコンセンサス配列１１

【表１６】

コアCMコンセンサス11	コアCMコンセンサス11（subgenus）
$X_{122}X_{123}X_{124}X_{125}X_{126}X_{127}X_{128}X_{129}$（配列番号453），（式中、$X_{122}$はＡ，Ｇ，Ｈ，Ｌ，Ｐ，Ｒ，Ｓ，又はＶ；$X_{123}$はＡ，Ｇ，Ｒ，Ｓ，Ｔ又はＶ；$X_{124}$はＡ，Ｇ，Ｐ，Ｒ，Ｓ，又はＴ；$X_{125}$はＨ，Ｉ，Ｌ，Ｐ，Ｒ，又はＶ；$X_{126}$はＬ又はＷ；$X_{127}$はＦ，Ｈ，Ｌ，Ｍ，Ｑ，Ｓ，Ｖ，又はＹ；$X_{128}$はＡ，Ｄ，Ｅ，Ｉ，Ｋ，Ｐ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；及びX_{129}はＡ，Ｅ，Ｆ，Ｇ，Ｈ，Ｉ，Ｌ，Ｎ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，又はＶである。）	Subgenus11.1：$X_{122}X_{123}X_{124}X_{125}X_{126}X_{127}X_{128}X_{129}$（配列番号454），（式中、$X_{122}$はＡ，Ｇ，Ｐ，Ｒ，又はＳ；$X_{123}$はＡ，Ｒ，又はＳ；$X_{124}$はＧ，Ｐ，Ｓ，又はＴ；$X_{125}$はＬ又はＶ；$X_{126}$はＷ；$X_{127}$はＬ，Ｓ，Ｖ，又はＹ；$X_{128}$はＤ，Ｅ，Ｐ，又はＴ；及び$X_{129}$はＰ，Ｑ又はＶである。）
	Subgenus11.2：$X_{122}X_{123}X_{124}X_{125}X_{126}X_{127}X_{128}X_{129}$（配列番号455），（式中、$X_{122}$はＧ，Ｐ，Ｒ，又はＳ；$X_{123}$はＡ又はＲ；$X_{124}$はＧ，Ｐ，又はＳ；$X_{125}$はＬ又はＶ；$X_{126}$はＷ；$X_{127}$はＬ又はＹ；$X_{128}$はＥ又はＴ；及び$X_{129}$はＱである。）
	Subgenus11.3：$X_{122}X_{123}X_{124}X_{125}X_{126}X_{127}X_{128}X_{129}$（配列番号456），（式中、$X_{122}$はＰ；$X_{123}$はＡ；$X_{124}$はＰ又はＳ；$X_{125}$はＬ又はＶ；$X_{126}$はＷ；$X_{127}$はＹ；$X_{128}$はＴ；及び$X_{129}$はＱである。）

【００４４】

表８Ｌ.ＭＭＰ１４切断可能コアーＣＭコンセンサス配列１２

【表１７】

コアCMコンセンサス12	コアCMコンセンサス12（subgenus）
$X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$（配列番号458），（式中、X_2はＡ，Ｄ，Ｅ，Ｆ，Ｇ，Ｈ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｎ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，又はＹ；X_3はＡ，Ｅ，Ｆ，Ｇ，Ｈ，Ｉ，Ｋ，Ｌ，Ｍ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，Ｗ，又はＹ；X_4はＡ，Ｅ，Ｇ，Ｈ，Ｋ，Ｎ，Ｐ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，又はＹ；X_5はＡ，Ｇ，Ｈ，Ｉ，Ｌ，Ｎ，Ｐ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；	Subgenus12.1：$X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$（配列番号459），（式中、X_2はＡ，Ｇ，Ｌ，Ｐ，又はＳ；X_3はＡ，Ｅ，Ｇ，Ｈ，Ｌ，Ｐ，Ｑ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；X_4はＧ，Ｎ，Ｒ，又はＳ；X_5はＬ，Ｐ，又はＳ；X_6はＩ又はＬ；X_7はＡ，Ｇ，Ｎ，Ｑ，Ｒ，又はＳ；X_8はＤ，Ｆ，Ｇ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｐ，Ｓ，又はＶ；及びX_9はＦ，Ｇ，Ｌ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，又はＳである。）
	Subgenus12.2：$X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$（配列番号460），（式中、X_2はＡ，Ｐ，又はＳ；X_3はＬ，Ｓ又はＶ；X_4はＧ，Ｎ，Ｒ，又はＳ；X_5はＬ，Ｐ，又はＳ；X_6はＬ；X_7はＡ，Ｇ，Ｒ，又はＳ；X_8はＬ，Ｐ，又はＶ；及びX_9はＦ，Ｌ，Ｐ，又はＳである。）
	Subgenus12.3：$X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$（配列番号461），（式中、X_2はＡ，Ｐ，又はＳ；X_3はＬ，Ｓ，又はＶ；X_4はＧ，Ｎ，Ｒ，又はＳ；X_5はＬ，Ｐ，又はＳ；X_6はＬ；X_7はＡ，Ｇ，Ｒ，又はＳ；X_8はＬ又はＰ；及びX_9はＦ，Ｐ，又はＳである。）

【００４５】

【表１８】

コアCMコンセンサス12	コアCMコンセンサス12（subgenus）
X_6はＩ，Ｌ，Ｍ，Ｑ，Ｔ，Ｖ，Ｗ，又はＹ； X_7はＡ，Ｄ，Ｇ，Ｈ，Ｋ，Ｌ，Ｎ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，又はＶ； X_8はＡ，Ｄ，Ｅ，Ｆ，Ｇ，Ｉ，Ｋ，Ｌ，Ｍ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，Ｖ，Ｗ，又はＹ；及び X_9はＡ，Ｆ，Ｇ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｎ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，Ｖ又はＹである。）	Subgenus12.4：$X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$（配列番号462），（式中、X_2はＡ，Ｐ，又はＳ；X_3はＬ又はＶ；X_4はＧ，Ｎ，又はＳ；X_5はＬ又はＳ；X_6はＬ；X_7はＡ，Ｇ，Ｒ，又はＳ；X_8はＬ又はＰ；及びX_9はＰ又はＳである。）
	Subgenus12.5：$X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$（配列番号463），（式中、X_2はＡ又はＳ；X_3はＬ；X_4はＧ，Ｎ，又はＳ；X_5はＬ又はＳ；X_6はＬ；X_7はＲ又はＳ；X_8はＬ；及びX_9はＰである。）
	Subgenus12.6：$X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$（配列番号464），（式中、X_2はＡ，Ｅ，Ｇ，Ｈ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，Ｐ，又はＳ；X_3はＡ，Ｅ，Ｇ，Ｈ，Ｉ，Ｋ，Ｌ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，Ｖ，Ｗ，又はＹ；X_4はＡ，Ｇ，Ｎ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；X_5はＡ，Ｇ，Ｈ，Ｌ，Ｎ，Ｐ，Ｒ，Ｓ，Ｔ，又はＶ；X_6はＩ，Ｌ，Ｍ，又はＱ；X_7はＡ，Ｄ，Ｇ，Ｋ，Ｌ，Ｎ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，又はＶ；X_8はＡ，Ｄ，Ｅ，Ｆ，Ｇ，Ｉ，Ｋ，Ｌ，Ｍ，Ｐ，Ｒ，Ｖ，Ｗ，又はＹ；及びX_9はＡ，Ｆ，Ｇ，Ｍ，Ｐ，Ｑ，Ｒ，Ｓ，Ｖ，又はＹである。）
	Subgenus12.7：$X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$（配列番号465），（式中、X_2はＡ，Ｐ，又はＳ；X_3はＡ，Ｈ，Ｑ，Ｓ，又はＶ；X_4はＧ，Ｎ，又はＳ；X_5はＬ，Ｐ，又はＳ；X_6はＬ；X_7はＡ，Ｄ，Ｇ，Ｒ，又はＳ；X_8はＦ，Ｉ，Ｌ，Ｍ，又はＰ；及びX_9はＦ，Ｐ，Ｑ，又はＲである。）
	Subgenus12.8：$X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$（配列番号466），（式中、X_2はＡ，Ｐ，又はＳ；X_3はＨ，Ｓ，又はＶ；X_4はＧ，Ｎ，又はＳ；X_5はＬ，Ｐ，又はＳ；X_6はＬ；X_7はＡ，Ｇ，Ｒ，又はＳ；X_8はＦ，Ｉ，Ｍ，又はＰ；及びX_9はＰ又はＲである。）
	Subgenus12.9：$X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$（配列番号467），（式中、X_2はＡ，Ｐ，又はＳ；X_3はＳ又はＶ；X_4はＧ，Ｎ，又はＳ；X_5はＬ；X_6はＬ；X_7はＡ，Ｇ又はＲ；X_8はＦ，Ｉ，又はＰ；及びX_9はＰである。）
	Subgenus12.10：$X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$（配列番号468），（式中、X_2はＡ，Ｐ，又はＳ；X_3はＳ又はＶ；X_4はＧ，Ｎ，又はＳ；X_5はＬ；X_6はＬ；X_7はＡ又はＲ；X_8はＦ又はＰ；及びX_9はＰである。）
	Subgenus12.11：$X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$（配列番号469），（式中、X_2はＡ又はＰ；X_3はＳ；X_4はＧ又はＮ；X_5はＬ；X_6はＬ；X_7はＲ；X_8はＦ；及びX_9はＰである。）

【００４６】

表８Ｍ.ＭＭＰ１４切断コアーＣＭコンセンサス配列１３

【表１９】

コアCMコンセンサス13	コアCMコンセンサス13（subgenus）
$X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}$（配列番号473），（式中、$X_{12}$はF，I，L，M，R，S，T，又はV；$X_{13}$はA，E，G，H，I，K，L，M，N，P，Q，R，S，T，V，W，又はY；X_{14}はA，D，E，F，G，H，I，K，L，M，N，P，Q，R，S，T，V，又はY；X_{15}はA，E，G，N，P，Q，S，T，V，又はW；X_{16}はA，F，G，H，I，K，L，M，N，P，Q，R，S，T，V，又はY；X_{17}はA，D，E，F，G，H，I，L，M，N，P，Q，R，S，T，V，又はY；X_{18}はA，C，D，E，F，G，H，I，L，M，N，P，Q，R，S，T，V，又はY；及びX_{19}はA，D，F，G，H，I，L，M，N，P，Q，R，S，T，V，W，又はYである。）	Subgenus13.1：$X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}$（配列番号475），（式中、$X_{12}$はF，I，L，M，S，又はV；$X_{13}$はA，E，H，K，L，M，N，Q，S，T，V，又はY；X_{14}はA，F，H，L，M，Q，S，T，又はV；X_{15}はA，G，又はP；X_{16}はA，F，G，H，I，L，M，N，R，S，V，又はY；X_{17}はA，E，G，H，L，M，P，Q，R，S，T，又はV；X_{18}はA，D，E，F，G，H，L，M，N，R，S，V，又はY；及びX_{19}はA，F，G，I，L，M，P，Q，R，S，W，又はYである。）
	Subgenus13.2：$X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}$（配列番号476），（式中、$X_{12}$はL，M，又はV；$X_{13}$はA，H，L，N，Q，S，又はV；$X_{14}$はA，L，M，Q，S，T，又はV；$X_{15}$はP；$X_{16}$はA，F，G，I，L，R，S，V，又はY；$X_{17}$はH，L，M，Q，又はS；$X_{18}$はA，D，G，H，R，又はS；及び$X_{19}$はA，F，G，L，R，又はSである。）
	Subgenus13.3：$X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}$（配列番号477），（式中、$X_{12}$はL，M，又はV；$X_{13}$はA又はL；$X_{14}$はA，L，又はS；$X_{15}$はP；$X_{16}$はL又はV；$X_{17}$はH，L，又はQ；$X_{18}$はG又はS；及び$X_{19}$はG，R，又はSである。）
	Subgenus13.4：$X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}$（配列番号478），（式中、$X_{12}$はL又はV；$X_{13}$はA又はL；$X_{14}$はL又はS；$X_{15}$はP；$X_{16}$はL又はV；$X_{17}$はH又はL；$X_{18}$はG又はS；及び$X_{19}$はR又はSである。）
	Subgenus13.5：$X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}$（配列番号479），（式中、$X_{12}$はL又はV；$X_{13}$はA又はL；$X_{14}$はL又はS；$X_{15}$はP；$X_{16}$はL；$X_{17}$はH又はL；$X_{18}$はG；及び$X_{19}$はSである。）
	Subgenus13.6：$X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}$（配列番号480），（式中、$X_{12}$はF，I，L，M，S，T，又はV；$X_{13}$はA，E，G，H，L，M，S，V，W，又はY；$X_{14}$はA，D，E，G，K，L，M，N，Q，R，S，T，又はV；X_{15}はE，G，N，P，S，T，又はV；X_{16}はA，F，G，L，N，P，Q，R，S，V，又はY；X_{17}はA，E，H，P，Q，又はR；X_{18}はD，E，G，N，R，S，又はT；及びX_{19}はA，D，G，Q，S，T，又はVである。）
	Subgenus13.：$X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}$（配列番号481），（式中、$X_{12}$はL，M，又はV；$X_{13}$はA又はL；$X_{14}$はA，L，Q，又はS；$X_{15}$はG，P，又はT；$X_{16}$はA，S，又はY；$X_{17}$はH又はP；$X_{18}$はD又はG；及び$X_{19}$はA，G又はSである。）
	Subgenus13.7：$X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}$（配列番号482），（式中、$X_{12}$はL又はM；$X_{13}$はA又はL；$X_{14}$はL；$X_{15}$はG又はP；$X_{16}$はA又はS；$X_{17}$はH；$X_{18}$はG；及び$X_{19}$はA又はGである。）

【００４７】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号３５２、３７１、３９４、４１０、４２５、４３６、４５３、４５８、４７３、４８５及び４８６から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号３５３－３６３、３７２－３７５、３７６－３７８、３９５－４０１、４１１－４１９、４２６－４３３、４３７－４４９、４５４－４５６、４５９－４６９、４７５－４８２及び４８７－４９５から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号３５３－３６３から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号３７２－３７５から成る群から選択されるアミノ酸配列を

含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号３７６－３７８から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号３９５－４０１から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号４１　１－４１９から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号４２６－４３３から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号４３７－４４９から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号４５４－４５６から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号４５９－４６９から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号４７５－４８２から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号４８７－４９５から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【００４８】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号３１７、３２４、３２９及び３４０から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号３１８－３２３、３２５－３２７、３３０－３３５、及び３４１－３４７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号３１８－３２３から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号３２５－３２７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号３３０－３３５から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、配列番号３４１－３４７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【００４９】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＲＰＳＰＭＷＡＹ（配列番号２１）を含むコアーＣＭコンセンサス１配列を含む。

【００５０】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＷＤＨＰＩＳＬＬ（配列番号３２８）を含むコアーＣＭコンセンサス２配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＷＡＴＰＲＰＭＲ（配列番号２２）を含むコアーＣＭコンセンサス２配列を含む。

【００５１】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＴＦＰＴＹＩＦ（配列番号３３６）を含むコアーＣＭコンセンサス３配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＭＴＦＰＴＹＩＦ（配列番号３３７）を含むコアーＣＭコンセンサス３配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＴＦＰＴＹＷＦ（配列番号３３８）を含むコアーＣＭコンセンサス３配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＭＴＦＰＴＹＷＦ（配列番号３３９）を含むコアーＣＭコンセンサス３配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＳＴＦＰＦＧＭＦ（配列番号１７）を含むコアーＣＭコンセンサス３配列を含む。

【００５２】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＤＷＬＹＷＭＧＩ（配列番号３４８）を含むコアーＣＭコンセンサス４配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＤＷＬＹＷＰＧＩ（配列番号１９）を含むコアーＣＭコンセンサス４配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＤＷＬＹＷＭＳＩ（配列番号３４９）を含むコアーＣＭコンセンサス４配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＤＷＬＹＷＰＳＩ（配列番号３５０）を含むコアーＣＭコンセンサス４配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＨＷＨＬＧＰＰＴ（配列番号３５１）を含むコアーＣＭコンセンサス４配列を含む。

【００５３】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＩＳＳＧＬＬＳＳ（配列番号１４

）を含むコアーＣＭコンセンサス５配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＳＶＳＧＬＬＳＨ（配列番号３６４）を含むコアーＣＭコンセンサス５配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＳＶＳＧＬＬＳＳ（配列番号３６５）を含むコアーＣＭコンセンサス５配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＳＶＳＧＬＲＳＨ（配列番号３６６）を含むコアーＣＭコンセンサス５配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＳＶＳＧＬＲＳＳ（配列番号３６７）を含むコアーＣＭコンセンサス５配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＴＬＳＧＬＲＳＰ（配列番号３６８）を含むコアーＣＭコンセンサス５配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＴＳＳＧＬＲＳＰ（配列番号３６９）を含むコアーＣＭコンセンサス５配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＴＶＳＧＬＲＳＰ（配列番号３７０）を含むコアーＣＭコンセンサス５配列を含む。

【００５４】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＡＦＱＡＬＲＭ（配列番号３７９）を含むコアーＣＭコンセンサス６配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＡＨＱＡＬＲＭ（配列番号３８０）を含むコアーＣＭコンセンサス６配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＡＮＱＡＬＲＭ（配列番号３８１）を含むコアーＣＭコンセンサス６配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＡＮＱＡＬＲＭＡ（配列番号３８２）を含むコアーＣＭコンセンサス６配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＬＥＡＬＲＡＬ（配列番号３８３）を含むコアーＣＭコンセンサス６配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＬＮＡＬＲＡＬ（配列番号３８４）を含むコアーＣＭコンセンサス６配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＬＱＡＬＲＡＬ（配列番号３８５）を含むコアーＣＭコンセンサス６配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＬＳＡＬＲＡＬ（配列番号３８６）を含むコアーＣＭコンセンサス６配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＬＥＳＬＲＡＬ（配列番号３８７）を含むコアーＣＭコンセンサス６配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＬＮＳＬＲＡＬ（配列番号３８８）を含むコアーＣＭコンセンサス６配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＬＱＳＬＲＡＬ（配列番号３８９）を含むコアーＣＭコンセンサス６配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＬＳＳＬＲＡＬ（配列番号３９０）を含むコアーＣＭコンセンサス６配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＱＦＱＡＬＲＭ（配列番号３９１）を含むコアーＣＭコンセンサス６配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＱＨＱＡＬＲＭ（配列番号３９２）を含むコアーＣＭコンセンサス６配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＱＮＱＡＬＲＭ（配列番号３９３）を含むコアーＣＭコンセンサス６配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＱＮＱＡＬＲＭＡ（配列番号１５）を含むコアーＣＭコンセンサス６配列を含む。

【００５５】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＫＡＡＰＲＷＡ（配列番号２４）を含むコアーＣＭコンセンサス７配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＫＡＡＰＶＷＡ（配列番号４０３）を含むコアーＣＭコンセンサス７配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＫＡＡＰＲＷＦ（配列番号４０４）を含むコアーＣＭコンセンサス７配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＫＡＡＰＶＷＦ（配列番号４０５）を含むコアーＣＭコンセンサス７配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＹＡＡＰＲＷＡ（配列番号４０６）を含むコアーＣＭコンセンサス７配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＹＡＡＰＶＷＡ（配列番号４０７）を含むコアーＣＭコンセンサス７配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＹＡＡＰＲＷＦ（配列番号４０８）を含むコアーＣＭコンセンサス７配列を含む。いくつかの実

施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＹＡＡＰＶＷＦ（配列番号４０９）を含むコアーＣＭコンセンサス７配列を含む。

【００５６】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＧＰＳＨＬＶＬＴ（配列番号２５）を含むコアーＣＭコンセンサス８配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＰＡＧＬＬＬ（配列番号４０２）を含むコアーＣＭコンセンサス８配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＰＡＧＬＬＬＲ（配列番号４２０）を含むコアーＣＭコンセンサス８配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＰＡＨＬＶＬＬ（配列番号４２１）を含むコアーＣＭコンセンサス８配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＰＳＨＬＶＬＬ（配列番号４２２）を含むコアーＣＭコンセンサス８配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＰＡＨＬＶＬＶ（配列番号４２３）を含むコアーＣＭコンセンサス８配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＰＳＨＬＶＬＶ（配列番号４２４）を含むコアーＣＭコンセンサス８配列を含む。

【００５７】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＲＭＨＬＲＳＬＧ（配列番号２９）を含むコアーＣＭコンセンサス９配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＲＲＨＤＧＬＲＡ（配列番号４３４）を含むコアーＣＭコンセンサス９配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＲＲＨＤＧＬＲＳ（配列番号４３５）を含むコアーＣＭコンセンサス９配列を含む。

【００５８】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＡＱＮＬＬＧＭＶ（配列番号１６）を含むコアーＣＭコンセンサス１０配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＩＡＮＬＬＳＭＶ（配列番号４５０）を含むコアーＣＭコンセンサス１０配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＩＬＮＬＬＳＭＶ（配列番号４５１）を含むコアーＣＭコンセンサス１０配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＩＱＮＬＬＳＭＶ（配列番号４５２）を含むコアーＣＭコンセンサス１０配列を含む。

【００５９】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＰＡＧＬＷＬＤＰ（配列番号３３）を含むコアーＣＭコンセンサス１１配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＰＡＳＬＷＹＴＱ（配列番号４５７）を含むコアーＣＭコンセンサス１１配列を含む。

【００６０】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＡＬＧＬＬＲＬＰ（配列番号４７０）を含むコアーＣＭコンセンサス１２配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＡＬＧＬＬＳＬＰ（配列番号４７１）を含むコアーＣＭコンセンサス１２配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＡＳＧＬＬＲＦＰ（配列番号４７２）を含むコアーＣＭコンセンサス１２配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＡＶＧＬＬＡＰＰ（配列番号３１）を含むコアーＣＭコンセンサス１２配列を含む。

【００６１】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＡＡＰＬＧＬＬ（配列番号３０）を含むコアーＣＭコンセンサス１３配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＬＡＰＳＨＲＡ（配列番号３２）を含むコアーＣＭコンセンサス１３配列を含む。

【００６２】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＬＬＰＡＨＧＧ（配列番号４７４）を含むコアーＣＭコンセンサス１３配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＬＬＰＬＬＧＳ（配列番号４８３）を含むコアーＣＭコンセンサス１

３配列を含む。

【００６３】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくとも２種のプロテアーゼのための基質である。いくつかの実施形態によれば、少なくとも１つのプロテアーゼはＭＭＰであり、そして少なくとも１つのプロテアーゼは、表７に示されるそれらの酵素から成る群から選択される。

【００６４】

【表２０】

表７：典型的なプロテアーゼ及び／又は酵素

ADAMS、 ADAMTS、例えば	システインプロテイナーゼ，例えば	セリンプロテアーゼ，例えば
ADAM8	クルジパイン	活性化されたプロテイン C
ADAM9	レグマイン	カテプシン A
ADAM10	オツバシン-2 (Otubain-2)	カテプシン G
ADAM12		キマーゼ
ADAM15	KLKs、 例えば	凝固因子プロテアーゼ
ADAM17/TACE	KLK4	(例えば、 FVIIa、FIXa、 FXa、 FXIa、
ADAMDEC1	KLK5	FXIIa)
ADAMTS1	KLK6	エラスターゼ
ADAMTS4	KLK7	グランザイムB
ADAMTS5	KLK8	グアニジノベンゾエターゼ
	KLK10	HtrA1
スパラギン酸プロテアーゼ，例えば	KLK11	ヒト好中球エラスターゼ
BACE	KLK13	ラクトフェリン
レニン	KLK14	マラプシン (Marapsin)
		NS3/4A
アスパラギン酸カテプシン，例えば	メタロプロテイナーゼ，例えば	PACE4
カテプシン D	メプリン	プラスミン
カテプシン E	ネプリライシン	PSA
	PSMA	tPA
カスパーゼ，例えば	BMP-1	トロンビン
カスパーゼ 1		トリプターゼ
カスパーゼ 2	MMPs、例えば	uPA
カスパーゼ 3	MMP1	
カスパーゼ 4	MMP2	II型トランスメンブラン
カスパーゼ 5	MMP3	セリンプロテアーゼ(TTSPs)，例えば
	MMP7	DESC1
カスパーゼ 6	MMP8	DPP-4
カスパーゼ 7	MMP9	FAP
カスパーゼ 8	MMP10	ヘプシン
カスパーゼ 9	MMP11	マトリプターゼ-2
カスパーゼ 10	MMP12	MT-SP1/マトリプターゼ
カスパーゼ 14	MMP13	TMPRSS2
	MMP14	TMPRSS3
システイン カテプシン，例えば	MMP15	TMPRSS4
カテプシン B	MMP16	
カテプシン C	MMP17	
カテプシン K	MMP19	
カテプシン L	MMP20	
カテプシン S	MMP23	
カテプシン V/L2	MMP24	
カテプシン X/Z/P	MMP26	
	MMP27	

【００６５】

いくつかの実施形態によれば、抗体は少なくとも、第１ＣＭ及び第２ＣＭを含む。いく

つかの実施形態によれば、前記第１ＣＭ及び第２ＣＭは、それぞれ、１５以下の長さのアミノ酸のポリペプチドである。いくつかの実施形態によれば、未切断状態下での抗体中の第１ＣＭ及び第２ＣＭは、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：剤－ＣＭ１－ＣＭ２－ＡＢ、ＡＢ－ＣＭ２－ＣＭ１－剤、剤－ＣＭ２－ＣＭ１－ＡＢ又はＡＢ－ＣＭ１－ＣＭ２－剤。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、剤とＣＭ１との間に連結ペプチドを含む。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＣＭ１とＣＭ２との間に連結ペプチドを含む。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＣＭ２とＡＢとの間に連結ペプチドを含む。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、剤とＣＭ１との間に連結ペプチド、及びＣＭ２とＡＢとの間に連結ペプチドを含む。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、剤とＣＭ１との間に連結ペプチド、及びＣＭ１とＣＭ２との間に連結ペプチドを含む。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＣＭ１とＣＭ２との間に連結ペプチド、及びＣＭ２とＡＢとの間に連結ペプチドを含む。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、剤とＣＭ１との間に連結ペプチド、ＣＭ１とＣＭ２との間に連結ペプチド、及びＣＭ２とＡＢとの間に連結ペプチドを含む。

【００６６】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、少なくとも１つのマトリックス・メタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）のための基質を含む第１ＣＭ、及び基質配列を含む第２ＣＭを少なくとも含む。第２ＣＭ（ＣＭ２）のための典型的な基質は、表７に列挙される１又は２以上の次の酵素又はプロテアーゼにより切断できる基質を包含するが、但しそれらだけには制限されない。

【００６７】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、特定のプロテアーゼとの使用のために選択される。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、マトリックス・メタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）、好中球エステラーゼ、u型プラスミノーゲン活性化因子（ｕＰＡ、また、ウロキナーゼとも呼ばれる）、レグマイン、マトリプターゼ（また、本明細書においては、ＭＴ－ＳＰ１又はＭＴＳＰ１とも呼ばれる）、トロンビン、システインプロテアーゼ、例えばカテプシン、ＡＤＡＭ１７、ＢＭＰ－１、ＨｔｒＡ１及びＴＭＰＲＳＳ、例えばＴＭＰＲＳＳ３又はＴＭＰＲＳＳ４から成る群から選択される、少なくとも１つのプロテアーゼのための基質である。

【００６８】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、好中球エラスターゼのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ｕＰＡのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、レグマインのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、マトリプターゼのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、トロンビンのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、システインプロテアーゼのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、カテプシンのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ＡＤＡＭ１７のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ＢＭＰ－１のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ＨｔｒＡ１のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ＴＭＰＲＳＳのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ＴＭＰＲＳＳ３のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ＴＭＰＲＳＳ４のための基質である。

【００６９】

いくつかの実施形態によれば、適切なＣＭ２は、少なくとも１つのプロテアーゼにより切断され、そして配列ＴＧＲＧＰＳＷＶ（配列番号３４）；ＳＡＲＧＰＳＲＷ（配列番号３５）;ＴＡＲＧＰＳＦＫ（配列番号３６）；ＬＳＧＲＳＤＮＨ（配列番号３７）；ＧＧＷＨＴＧＲＮ（配列番号３８）；ＨＴＧＲＳＧＡＬ（配列番号３９）；ＰＬＴＧＲＳＧＧ（配列番号４０）；ＡＡＲＧＰＡＩＨ（配列番号４１）；ＲＧＰＡＦＮＰＭ（配列番号４２）；ＳＳＲＧＰＡＹＬ（配列番号４３）;ＲＧＰＡＴＰＩＭ（配列番号４４）；ＲＧＰＡ（配列番号４

５)；ＧＧＱＰＳＧＭＷＧＷ（配列番号４６)；ＦＰＲＰＬＧＩＴＧＬ（配列番号４７)；ＶＨＭＰＬＧＦＬＧＰ（配列番号４８)；ＳＰＬＴＧＲＳＧ（配列番号４９)；ＳＡＧＦＳＬＰＡ（配列番号１２６)；ＬＡＰＬＧＬＱＲＲ（配列番号５０)；ＳＧＧＰＬＧＶＲ（配列番号５１)；ＰＬＧＬ（配列番号５２)；ＧＰＲＳＦＧＬ（配列番号３１５）及び/又はＧＰＲＳＦＧ（配列番号３１６)を含む。

【００７０】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＴＧＲＧＰＳＷＶ（配列番号３４)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＳＡＲＧＰＳＲＷ（配列番号３５)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＴＡＲＧＰＳＦＫ（配列番号３６)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＬＳＧＲＳＤＮＨ（配列番号３７)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＧＧＷＨＴＧＲＮ（配列番号３８)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＨＴＧＲＳＧＡＬ（配列番号３９)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＰＬＴＧＲＳＧＧ（配列番号４０）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＡＡＲＧＰＡＩＨ（配列番号４１)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＲＧＰＡＦＮＰＭ（配列番号４２)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＳＳＲＧＰＡＹＬ(配列番号４３)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＲＧＰＡＴＰＩＭ（配列番号４４)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＲＧＰＡ（配列番号４５)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＧＧＱＰＳＧＭＷＧＷ（配列番号４６)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＦＰＲＰＬＧＩＴＧＬ（配列番号４７)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＶＨＭＰＬＧＦＬＧＰ（配列番号４８)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＳＰＬＴＧＲＳＧ（配列番号４９)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＬＡＰＬＧＬＱＲＲ（配列番号５０)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＳＧＧＰＬＧＶＲ（配列番号５１)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＰＬＧＬ（配列番号５２)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＧＰＲＳＦＧＬ（配列番号３１５)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＧＰＲＳＦＧ（配列番号３１６)を含む。

【００７１】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、少なくとも１つのＭＭＰのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、表７に列挙される少なくとも１つのＭＭＰのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ＭＭＰ９のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ＭＭＰのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１は第１ＭＭＰのための基質であり、そしてＣＭ２は第２ＭＭＰのための基質であり、ここで第１ＭＭＰ及び第２ＭＭＰは異なったＭＭＰである。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１はＭＭＰのための第１基質配列であり、そしてＣＭ２は同じＭＭＰのための第２基質であり、ここでＣＭ１及びＣＭ２は異なった基質配列を有する。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は複数のＭＭＰのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は少なくともＭＭＰ９又はＭＭＰ１４のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は複数のＭＭｐのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は少なくともＭＭＰ９及びＭＭＰ１４のための基質である。いくつかの実施形態によればＣＭ１及びＣＭ２は両者とも、ＭＭＰ９のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１及びＣＭ２は両者ともＭＭＰ１４のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１はＭＭＰ９のための基質であり、そしてＣＭ２はＭＭＰ１４のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１はＭＭＰ１４のための基質であり、そしてＣＭ２はＭＭＰ９のための基質である。

【００７２】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１及び/又はＣＭ２の少なくとも１つは、ＭＭＰの

ための基質であり、そして配列ＩＳＳＧＬＬＳＳ（配列番号１４）；ＱＮＱＡＬＲＭＡ（配列番号１５）；ＡＱＮＬＬＧＭＶ（配列番号１６）；ＳＴＦＰＦＧＭＦ（配列番号１７）；ＰＶＧＹＴＳＳＬ（配列番号１８）；ＤＷＬＹＷＰＧＩ（配列番号１９）；ＭＩＡＰＶＡＹＲ（配列番号２０）；ＲＰＳＰＭＷＡＹ（配列番号２１）；ＷＡＴＰＲＰＭＲ（配列番号２２）；ＦＲＬＬＤＷＱＷ（配列番号２３）；ＬＫＡＡＰＲＷＡ（配列番号２４）；ＧＰＳＨＬＶＬＴ（配列番号２５）；ＬＰＧＧＬＳＰＷ（配列番号２６）;ＭＧＬＦＳＥＡＧ（配列番号２７）；ＳＰＬＰＬＲＶＰ（配列番号２８）；ＲＭＨＬＲＳＬＧ（配列番号２９）；ＬＡＡＰＬＧＬＬ（配列番号３０）；ＡＶＧＬＬＡＰＰ（配列番号３１）；ＬＬＡＰＳＨＲＡ（配列番号３２）；ＰＡＧＬＷＬＤＰ（配列番号３３）；及び/又はＩＳＳＧＬＳＳ（配列番号１５９）を含む。

【００７３】

いくつかの実施形態によれば、第１切断剤及び第２切断剤は同じプロテアーゼであり、そして第１ＣＭ及び第２ＣＭは、酵素のための異なった基質である。いくつかの実施形態によれば、第１切断剤及び第２切断剤は異なったプロテアーゼである。いくつかの実施形態によれば、第１切断及び第２切断剤は、標的組織に共局在される。いくつかの実施形態によれば、第１ＣＭ及び第２ＣＭは、標的組織において少なくとも１つの切断剤により切断される。

【００７４】

いくつかの実施形態によれば、ＡＢに接合される剤は、治療剤である。いくつかの実施形態によれば、剤は、抗腫瘍剤である。いくつかの実施形態によれば、剤は毒素又はそのフラグメントである。本明細書において使用される場合、毒素フラグメントは、毒性活性を保存するフラグメントである。いくつかの実施形態によれば、剤は切断可能リンカーを介してＡＢに接合される。いくつかの実施形態によれば、剤は、少なくとも１つのＭＭＰ－切断可能基質配列を含むリンカーを介してＡＢに接合される。いくつかの実施形態によれば、剤は非切断可能リンカーを介してＡＢに接合される。いくつかの実施形態によれば、剤は微小管阻害剤である。いくつかの実施形態によれば、剤は、核酸損傷剤、例えばＤＮＡアルキル化剤又はＤＮＡインターカレーター、又は他のＤＮＡ損傷剤である。いくつかの実施形態によれば、剤は、表３に列挙される群から選択される剤である。いくつかの実施形態によれば、剤はドラスタチンである。いくつかの実施形態によれば、剤はアウリスタチン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤は、アウリスタチンＥ又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤は、モノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）である。いくつかの実施形態によれば、剤は、モノメチルアウリスタチンＤ（ＭＭＡＤ）である。いくつかの実施形態によれば、剤は、メイタンシノイド又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤はＤＭ１又はＤＭ４である。いくつかの実施形態によれば、剤はデュオカルマイシン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤はカリケアマイシン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば剤はピロロベンゾジアゼピンである。

【００７５】

いくつかの実施形態によれば、剤は抗炎症剤である。

【００７６】

いくつかの実施形態によれば、抗体はまた、検出可能部分も含む。いくつかの実施形態によれば、検出可能部分は、診断剤である。

【００７７】

いくつかの実施形態によれば、接合された抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、検出できる標識を含む。いくつかの実施形態によれば、検出できる標識は、イメージング剤、造影剤、酵素、蛍光標識、発色団、色素、１又は２以上の金属イオン、又はリガンドベースの標識を含む。いくつかの実施形態によれば、イメージング剤は、放射性同位体を含む。いくつかの実施形態によれば、放射性同位体は、インジウム又はテクネチウムである。いくつかの実施形態によれば、造影剤は、ヨウ素、ガドリニウム又は酸化鉄を含む。いくつかの実施形態によれば、酵素は、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスフ

ァターゼ又はβ－ガラクトシダーゼを含む。いくつかの実施形態によれば、蛍光標識は、黄色蛍光タンパク質（ＹＦＰ）、シアン蛍光タンパク質（ＣＦＰ）、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）、修飾された赤色蛍光タンパク質（ｍＲＦＰ）、赤色蛍光タンパク質ｔダイマー２（ＲＦＰ　ｔダイマー２）、ＨＣＲＥＤ、又はユーロピウム誘導体を含む。いくつかの実施形態によれば、発光標識は、Ｎ－メチルアクリジウム誘導体を含む。いくつかの実施形態によれば、標識は、Alexa Fluor（登録商標）標識，例えばAlex Fluor（登録商標）680 又はAlexa Fluor（登録商標）750を含む。いくつかの実施形態によれば、リガンドベースの標識は、ビオチン、アビジン、ストレプタビジン又は１又は２以上のハプテンを含む。

【００７８】

いくつかの実施形態によれば、抗体中のＡＢは天然において、１又は２以上のジスルフィド結合を含む。いくつかの実施形態によれば、ＡＢは、１又は２以上のジスルフィド結合を含むよう操作され得る。

【００７９】

いくつかの実施形態によれば、抗体及び／又は接合された抗体は、単一特異的である。いくつかの実施形態によれば、抗体及び／又は接合された抗体は、多重特異的であり、本明細書においては、多重特異的抗体及び／又は接合された多重特異的抗体とも呼ばれる。いくつかの実施形態によれば、多重特異的抗体及び／又は接合された多重特異的抗体は、二重特異的又は三重特異的である。いくつかの実施形態によれば、抗体及び／又は接合された抗体は、プロ－二重特異的Ｔ細胞エンゲージャー（プロ－ＢＩＴＥ）分子の一部として処方される。いくつかの実施形態によれば、抗体及び／又は接合された抗体は、プロ－キメラ抗原受容体（プロ－ＣＡＲ）修飾Ｔ細胞又は他の操作された受容体の一部として処方される。

【００８０】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、単一特異的である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、多重特異的であり、本明細書においては、多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体としても言及される。本明細書においてし使用される場合、用語、「活性化可能抗体（activatable antibody）」及びそのすべての文法的変形は、特に断らない限り、活性化可能抗体が、本開示の多重特異的活性化可能抗体である実施形態を包含することが意図されるが、但しそれらだけには限定されない。本明細書においてし使用される場合、用語、「接合された活性化可能抗体（conjugated activatable antibody）」及びそのすべての文法的変形は、特に断らない限り、接合された活性化可能抗体が、本開示の接合された多重特異的活性化可能抗体である実施形態を包含することが意図されるが、但しそれらだけには限定されない。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体は、二重特異的又は三重特異的である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、プロ－二重特異的Ｔ細胞エンゲージャー（プロ－ＢＩＴＥ）分子の一部として処方される。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、プロ－キメラ抗原受容体（プロ－ＣＡＲ）修飾Ｔ細胞又は他の操作された受容体の一部として処方される。

【００８１】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に記載される活性化可能抗体、接合された活性化可能抗体、多重特異的活性化可能抗体及び/又は接合された多重特異的活性化可能抗体は、１又は２以上の追加の剤又は追加の剤の組合せと共に使用される。適切な追加の剤は、意図される用途、例えば癌のための現医薬品及び／又は外科的治療剤を包含する。例えば、活性化可能抗体、接合された活性化可能抗体、多重特異的活性化可能抗体及び/又は接合された多重特異的活性化可能抗体は、追加の化学療法又は抗腫瘍剤と共に使用され得る。

【００８２】

活性化された状態での本明細書に記載される活性化可能抗体は、所定の標的に結合し、そして（i）標的に対して特異的に結合する抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ）；（ii）未切断状態下で標的へのＡＢの結合を阻害するマスキング部分（ＭＭ）；及び（iii）ＡＢにカップリングされる切断可能部分（ＣＭ）（ここで、前記ＣＭはマトリックス・メタロプロテアーゼのための基質として作用するポリペプチドである）を含む。

【００８３】

いくつかの実施形態によれば、未切断状態での活性化可能抗体は、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：ＭＭ－ＣＭ－ＡＢ及びＡＢ－ＣＭ－ＭＭ。

【００８４】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＭＭとＣＭとの間に連結ペプチドを含む。

【００８５】

いくつかの実施形態によれば、活性可能抗体は、ＣＭとＡＢとの間に連結ペプチドを含む。

【００８６】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、第１連結ペプチド（ＬＰ１）及び第２連結ペプチド（ＬＰ２）を含み、そして未切断状態下での活性化可能抗体は、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造位置を有する：ＭＭ－ＬＰ１－ＣＭ－ＬＰ２－ＡＢ又はＡＢ－ＬＰ２－ＣＭ－ＬＰ１－ＭＭ。

【００８７】

いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１及びＬＰ２の個々は、約１～２０個の長さのアミノ酸のペプチドである。

【００８８】

いくつかの実施形態によれば、前記２種の連結ペプチドは、お互い同一である必要はない。

【００８９】

いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、$(GS)_n$、$(GGS)_n$、$(GSGGS)_n$（配列番号１）及び$(GGGS)_n$（配列番号２）（ｎは少なくとも１つの整数である）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【００９０】

いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、ＧＧＳＧ（配列番号３）、ＧＧＳＧＧ（配列番号４）、ＧＳＧＳＧ（配列番号５）、ＧＳＧＧＧ（配列番号６）、ＧＧＧＳＧ（配列番号７）、 及び ＧＳＳＳＧ（配列番号８）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【００９１】

いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１は、アミノ酸配列ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号９）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧ（配列番号１０）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳ（配列番号１１）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳ（配列番号１５５）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号１５６）、又はＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＳ（配列番号１５７）を含む。

【００９２】

いくつかの実施形態によれば。ＬＰ２は、アミノ酸配列ＧＳＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１５８）、ＧＳＳＧＴ（配列番号１２）又は ＧＳＳＧ（配列番号１３）を含む。

【００９３】

いくつかの実施形態によれば、ＡＢは、標的への結合のために、約１００ｎＭ又はそれ以下の平衡解離定数を有する。

【００９４】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、標的を特異的に結合する抗体又はその抗原結合フラグメントを含む。いくつかの実施形態によれば、標的を結合する抗体又はその免疫学的活性フラグメントは、モノクローナル抗体、ドメイン、抗体、一本鎖、Ｆａｂフラグメント、$F(ab')_2$フラグメント、ｓｃＦｖ、ｓｃＡｂ，ｄＡｂ、単一ドメイ

ンＨ鎖抗体、及び単一ドメインＬ鎖抗体である。いくつかの実施形態によれば、標的を結合するそのような抗体又はその免疫学的活性フラグメントは、マウス、他の齧歯類、ヒト化又は完全ヒトモノクローナル抗体である。

【００９５】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、多重特異的活性化可能抗体である。本明細書において提供される多重特異的活性化可能抗体は、複数の抗原又はエピトープを認識し、そして多重特異的抗体の少なくとも１つの抗原－又はエピトープ結合ドメインに連結される少なくとも１つのマスキング部分（ＭＭ）を含む多重特異的抗体であり、ここでＭＭのカップリングが、抗原－又はエピトープ－結合ドメインのその標的を結合する能力を低める。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、少なくとも１つのＭＭＰプロテアーゼのための基質として機能する切断可能部分（ＣＭ）を介して、多重特異的抗体の抗原－又はエピトープ－結合ドメインにカップリングされる。本明細書において提供される多重特異的活性化可能抗体は、循環において安定し、治療及び／又は診断の意図される部位で活性化されるが、しかし正常な、すなわち健康な組織においては活性化されず、そして活性化される場合、その対応する、修飾されていない多重特異的抗体に、少なくとも匹敵する標的への結合を示す。

【００９６】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、Ｊａｇｇｅｄ標的、例えばＪａｇｇｅｄ１及び／又はＪａｇｇｅｄ２を特異的に結合し、そしてＶＨ　ＣＤＲ１配列、ＶＨ　ＣＤＲ２配列及びＶＨ　ＣＤＲ３配列の組合せを含む第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を少なくとも含み、ここで前記ＶＨ　ＣＤＲ１配列、ＶＨ　ＣＤＲ２配列及びＶＨ　ＣＤＲ３配列の少なくとも１つは、アミノ酸配列ＳＹＡＭＳ（配列番号４９８）を少なくとも含むＶＨ　ＣＤＲ１配列；アミノ酸配列ＳＩＤＰＥＧＲＱＴＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号４９９）を少なくとも含むＶＨ　ＣＤＲ２配列；アミノ酸配列ＤＩＧＧＲＳＡＦＤＹ（配列番号５００）を含むＶＨ　ＣＤＲ３配列；及びそれらの組合せから選択される。

【００９７】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、Ｊａｇｇｅｄ標的、例えばＪａｇｇｅｄ１及び／又はＪａｇｇｅｄ２を特異的に結合し、そしてＶＬ　ＣＤＲ１配列、ＶＬ　ＣＤＲ２配列及びＶＬ　ＣＤＲ３配列の組合せを含む第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を少なくとも含み、ここで前記ＶＬ　ＣＤＲ１配列、ＶＬ　ＣＤＲ２配列及びＶＬ　ＣＤＲ３配列の少なくとも１つは、アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＩＳＳＹ（配列番号５０１）を少なくとも含むＶＨ　ＣＤＲ１配列；アミノ酸配列ＡＡＳＳＬＱＳ（配列番号５０２）を少なくとも含むＶＨ　ＣＤＲ２配列；アミノ酸配列ＱＱＴＶＶＡＰＰＬ（配列番号５０３）を含むＶＬ　ＣＤＲ３配列；及びそれらの組合せから選択される。

【００９８】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、Ｊａｇｇｅｄ標的、例えばＪａｇｇｅｄ１及び／又はＪａｇｇｅｄ２を特異的に結合し、そしてＶＨ　ＣＤＲ１配列、ＶＨ　ＣＤＲ２配列及びＶＨ　ＣＤＲ３配列の組合せを含む第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を少なくとも含み、ここで前記ＶＨ　ＣＤＲ１配列、ＶＨ　ＣＤＲ２配列及びＶＨ　ＣＤＲ３配列の少なくとも１つは、アミノ酸配列ＳＹＡＭＳ（配列番号４９８）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１配列；アミノ酸配列ＳＩＤＰＥＧＲＱＴＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号４９９）に対して、少なくとも

９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２配列；アミノ酸配列ＤＩＧＧＲＳＡＦＤＹ（配列番号５００）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３配列；及びそれらの組合せから選択される。

【００９９】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、Ｊａｇｇｅｄ標的、例えばＪａｇｇｅｄ１及び／又はＪａｇｇｅｄ２を特異的に結合し、そしてＶＬ　ＣＤＲ１配列、ＶＬ　ＣＤＲ２配列及びＶＬ　ＣＤＲ３配列の組合せを含む第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を少なくとも含み、ここで前記ＶＬ　ＣＤＲ１配列、ＶＬ　ＣＤＲ２配列及びＶＬ　ＣＤＲ３配列の少なくとも１つは、アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＩＳＳＹ（配列番号５０１）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１配列；アミノ酸配列ＡＡＳＳＬＱＳ（配列番号５０２）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２配列；アミノ酸配列ＱＱＴＶＶＡＰＰＬ（配列番号５０３）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３配列；及びそれらの組合せから選択される。

【０１００】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、Ｊａｇｇｅｄ標的、例えばＪａｇｇｅｄ１及び／又はＪａｇｇｅｄ２を特異的に結合し、そしてＶＨ　ＣＤＲ１配列、ＶＨ　ＣＤＲ２配列、ＶＨ　ＣＤＲ３配列、ＶＬ　ＣＤＲ１配列、ＶＬ　ＣＤＲ２配列、及びＶＬ　ＣＤＲ３配列の組合せを含む第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を少なくとも含み、ここで前記ＶＨ　ＣＤＲ１配列は、アミノ酸配列ＳＹＡＭＳ（配列番号４９８）を少なくとも含み；ＶＨ　ＣＤＲ２配列は、アミノ酸配列ＳＩＤＰＥＧＲＱＴＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号４９９）を少なくとも含み；ＶＨ　ＣＤＲ３配列は、アミノ酸配列ＤＩＧＧＲＳＡＦＤＹ（配列番号５００）を含み；ＶＬ　ＣＤＲ１配列は、アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＩＳＳＹ（配列番号５０１）を少なくとも含み；ＶＬ　ＣＤＲ２配列は、アミノ酸配列ＡＡＳＳＬＱＳ（配列番号５０２）を少なくとも含み；そしてＶＬ　ＣＤＲ３配列はアミノ酸配列ＱＱＴＶＶＡＰＰＬ（配列番号５０３）を含む。

【０１０１】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、Ｊａｇｇｅｄ標的、例えばＪａｇｇｅｄ１及び／又はＪａｇｇｅｄ２を特異的に結合し、そしてＶＨ　ＣＤＲ１配列、ＶＨ　ＣＤＲ２配列、ＶＨ　ＣＤＲ３配列、ＶＬ　ＣＤＲ１配列、ＶＬ　ＣＤＲ２配列及びＶＬ　ＣＤＲ３配列の組合せを含む第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を少なくとも含み、ここでＶＨ　ＣＤＲ１配列は、アミノ酸配列ＳＹＡＭＳ（配列番号４９８）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含み；ＶＨ　ＣＤ２配列は、アミノ酸配列ＳＩＤＰＥＧＲＱＴＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号４９９）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含み；ＶＨ　ＣＤＲ３配列は、アミノ酸配列ＤＩＧＧＲＳＡＦＤＹ（配列番号５００）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含み

；ＶＬ　ＣＤＲ１配列は、アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＩＳＳＹ（配列番号５０１）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含み；ＶＬ　ＣＤＲ２配列は、アミノ酸配列ＡＡＳＳＬＱＳ（配列番号５０２）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含み；そしてＶＬ　ＣＤＲ３配列は、アミノ酸配列ＱＱＴＶＶＡＰＰＬ（配列番号５０３）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含む。

【０１０２】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）を特異的に結合し、そしてＶＨ　ＣＤＲ１配列、ＶＨ　ＣＤＲ２配列及びＶＨ　ＣＤＲ３配列の組合せを含む第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を少なくとも含み、ここで前記ＶＨ　ＣＤＲ１配列、ＶＨ　ＣＤＲ２配列及びＶＨ　ＣＤＲ３配列の少なくとも１つは、アミノ酸配列ＮＹＧＶＨ（配列番号５０４）を少なくとも含むＶＨ　ＣＤＲ１配列；アミノ酸配列ＶＩＷＳＧＧＮＴＤＹＮＴＰＦＴＳ（配列番号５０５）を少なくとも含むＶＨ　ＣＤＲ２配列；アミノ酸配列ＡＬＴＹＹＤＹＥＦＡＹ（配列番号５０６）を含むＶＨ　ＣＤＲ３配列；及びそれらの組合せから選択される。

【０１０３】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、ＥＧＦＲを特異的に結合し、そしてＶＬ　ＣＤＲ１配列、ＶＬ　ＣＤＲ２配列及びＶＬ　ＣＤＲ３配列の組合せを含む第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を少なくとも含み、ここで前記ＶＬ　ＣＤＲ１配列、ＶＬ　ＣＤＲ２配列及びＶＬ　ＣＤＲ３配列の少なくとも１つは、アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＩＧＴＮＩＨ（配列番号５０７）を少なくとも含むＶＨ　ＣＤＲ１配列；アミノ酸配列ＫＹＡＳＥＳＩＳ（配列番号５０８）を少なくとも含むＶＨ　ＣＤＲ２配列；アミノ酸配列ＱＱＮＮＮＷＰＴＴ（配列番号５０９）を含むＶＨ　ＣＤＲ３配列；及びそれらの組合せから選択される。

【０１０４】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、ＥＧＦＲを特異的に結合し、そしてＶＨ　ＣＤＲ１配列、ＶＨ　ＣＤＲ２配列及びＶＨ　ＣＤＲ３配列の組合せを含む第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を少なくとも含み、ここで前記ＶＨ　ＣＤＲ１配列、ＶＨ　ＣＤＲ２配列及びＶＨ　ＣＤＲ３配列の少なくとも１つは、アミノ酸配列ＮＹＧＶＨ（配列番号５０４）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１配列；アミノ酸配列ＶＩＷＳＧＧＮＴＤＹＮＴＰＦＴＳ（配列番号５０５）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２配列；アミノ酸配列ＡＬＴＹＹＤＹＥＦＡＹ（配列番号５０６）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３配列；及びそれらの組合せから選択される。

【０１０５】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、ＥＧＦＲを特異的に

結合し、そしてＶＬ　ＣＤＲ１配列、ＶＬ　ＣＤＲ２配列及びＶＬ　ＣＤＲ３配列の組合せを含む第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を少なくとも含み、ここで前記ＶＬ　ＣＤＲ１配列、ＶＬ　ＣＤＲ２配列及びＶＬ　ＣＤＲ３配列の少なくとも１つは、アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＩＧＴＮＩＨ（配列番号５０７）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１配列；アミノ酸配列ＫＹＡＳＥＳＩＳ（配列番号５０８）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２配列；アミノ酸配列ＱＱＮＮＮＷＰＴＴ（配列番号５０９）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３配列；及びそれらの組合せから選択される。

【０１０６】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、ＥＧＦＲを特異的に結合し、そしてＶＨ　ＣＤＲ１配列、ＶＨ　ＣＤＲ２配列、ＶＨ　ＣＤＲ３配列、ＶＬ　ＣＤＲ１配列、ＶＬ　ＣＤＲ２配列、及びＶＬ　ＣＤＲ３配列の組合せを含む第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を少なくとも含み、ここで前記ＶＨ　ＣＤＲ１配列は、アミノ酸配列ＮＹＧＶＨ（配列番号５０４）を少なくとも含み；ＶＨ　ＣＤＲ２配列は、アミノ酸配列ＶＩＷＳＧＧＮＴＤＹＮＴＰＦＴＳ（配列番号５０５）を少なくとも含み；ＶＨ　ＣＤＲ３配列は、アミノ酸配列ＡＬＴＹＹＤＹＥＦＡＹ（配列番号５０６）を含み；ＶＬ　ＣＤＲ１配列は、アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＩＧＴＮＩＨ（配列番号５０７）を少なくとも含み；ＶＬ　ＣＤＲ２配列は、アミノ酸配列ＫＹＡＳＥＳＩＳ（配列番号５０８）を少なくとも含み；そしてＶＬ　ＣＤＲ３配列はアミノ酸配列ＱＱＮＮＮＷＰＴＴ（配列番号５０９）を含む。

【０１０７】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、ＥＧＦＲを特異的に結合し、そしてＶＨ　ＣＤＲ１配列、ＶＨ　ＣＤＲ２配列、ＶＨ　ＣＤＲ３配列、ＶＬ　ＣＤＲ１配列、ＶＬ　ＣＤＲ２配列及びＶＬ　ＣＤＲ３配列の組合せを含む第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を少なくとも含み、ここでＶＨ　ＣＤＲ１配列は、アミノ酸配列ＮＹＧＶＨ（配列番号５０４）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含み；ＶＨ　ＣＤ２配列は、アミノ酸配列ＶＩＷＳＧＧＮＴＤＹＮＴＰＦＴＳ（配列番号５０５）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含み；ＶＨ　ＣＤＲ３配列は、アミノ酸配列ＡＬＴＹＹＤＹＥＦＡＹ（配列番号５０６）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含み；ＶＬ　ＣＤＲ１配列は、アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＩＧＴＮＩＨ（配列番号５０７）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含み；ＶＬ　ＣＤＲ２配列は、アミノ酸配列ＫＹＡＳＥＳＩＳ（配列番号５０８）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含み；そしてＶＬ　ＣＤＲ３配列は、アミノ酸配列ＱＱＮＮＮＷＰＴＴ（配列番号５０９）に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上同一である配列を含む。

【０１０８】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、配列番号５４、５６、５７、５８、６１、６３、６５、６８、７０、７２、７６、７８、８０、８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、９６、９８、１００、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、及び １１４から成る群から選択されるＨ鎖アミノ酸配列を少なくとも含む。いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、配列番号５５、５９、６０、６２、６４、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９、８１、８３、８５、８７、８９、９１、９３、９５、９７、９９、１０１、１０３、１０５、１０７、１０９、１１１及び１１３から成る群から選択されるＬ鎖アミノ酸配列を少なくとも含む。いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、配列番号５４、５６、５７、５８、６１、６３、６５、６８、７０、７２、７６、７８、８０、８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、９６、９８、１００、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、及び １１４から成る群から選択されるＨ鎖アミノ酸配列、及び配列番号５５、５９、６０、６２、６４、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９、８１、８３、８５、８７、８９、９１、９３、９５、９７、９９、１０１、１０３、１０５、１０７、１０９、１１１及び１１３から成る群から選択されるＬ鎖アミノ酸配列を少なくとも含む。

【０１０９】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、配列番号５４、５６、５７、５８、６１、６３、６５、６８、７０、７２、７６、７８、８０、８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、９６、９８、１００、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、及び １１４から成る群から選択されるアミノ酸配列に対して、少なくとも９０％、９１％、 ９２％、 ９３％、 ９４％、 ９５％、 ９６％、 ９７％、 ９８％、 ９９％又はそれ以上同一であるＨ鎖アミノ酸配列を少なくとも含む。いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、配列番号５５、５９、６０、６２、６４、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９、８１、８３、８５、８７、８９、９１、９３、９５、９７、９９、１０１、１０３、１０５、１０７、１０９、１１１及び１１３から成る群から選択されるアミノ酸配列に対して、少なくとも９０％、９１％、 ９２％、 ９３％、 ９４％、 ９５％、 ９６％、 ９７％、 ９８％、 ９９％又はそれ以上同一であるＬ鎖アミノ酸配列を少なくとも含む。いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、例えば本開示の多重特異的活性化可能抗体及び／又は接合された多重特異的活性化可能抗体（但し、それらだけには限定されない）は、配列番号５４、５６、５７、５８、６１、６３、６５、６８、７０、７２、７６、７８、８０、８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、９６、９８、１００、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２、及び １１４から成る群から選択されるアミノ酸配列に対して、少なくとも９０％、９１％、 ９２％、 ９３％、 ９４％、 ９５％、 ９６％、 ９７％、 ９８％、 ９９％又はそれ以上同一であるＨ鎖アミノ酸配列、及び配列番号５５、５９、６０、６２、６４、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９、８１、８３、８５、８７、８９、９１、９３、９５、９７、９９、１０１、１０３、１０５、１０７、１０９、１１１及び１１３から成る群から選択されるアミノ酸配列に対して、少なくとも９０％、９１％、 ９２％、 ９３％、 ９４％、 ９５％、 ９６％、 ９７％

、９８％、９９％又はそれ以上同一であるＬ鎖アミノ酸配列を少なくとも含む。
【０１１０】
いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、標的へのＡＢの平衡解離定数よりも高い、ＡＢへの結合のための平衡解離定数を有する。
【０１１１】
いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、標的へのＡＢの平衡解離定数以下である、Ａｂへの結合のための平衡解離定数を有する。
【０１１２】
いくつかの実施形態によれば、ＭＭ、切断された状態で標的への結合のためにＡＢを妨害も又はそれと競争もしない。
【０１１３】
いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、約２－４０個の長さのアミノ酸のポリペプチドである。例えば、ＭＭは、約４０個までの長さのアミノ酸のポリペプチドである。
【０１１４】
いくつかの実施形態によれば、ＭＭポリペプチド配列は、ＡＢの任意の天然の結合パートナーのその配列とは異なる。いくつかの実施形態によれば、ＭＭポリペプチド配列は、ＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して５０％以下、同一である。いくつかの実施形態によれば、ＭＭポリペプチド配列は、ＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して、４０％、３０％、２５％、２０％、１５％又は１０％以下、同一である。
【０１１５】
いくつかの実施形態によれば、ＡＢへのＭＭのカップリングは、ＡＢのその標的を結合する能力を低め、結果的に、標的側のＭＭにカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、標的側のＭＭにカップリングされない場合のＡＢのK_dよりも少なくとも２倍、高い。
【０１１６】
いくつかの実施形態によれば、ＡＢへのＭＭのカップリングは、ＡＢのその標的を結合する能力を低め、結果的に、標的側のＭＭにカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、標的側のＭＭにカップリングされない場合のＡＢのK_dよりも少なくとも３倍、高い。
【０１１７】
いくつかの実施形態によれば、ＡＢへのＭＭのカップリングは、ＡＢのその標的を結合する能力を低め、結果的に、標的側のＭＭにカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、標的側のＭＭにカップリングされない場合のＡＢのK_dよりも少なくとも５倍、高い。
【０１１８】
いくつかの実施形態によれば、ＡＢへのＭＭのカップリングは、ＡＢのその標的を結合する能力を低め、結果的に、標的側のＭＭにカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、標的側のＭＭにカップリングされない場合のＡＢのK_dよりも少なくとも１０倍、高い。
【０１１９】
いくつかの実施形態によれば、ＡＢへのＭＭのカップリングは、ＡＢのその標的を結合する能力を低め、結果的に、標的側のＭＭにカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、標的側のＭＭにカップリングされない場合のＡＢのK_dよりも少なくとも２０倍、高い。
【０１２０】
いくつかの実施形態によれば、ＡＢへのＭＭのカップリングは、ＡＢのその標的を結合する能力を低め、結果的に、標的側のＭＭにカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、標的側のＭＭにカップリングされない場合のＡＢのK_dよりも少なくとも４０倍、高い。
【０１２１】

いくつかの実施形態によれば、ＡＢへのＭＭのカップリングは、ＡＢのその標的を結合する能力を低め、結果的に、標的側のＭＭにカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、標的側のＭＭにカップリングされない場合のＡＢのK_dよりも少なくとも１００倍、高い。

【０１２２】

いくつかの実施形態によれば、ＡＢへのＭＭのカップリングは、ＡＢのその標的を結合する能力を低め、結果的に、標的側のＭＭにカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、標的側のＭＭにカップリングされない場合のＡＢのK_dよりも少なくとも１０００倍、高い。

【０１２３】

いくつかの実施形態によれば、ＡＢへのＭＭのカップリングは、ＡＢのその標的を結合する能力を低め、結果的に、標的側のＭＭにカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、標的側のＭＭにカップリングされない場合のＡＢのK_dよりも少なくとも１０，０００倍、高い。

【０１２４】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭＰプロテアーゼは、組織において標的と共局在化され、そしてＭＭＰは、活性化可能抗体がＭＭＰに暴露される場合、活性化可能抗体中のＣＭを切断する。

【０１２５】

いくつかの実施形態によれば、標的の存在下で、ＭＭは、標的置換アッセイ、例えばＰＣＴ国際公開番号２００９／０２５８４６号及び第２０１０／０８１１７３号に記載されるアッセイを用いて、インビトロでアッセイされる場合、ＣＭが切断されている場合に比較して、ＣＭが切断されていない場合、標的を結合するＡＢの能力を、少なくとも９０％低める。

【０１２６】

いくつかの実施形態によれば、未切断状態で、標的への活性化可能抗体の結合が、標的への未修飾ＡＢ結合の平衡解離定数よりも少なくとも２倍、高い平衡解離定数で生じるよう低められるが、ところが切断された状態で（すなわち、活性化可能抗体が切断された状態にある場合）、ＡＢは標的を結合するよう、ＣＭは活性化可能抗体に配置される。

【０１２７】

いくつかの実施形態によれば、未切断状態で、標的への活性化可能抗体の結合が、標的への未修飾ＡＢ結合の平衡解離定数よりも少なくとも５倍、高い平衡解離定数で生じるよう低められるが、ところが切断された状態で（すなわち、活性化可能抗体が切断された状態にある場合）、ＡＢは標的を結合するよう、ＣＭは活性化可能抗体に配置される。

【０１２８】

いくつかの実施形態によれば、未切断状態で、標的への活性化可能抗体の結合が、標的への未修飾ＡＢ結合の平衡解離定数よりも少なくとも１０倍、高い平衡解離定数で生じるよう低められるが、ところが切断された状態で（すなわち、活性化可能抗体が切断された状態にある場合）、ＡＢは標的を結合するよう、ＣＭは活性化可能抗体に配置される。

【０１２９】

いくつかの実施形態によれば、未切断状態で、標的への活性化可能抗体の結合が、標的への未修飾ＡＢ結合の平衡解離定数よりも少なくとも２０倍、高い平衡解離定数で生じるよう低められるが、ところが切断された状態で（すなわち、活性化可能抗体が切断された状態にある場合）、ＡＢは標的を結合するよう、ＣＭは活性化可能抗体に配置される。

【０１３０】

いくつかの実施形態によれば、未切断状態で、標的への活性化可能抗体の結合が、標的への未修飾ＡＢ結合の平衡解離定数よりも少なくとも４０倍、高い平衡解離定数で生じるよう低められるが、ところが切断された状態で（すなわち、活性化可能抗体が切断された状態にある場合）、ＡＢは標的を結合するよう、ＣＭは活性化可能抗体に配置される。

【０１３１】

いくつかの実施形態によれば、未切断状態で、標的への活性化可能抗体の結合が、標的への未修飾ＡＢ結合の平衡解離定数よりも少なくとも５０倍、高い平衡解離定数で生じるよう低められるが、ところが切断された状態で（すなわち、活性化可能抗体が切断された状態にある場合）、ＡＢは標的を結合するよう、ＣＭは活性化可能抗体に配置される。

【０１３２】

いくつかの実施形態によれば、未切断状態で、標的への活性化可能抗体の結合が、標的への未修飾ＡＢ結合の平衡解離定数よりも少なくとも１００倍、高い平衡解離定数で生じるよう低められるが、ところが切断された状態で（すなわち、活性化可能抗体が切断された状態にある場合）、ＡＢは標的を結合するよう、ＣＭは活性化可能抗体に配置される。

【０１３３】

いくつかの実施形態によれば、未切断状態で、標的への活性化可能抗体の結合が、標的への未修飾ＡＢ結合の平衡解離定数よりも少なくとも２００倍、高い平衡解離定数で生じるよう低められるが、ところが切断された状態で（すなわち、活性化可能抗体が切断された状態にある場合）、ＡＢは標的を結合するよう、ＣＭは活性化可能抗体に配置される。

【０１３４】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、１５個までの長さのアミノ酸のポリペプチドである。

【０１３５】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくとも１つのマトリックス・メタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）のための基質である。ＭＭＰの例としては、次のものを包含する：ＭＭＰ１；ＭＭＰ２；ＭＭＰ３；ＭＭＰ７；ＭＭＰ８；ＭＭＰ９；ＭＭＰ１０；ＭＭＰ１１；ＭＭＰ１２；ＭＭＰ１３；ＭＭＰ１４；ＭＭＰ１５；ＭＭＰ１６;ＭＭＰ１７；ＭＭＰ１９；ＭＭＰ２０；ＭＭＰ２３；ＭＭＰ２４；ＭＭＰ２６；及び ＭＭＰ２７。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、ＭＭＰ９、ＭＭＰ１４、ＭＭＰｌ、ＭＭＰ３、ＭＭＰ１３、ＭＭＰｌ７、ＭＭＰｌ１、及び ＭＭＰｌ９のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、ＭＭＰ９のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、ＭＭＰ１４のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、複数のＭＭＰのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくともＭＭＰ９及びＭＭＰ１４のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、同じＭＭＰのための複数の基質を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくとも複数のＭＭＰ９基質を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくとも複数のＭＭＰ１４基質を含む。

【０１３６】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、ＭＭＰのための基質であり、そして配列ＩＳＳＧＬＬＳＳ（配列番号１４)；ＱＮＱＡＬＲＭＡ （配列番号１５）；ＡＱＮＬＬＧＭＶ（配列番号１６)；ＳＴＦＰＦＧＭＦ（配列番号１７)；ＰＶＧＹＴＳＳＬ（配列番号１８)；ＤＷＬＹＷＰＧＩ（配列番号１９)；ＭＩＡＰＶＡＹＲ（配列番号２０)；ＲＰＳＰＭＷＡＹ（配列番号２１)；ＷＡＴＰＲＰＭＲ（配列番号２２)；ＦＲＬＬＤＷＱＷ（配列番号２３)；ＬＫＡＡＰＲＷＡ（配列番号２４)；ＧＰＳＨＬＶＬＴ（配列番号２５)；ＬＰＧＧＬＳＰＷ（配列番号２６)；ＭＧＬＦＳＥＡＧ（配列番号２７)；ＳＰＬＰＬＲＶＰ（配列番号２８)；ＲＭＨＬＲＳＬＧ（配列番号２９)；ＬＡＡＰＬＧＬＬ（配列番号３０)；ＡＶＧＬＬＡＰＰ（配列番号３１)；ＬＬＡＰＳＨＲＡ（配列番号３２)；ＰＡＧＬＷＬＤＰ（配列番号３３)；及び/又はＩＳＳＧＬＳＳ（配列番号１５９)を包含する。

【０１３７】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＩＳＳＧＬＬＳＳ（配列番号１４)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＱＮＱＡＬＲＭＡ （配列番号１５）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＡＱＮＬＬＧＭＶ（配列番号１６)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＳＴＦＰＦＧＭＦ（配列番号１７)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＰＶＧＹＴＳＳＬ（配列番号１８)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＤＷＬＹＷＰＧＩ（配列番号１９)を含む。いくつかの実施形態によれば、Ｃ

Ｍは、アミノ酸配列ＭＩＡＰＶＡＹＲ（配列番号２０）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＲＰＳＰＭＷＡＹ（配列番号２１）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＷＡＴＰＲＰＭＲ（配列番号２２）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＦＲＬＬＤＷＱＷ（配列番号２３）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＫＡＡＰＲＷＡ（配列番号２４）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＧＰＳＨＬＶＬＴ（配列番号２５）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＰＧＧＬＳＰＷ（配列番号２６）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＭＧＬＦＳＥＡＧ（配列番号２７）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＳＰＬＰＬＲＶＰ（配列番号２８）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＲＭＨＬＲＳＬＧ（配列番号２９）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＡＡＰＬＧＬＬ（配列番号３０）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＡＶＧＬＬＡＰＰ（配列番号３１）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＬＬＡＰＳＨＲＡ（配列番号３２）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＰＡＧＬＷＬＤＰ（配列番号３３）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、アミノ酸配列ＩＳＳＧＬＳＳ（配列番号１５９）を含む。

【０１３８】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、少なくとも２種のプロテアーゼのための基質である。いくつかの実施形態によれば、少なくとも１つのプロテアーゼはＭＭＰであり、そして少なくとも１つのプロテアーゼは、表７に示されるそれらの酵素から成る群から選択される。

【０１３９】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は少なくとも、第１ＣＭ及び第２ＣＭを含む。いくつかの実施形態によれば、前記第１ＣＭ及び第２ＣＭは、それぞれ、１５以下の長さのアミノ酸のポリペプチドである。いくつかの実施形態によれば、未切断状態下での活性化可能抗体中の第１ＣＭ及び第２ＣＭは、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：ＭＭ－ＣＭ１－ＣＭ２－ＡＢ、ＡＢ－ＣＭ２－ＣＭ１－ＭＭ、ＭＭ－ＣＭ２－ＣＭ１－ＡＢ又はＡＢ－ＣＭ１－ＣＭ２－ＭＭ。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＭＭとＣＭ１との間に連結ペプチドを含む。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＣＭ１とＣＭ２との間に連結ペプチドを含む。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＣＭ２とＡＢとの間に連結ペプチドを含む。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＭＭとＣＭ１との間に連結ペプチド、及びＣＭ２とＡＢとの間に連結ペプチドを含む。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＭＭとＣＭ１との間に連結ペプチド、及びＣＭ１とＣＭ２との間に連結ペプチドを含む。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＣＭ１とＣＭ２との間に連結ペプチド、及びＣＭ２とＡＢとの間に連結ペプチドを含む。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＭＭとＣＭ１との間に連結ペプチド、ＣＭ１とＣＭ２との間に連結ペプチド、及びＣＭ２とＡＢとの間に連結ペプチドを含む。

【０１４０】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、少なくとも１つのマトリックス・メタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）のための基質を含む第１ＣＭ、及び基質配列を含む第２ＣＭを少なくとも含む。第２ＣＭ（ＣＭ２）のための典型的な基質は、表７に列挙される１又は２以上の次の酵素又はプロテアーゼにより切断できる基質を包含するが、但しそれらだけには制限されない。

【０１４１】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、特定のプロテアーゼとの使用のために選択される。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、マトリックス・メタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）、好中球エステラーゼ、u型プラスミノーゲン活性化因子（ｕＰＡ、また、ウロキナーゼとも呼ばれる）、レグマイン、マトリプターゼ（ＭＴ－ＳＰ１）、トロンビン、シ

ステインプロテアーゼ、例えばカテプシン、ＡＤＡＭ１７、ＢＭＰ－１、ＨｔｒＡ１及びＴＭＰＲＳＳ、例えばＴＭＰＲＳＳ３又はＴＭＰＲＳＳ４から成る群から選択される、少なくとも１つのプロテアーゼのための基質である。

【０１４２】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、好中球エラスターゼのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ｕＰＡのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、レグマインのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、マトリプターゼのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、トロンビンのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、システインプロテアーゼのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、カテプシンのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ＡＤＡＭ１７のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ＢＭＰ－１のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ＨｔｒＡ１のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ＴＭＰＲＳＳのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ＴＭＰＲＳＳ３のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ＴＭＰＲＳＳ４のための基質である。

【０１４３】

いくつかの実施形態によれば、適切なＣＭ２は、少なくとも１つのプロテアーゼにより切断され、そして配列ＴＧＲＧＰＳＷＶ（配列番号３４）；ＳＡＲＧＰＳＲＷ（配列番号３５）;ＴＡＲＧＰＳＦＫ（配列番号３６）；ＬＳＧＲＳＤＮＨ（配列番号３７）；ＧＧＷＨＴＧＲＮ（配列番号３８）；ＨＴＧＲＳＧＡＬ（配列番号３９）；ＰＬＴＧＲＳＧＧ（配列番号４０）；ＡＡＲＧＰＡＩＨ（配列番号４１）；ＲＧＰＡＦＮＰＭ（配列番号４２）；ＳＳＲＧＰＡＹＬ（配列番号４３）;ＲＧＰＡＴＰＩＭ（配列番号４４）；ＲＧＰＡ（配列番号４５）；ＧＧＱＰＳＧＭＷＧＷ（配列番号４６）；ＦＰＲＰＬＧＩＴＧＬ（配列番号４７）；ＶＨＭＰＬＧＦＬＧＰ（配列番号４８）;ＳＰＬＴＧＲＳＧ（配列番号４９）；ＳＡＧＦＳＬＰＡ（配列番号１２６）；ＬＡＰＬＧＬＱＲＲ（配列番号５０）；ＳＧＧＰＬＧＶＲ（配列番号５１）；ＰＬＧＬ（配列番号５２）；ＧＰＲＳＦＧＬ（配列番号３１５）及び/又はＧＰＲＳＦＧ（配列番号３１６）を含む。

【０１４４】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＴＧＲＧＰＳＷＶ（配列番号３４）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＳＡＲＧＰＳＲＷ（配列番号３５）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＴＡＲＧＰＳＦＫ（配列番号３６）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＬＳＧＲＳＤＮＨ（配列番号３７）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＧＧＷＨＴＧＲＮ（配列番号３８）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＨＴＧＲＳＧＡＬ（配列番号３９）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＰＬＴＧＲＳＧＧ（配列番号４０）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＡＡＲＧＰＡＩＨ（配列番号４１）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＲＧＰＡＦＮＰＭ（配列番号４２）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＳＳＲＧＰＡＹＬ（配列番号４３）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＲＧＰＡＴＰＩＭ（配列番号４４）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＲＧＰＡ（配列番号４５）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＧＧＱＰＳＧＭＷＧＷ（配列番号４６）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＦＰＲＰＬＧＩＴＧＬ（配列番号４７）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＶＨＭＰＬＧＦＬＧＰ（配列番号４８）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＳＰＬＴＧＲＳＧ（配列番号４９）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＬＡＰＬＧＬＱＲＲ（配列番号５０）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＳＧＧＰＬＧＶＲ（配列番号５１）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列

ＰＬＧＬ(配列番号 ５２)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＧＰＲＳＦＧＬ(配列番号 ３１５)を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、アミノ酸配列ＧＰＲＳＦＧ(配列番号 ３１６)を含む。

【０１４５】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、少なくとも１つのＭＭＰのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、表７に列挙される少なくとも１つのＭＭＰのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ＭＭＰ９のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、ＭＭＰのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１は第１ＭＭＰのための基質であり、そしてＣＭ２は第２ＭＭＰのための基質であり、ここで第１ＭＭＰ及び第２ＭＭＰは異なったＭＭＰである。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１はＭＭＰのための第１基質配列であり、そしてＣＭ２は同じＭＭＰのための第２基質であり、ここでＣＭ１及びＣＭ２は異なった基質配列を有する。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は複数のＭＭＰのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は少なくともＭＭＰ９又はＭＭＰ１４のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は複数のＭＭｐのための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は少なくともＭＭＰ９及びＭＭＰ１４のための基質である。いくつかの実施形態によればＣＭ１及びＣＭ２は両者とも、ＭＭＰ９のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１及びＣＭ２は両者ともＭＭＰ１４のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１はＭＭＰ９のための基質であり、そしてＣＭ２はＭＭＰ１４のための基質である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１はＭＭＰ１４のための基質であり、そしてＣＭ２はＭＭＰ９のための基質である。

【０１４６】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１及び/又はＣＭ２の少なくとも１つは、ＭＭＰのための基質であり、そして配列ＩＳＳＧＬＬＳＳ(配列番号１４)；ＱＮＱＡＬＲＭＡ（配列番号１５）；ＡＱＮＬＬＧＭＶ(配列番号１６)；ＳＴＦＰＦＧＭＦ(配列番号１７)；ＰＶＧＹＴＳＳＬ(配列番号１８)；ＤＷＬＹＷＰＧＩ(配列番号１９)；ＭＩＡＰＶＡＹＲ(配列番号２０)；ＲＰＳＰＭＷＡＹ(配列番号２１)；ＷＡＴＰＲＰＭＲ(配列番号２２)；ＦＲＬＬＤＷＱＷ(配列番号２３)；ＬＫＡＡＰＲＷＡ(配列番号２４)；ＧＰＳＨＬＶＬＴ(配列番号２５)；ＬＰＧＧＬＳＰＷ(配列番号２６)；ＭＧＬＦＳＥＡＧ(配列番号２７)；ＳＰＬＰＬＲＶＰ(配列番号２８)；ＲＭＨＬＲＳＬＧ(配列番号２９)；ＬＡＡＰＬＧＬＬ(配列番号３０)；ＡＶＧＬＬＡＰＰ(配列番号３１)；ＬＬＡＰＳＨＲＡ(配列番号３２)；ＰＡＧＬＷＬＤＰ(配列番号３３)；及び/又はＩＳＳＧＬＳＳ(配列番号１５９)を含む。

【０１４７】

いくつかの実施形態によれば、第１切断剤及び第２切断剤は同じマトリックス・メタロプロテアーゼであり、そして第１ＣＭ及び第２ＣＭは、酵素のための異なった基質である。いくつかの実施形態によれば、第１切断剤及び第２切断剤は異なったプロテアーゼであり、ここで少なくとも１つのプロテアーゼはＭＭＰである。いくつかの実施形態によれば、第１切断及び第２切断剤は、標的組織に共局在される。いくつかの実施形態によれば、第１ＣＭ及び第２ＣＭは、標的組織において少なくとも１つの切断剤により切断される。

【０１４８】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＭＭＰに暴露され、そしてそれにより切断され、結果的に活性化された又は切断された状態で、活性化された抗体は、ＭＭＰがＣＭを切断した後、ＬＰ２及び／又はＣＭ配列の一部を少なくとも含むＬ鎖アミノ酸配列を含む。

【０１４９】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、プロテアーゼ切断部位の非プライム側を含み；すなわち、ＣＭはＰ１及びＰ２アミノ酸を少なくとも含み、そしていくつかの実施形態によれば、Ｐ１、Ｐ２及びＰ３アミノ酸を含み、そしていくつかの実施形態によれば、Ｐ１、Ｐ２、Ｐ３及びＰ４アミノ酸を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、プロテア

ーゼの切断部位の非プライム側及びプライム側を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、プロテアーゼ切断部位の非プライム側を含むが、しかしプライム側の少なくとも一部を欠いている。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、プロテアーゼ切断部位の非プライム側を含むが、しかしプライム側を欠いている。そのようなＣＭは、抗体又は本明細書に開示されるような他の分子、例えば検出部分（但し、それだけには限定されない）に対して直接的に、又はリンカーを介して連結され得る。

【０１５０】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、セツキシマブ又はパニツムマブであるか又はそれらに由来するＡＢ；配列番号１６０、１６７－２００及び４９７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＭＭ：及び配列番号１４－３３及び１５９から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＭを少なくとも含む抗－ＥＧＦＲ活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、セツキシマブ又はパニツムマブであるか又はそれらに由来するＡＢ；配列番号１６０、１６７－２００及び４９７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＭＭ：及び表８Ａ－８Ｍに提供される配列から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＭを少なくとも含む抗－ＥＧＦＲ活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、抗－ＥＧＦＲ活性化可能抗体はまた、第１連結ペプチド（ＬＰ１）及び第２連結ペプチド（ＬＰ２）も含み、そして未切断状態下での活性化可能抗体は、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：ＭＭ－ＬＰ１－ＣＭ－ＬＰ２－ＡＢ又はＡＢ－ＬＰ２－ＣＭ－ＬＰ１－ＭＭ。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１及びＬＰ２の個々は、約１－２０個の長さのアミノ酸のペプチドである。いくつかの実施形態によれば、前記２種の連結ペプチドは、お互い同一である必要はない。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、$(GS)_n$、$(GGS)_n$、$(GSGGS)_n$（配列番号１）及び$(GGGS)_n$（配列番号２）（ｎは少なくとも１つの整数である）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、ＧＧＳＧ（配列番号３）、ＧＧＳＧＧ（配列番号４）、ＧＳＧＳＧ（配列番号５）、ＧＳＧＧＧ（配列番号６）、ＧＧＧＳＧ（配列番号７）、及びＧＳＳＳＧ（配列番号８）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１は、アミノ酸配列ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号９）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧ（配列番号１０）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳ（配列番号１１）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１５５）、ＧＳＳＧＳＧＧＳＧＳＧ（配列番号１５６）、又はＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＳ（配列番号１５７）を含む。いくつかの実施形態によれば。ＬＰ２は、アミノ酸配列ＧＳＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１５８）、ＧＳＳＧＴ（配列番号１２）又はＧＳＳＧ（配列番号１３）を含む。

【０１５１】

いくつかの実施形態によれば、配列番号５０４のＶＨ　ＣＤＲ１配列、配列番号５０５のＶＨ　ＣＤＲ２配列、配列番号５０６のＶＨ　ＣＤＲ３配列、配列番号５０７のＶＬ　ＣＤＲ１配列、配列番号５０８のＶＬ　ＣＤＲ２配列、及び配列番号５０９のＶＬ　ＣＤＲ３配列を含むＨ鎖アミノ酸配列を含むＡＢ；配列番号１６０、１６７－２００及び４９７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＭＭ：及び配列番号１４－３３及び１５９から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＭを少なくとも含む抗－ＥＧＦＲ活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、配列番号５０４のＶＨ　ＣＤＲ１配列、配列番号５０５のＶＨ　ＣＤＲ２配列、配列番号５０６のＶＨ　ＣＤＲ３配列、配列番号５０７のＶＬ　ＣＤＲ１配列、配列番号５０８のＶＬ　ＣＤＲ２配列、及び配列番号５０９のＶＬ　ＣＤＲ３配列を含むＨ鎖アミノ酸配列を含むＡＢ；配列番号１６０、１６７－２００及び４９７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＭＭ：及び表８Ａ－８Ｍに提供される配列から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＭを少なくとも含む抗－ＥＧＦＲ活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、抗－ＥＧＦＲ活性化可能抗体はまた、第１連結ペプチド（ＬＰ１）及び第２連結ペプチド（ＬＰ２）も含み、そして未切断状態下での活性化可能抗体は、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：ＭＭ－ＬＰ１－ＣＭ－ＬＰ２－ＡＢ又はＡＢ－ＬＰ２－ＣＭ－ＬＰ１－Ｍ

Ｍ。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１及びＬＰ２の個々は、約１－２０個の長さのアミノ酸のペプチドである。いくつかの実施形態によれば、前記２種の連結ペプチドは、お互い同一である必要はない。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、（ＧＳ）$_n$、（ＧＧＳ）$_n$、（ＧＳＧＧＳ）$_n$（配列番号１）及び（ＧＧＧＳ）$_n$（配列番号２）（ｎは少なくとも１つの整数である）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、ＧＧＳＧ（配列番号３）、ＧＧＳＧＧ（配列番号４）、ＧＳＧＳＧ（配列番号５）、ＧＳＧＧＧ（配列番号６）、ＧＧＧＳＧ（配列番号７）、及びＧＳＳＳＧ（配列番号８）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１は、アミノ酸配列ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号９）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧ（配列番号１０）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳ（配列番号１１）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１５５）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号１５６）、又はＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＳ（配列番号１５７）を含む。いくつかの実施形態によれば。ＬＰ２は、アミノ酸配列ＧＳＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１５８）、ＧＳＳＧＴ（配列番号１２）又はＧＳＳＧ（配列番号１３）を含む。

【０１５２】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、配列番号５６，５７又は５８のＨ鎖アミノ酸配列、及び配列番号５９のＬ鎖アミノ酸配列を含むＡＢ；配列番号１６０、１６７－２００及び４９７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＭＭ：及び配列番号１４－３３及び１５９から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＭを少なくとも含む抗－ＥＧＦＲ活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、配列番号５６，５７又は５８のＨ鎖アミノ酸配列、及び配列番号５９のＬ鎖アミノ酸配列を含むＡＢ；配列番号１６０、１６７－２００及び４９７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＭＭ：及び表８Ａ－８Ｍに提供される配列から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＭを少なくとも含む抗－ＥＧＦＲ活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、抗－ＥＧＦＲ活性化可能抗体はまた、第１連結ペプチド（ＬＰ１）及び第２連結ペプチド（ＬＰ２）も含み、そして未切断状態下での活性化可能抗体は、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：ＭＭ－ＬＰ１－ＣＭ－ＬＰ２－ＡＢ又はＡＢ－ＬＰ２－ＣＭ－ＬＰ１－ＭＭ。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１及びＬＰ２の個々は、約１－２０個の長さのアミノ酸のペプチドである。いくつかの実施形態によれば、前記２種の連結ペプチドは、お互い同一である必要はない。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、（ＧＳ）$_n$、（ＧＧＳ）$_n$、（ＧＳＧＧＳ）$_n$（配列番号１）及び（ＧＧＧＳ）$_n$（配列番号２）（ｎは少なくとも１つの整数である）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、ＧＧＳＧ（配列番号３）、ＧＧＳＧＧ（配列番号４）、ＧＳＧＳＧ（配列番号５）、ＧＳＧＧＧ（配列番号６）、ＧＧＧＳＧ（配列番号７）、及びＧＳＳＳＧ（配列番号８）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１は、アミノ酸配列ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号９）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧ（配列番号１０）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳ（配列番号１１）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１５５）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号１５６）、又はＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＳ（配列番号１５７）を含む。いくつかの実施形態によれば。ＬＰ２は、アミノ酸配列ＧＳＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１５８）、ＧＳＳＧＴ（配列番号１２）又はＧＳＳＧ（配列番号１３）を含む。

【０１５３】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、配列番号５６のＨ鎖アミノ酸配列、及び配列番号５９のＬ鎖アミノ酸配列を含むＡＢ；配列番号１６０のアミノ酸配列を含むＭＭ：及び配列番号１４－３３及び１５９から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＭを少なくとも含む抗－ＥＧＦＲ活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、配列番号５６のＨ鎖アミノ酸配列、及び配列番号５９のＬ鎖アミノ酸配列を含むＡＢ；配列番号１６０のアミノ酸配列を含むＭＭ：及び表８Ａ－８Ｍに提供

される配列から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＭを少なくとも含む抗－ＥＧＦＲ活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、抗－ＥＧＦＲ活性化可能抗体はまた、第１連結ペプチド（ＬＰ１）及び第２連結ペプチド（ＬＰ２）も含み、そして未切断状態下での活性化可能抗体は、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：ＭＭ－ＬＰ１－ＣＭ－ＬＰ２－ＡＢ又はＡＢ－ＬＰ２－ＣＭ－ＬＰ１－ＭＭ。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１及びＬＰ２の個々は、約１－２０個の長さのアミノ酸のペプチドである。いくつかの実施形態によれば、前記２種の連結ペプチドは、お互い同一である必要はない。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、（ＧＳ）$_n$、（ＧＧＳ）$_n$、（ＧＳＧＧＳ）$_n$（配列番号１）及び（ＧＧＧＳ）$_n$（配列番号２）（ｎは少なくとも１つの整数である）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、ＧＧＳＧ（配列番号３）、ＧＧＳＧＧ（配列番号４）、ＧＳＧＳＧ（配列番号５）、ＧＳＧＧＧ（配列番号６）、ＧＧＧＳＧ（配列番号７）、 及び ＧＳＳＳＧ（配列番号８）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１は、アミノ酸配列ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号９）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧ（配列番号１０）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳ（配列番号１１）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１５５）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号１５６）、又はＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＳ（配列番号１５７）を含む。いくつかの実施形態によれば。ＬＰ２は、アミノ酸配列ＧＳＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１５８）、ＧＳＳＧＴ（配列番号１２）又は ＧＳＳＧ（配列番号１３）を含む。

【０１５４】

いくつかの実施形態によれば、配列番号５０４のＶＨ ＣＤＲ１配列、配列番号５０５のＶＨ ＣＤＲ２配列、配列番号５０６のＶＨ ＣＤＲ３配列、配列番号５０７のＶＬ ＣＤＲ１配列、配列番号５０８のＶＬ ＣＤＲ２配列、及び配列番号５０９のＶＬ ＣＤＲ３配列を含むＨ鎖アミノ酸配列を含むＡＢ；配列番号１６０のアミノ酸配列を含むＭＭ：及び配列番号１４－３３及び１５９から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＭを少なくとも含む抗－ＥＧＦＲ活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、配列番号５０４のＶＨ ＣＤＲ１配列、配列番号５０５のＶＨ ＣＤＲ２配列、配列番号５０６のＶＨ ＣＤＲ３配列、配列番号５０７のＶＬ ＣＤＲ１配列、配列番号５０８のＶＬ ＣＤＲ２配列、及び配列番号５０９のＶＬ ＣＤＲ３配列を含むＨ鎖アミノ酸配列を含むＡＢ；配列番号１６０のアミノ酸配列を含むＭＭ：及び表８Ａ－８Ｍに提供される配列から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＭを少なくとも含む抗－ＥＧＦＲ活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、抗－ＥＧＦＲ活性化可能抗体はまた、第１連結ペプチド（ＬＰ１）及び第２連結ペプチド（ＬＰ２）も含み、そして未切断状態下での活性化可能抗体は、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：ＭＭ－ＬＰ１－ＣＭ－ＬＰ２－ＡＢ又はＡＢ－ＬＰ２－ＣＭ－ＬＰ１－ＭＭ。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１及びＬＰ２の個々は、約１－２０個の長さのアミノ酸のペプチドである。いくつかの実施形態によれば、前記２種の連結ペプチドは、お互い同一である必要はない。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、（ＧＳ）$_n$、（ＧＧＳ）$_n$、（ＧＳＧＧＳ）$_n$（配列番号１）及び（ＧＧＧＳ）$_n$（配列番号２）（ｎは少なくとも１つの整数である）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、ＧＧＳＧ（配列番号３）、ＧＧＳＧＧ（配列番号４）、ＧＳＧＳＧ（配列番号５）、ＧＳＧＧＧ（配列番号６）、ＧＧＧＳＧ（配列番号７）、 及び ＧＳＳＳＧ（配列番号８）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１は、アミノ酸配列ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号９）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧ（配列番号１０）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳ（配列番号１１）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１５５）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号１５６）、又はＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＳ（配列番号１５７）を含む。いくつかの実施形態によれば。ＬＰ２は、アミノ酸配列ＧＳＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１５８）、ＧＳＳＧＴ（配列番号１２）又は ＧＳＳＧ（配列番号１３）を含む。

【０１５５】
いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、配列番号６１、６３、６５、６８、７０、７２、７６、７８、８０、８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、９６、９８、１００、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２又は１１４のＨ鎖アミノ酸配列及び配列番号６０、６２、６４、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９、８１、８３、８５、８７、８９、９１、９３、９５、９７、９９、１０１、１０３、１０５、１０７、１０９、１１１又は１１３のＬ鎖アミノ酸配列を含むＡＢ；配列番号２０１－２６３及び４９７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＭＭ：及び配列番号１４－３３及び１５９から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＭを少なくとも含む抗－Ｊａｇｇｅｄ活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、配列番号６１、６３、６５、６８、７０、７２、７６、７８、８０、８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、９６、９８、１００、１０２、１０４、１０６、１０８、１１０、１１２又は１１４のＨ鎖アミノ酸配列及び配列番号６０、６２、６４、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９、８１、８３、８５、８７、８９、９１、９３、９５、９７、９９、１０１、１０３、１０５、１０７、１０９、１１１又は１１３のＬ鎖アミノ酸配列を含むＡＢ；配列番号２０１－２６３及び４９７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＭＭ：及び表８Ａ－８Ｍに提供される配列から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＭを少なくとも含む抗－Ｊａｇｇｅｄ活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、抗－Ｊａｇｇｅｄ活性化可能抗体はまた、第１連結ペプチド（ＬＰ１）及び第２連結ペプチド（ＬＰ２）も含み、そして未切断状態下での活性化可能抗体は、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：ＭＭ－ＬＰ１－ＣＭ－ＬＰ２－ＡＢ又はＡＢ－ＬＰ２－ＣＭ－ＬＰ１－ＭＭ。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１及びＬＰ２の個々は、約１－２０個の長さのアミノ酸のペプチドである。いくつかの実施形態によれば、前記２種の連結ペプチドは、お互い同一である必要はない。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、$(GS)_n$、$(GGS)_n$、$(GSGGS)_n$（配列番号１）及び$(GGGS)_n$（配列番号２）（ｎは少なくとも１つの整数である）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、ＧＧＳＧ（配列番号３）、ＧＧＳＧＧ（配列番号４）、ＧＳＧＳＧ（配列番号５）、ＧＳＧＧＧ（配列番号６）、ＧＧＧＳＧ（配列番号７）、及びＧＳＳＳＧ（配列番号８）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１は、アミノ酸配列ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号９）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧ（配列番号１０）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳ（配列番号１１）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１５５）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号１５６）、又はＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＳ（配列番号１５７）を含む。いくつかの実施形態によれば。ＬＰ２は、アミノ酸配列ＧＳＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１５８）、ＧＳＳＧＴ（配列番号１２）又はＧＳＳＧ（配列番号１３）を含む。

【０１５６】
いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、配列番号１１２のＨ鎖アミノ酸配列、及び配列番号１１１のＬ鎖アミノ酸配列を含むＡＢ；配列番号２１７のアミノ酸配列を含むＭＭ：及び配列番号１４－３３及び１５９から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＭを少なくとも含む抗－Ｊａｇｇｅｄ活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、配列番号１１２のＨ鎖アミノ酸配列、及び配列番号１１１のＬ鎖アミノ酸配列を含むＡＢ；配列番号２１７のアミノ酸配列を含むＭＭ：及び表８Ａ－８Ｍに提供される配列から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＭを少なくとも含む抗－Ｊａｇｇｅｄ活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、抗－Ｊａｇｇｅｄ活性化可能抗体はまた、第１連結ペプチド（ＬＰ１）及び第２連結ペプチド（ＬＰ２）も含み、そして未切断状態下での活性化可能抗体は、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：ＭＭ－ＬＰ１－ＣＭ－ＬＰ２－ＡＢ又はＡＢ－ＬＰ２－ＣＭ－ＬＰ１－ＭＭ。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１及びＬＰ２の個々は、約１－２０個の長さのアミノ酸のペプチドである。いくつかの実施形態によれば、前記２種の連結ペプチドは、お

互い同一である必要はない。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、（ＧＳ）$_n$、（ＧＧＳ）$_n$、（ＧＳＧＧＳ）$_n$（配列番号１）及び（ＧＧＧＳ）$_n$（配列番号２）（ｎは少なくとも１つの整数である）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、ＧＧＳＧ（配列番号３）、ＧＧＳＧＧ（配列番号４）、ＧＳＧＳＧ（配列番号５）、ＧＳＧＧＧ（配列番号６）、ＧＧＧＳＧ（配列番号７）、及びＧＳＳＳＧ（配列番号８）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１は、アミノ酸配列ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号９）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧ（配列番号１０）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳ（配列番号１１）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１５５）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号１５６）、又はＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＳ（配列番号１５７）を含む。いくつかの実施形態によれば。ＬＰ２は、アミノ酸配列ＧＳＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１５８）、ＧＳＳＧＴ（配列番号１２）又はＧＳＳＧ（配列番号１３）を含む。

【０１５７】

いくつかの実施形態によれば、配列番号４９８のＶＨ　ＣＤＲ１配列、配列番号４９９のＶＨ　ＣＤＲ２配列、配列番号５００のＶＨ　ＣＤＲ３配列、配列番号５０１のＶＬ　ＣＤＲ１配列、配列番号５０２のＶＬ　ＣＤＲ２配列、及び配列番号５０３のＶＬ　ＣＤＲ３配列を含むＨ鎖アミノ酸配列を含むＡＢ；配列番号２１７のアミノ酸配列を含むＭＭ：及び配列番号１４－３３及び１５９から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＭを少なくとも含む抗－Ｊａｇｇｅｄ活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、配列番号４９８のＶＨ　ＣＤＲ１配列、配列番号４９９のＶＨ　ＣＤＲ２配列、配列番号５００のＶＨ　ＣＤＲ３配列、配列番号５０１のＶＬ　ＣＤＲ１配列、配列番号５０２のＶＬ　ＣＤＲ２配列、及び配列番号５０３のＶＬ　ＣＤＲ３配列を含むＨ鎖アミノ酸配列を含むＡＢ；配列番号２１７のアミノ酸配列を含むＭＭ：及び表８Ａ－８Ｍに提供される配列から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＭを少なくとも含む抗－Ｊａｇｇｅｄ活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、抗－Ｊａｇｇｅｄ活性化可能抗体はまた、第１連結ペプチド（ＬＰ１）及び第２連結ペプチド（ＬＰ２）も含み、そして未切断状態下での活性化可能抗体は、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：ＭＭ－ＬＰ１－ＣＭ－ＬＰ２－ＡＢ又はＡＢ－ＬＰ２－ＣＭ－ＬＰ１－ＭＭ。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１及びＬＰ２の個々は、約１－２０個の長さのアミノ酸のペプチドである。いくつかの実施形態によれば、前記２種の連結ペプチドは、お互い同一である必要はない。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、（ＧＳ）$_n$、（ＧＧＳ）$_n$、（ＧＳＧＧＳ）$_n$（配列番号１）及び（ＧＧＧＳ）$_n$（配列番号２）（ｎは少なくとも１つの整数である）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、ＧＧＳＧ（配列番号３）、ＧＧＳＧＧ（配列番号４）、ＧＳＧＳＧ（配列番号５）、ＧＳＧＧＧ（配列番号６）、ＧＧＧＳＧ（配列番号７）、及びＧＳＳＳＧ（配列番号８）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１は、アミノ酸配列ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号９）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧ（配列番号１０）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳ（配列番号１１）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号１５５）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧ（配列番号１５６）、又はＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＳ（配列番号１５７）を含む。いくつかの実施形態によれば。ＬＰ２は、アミノ酸配列ＧＳＳ、ＧＧＳ、ＧＧＧＳ（配列番号１５８）、ＧＳＳＧＴ（配列番号１２）又はＧＳＳＧ（配列番号１３）を含む。

【０１５８】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体はまた、ＡＢに接合される剤も含む。いくつかの実施形態によれば、剤は治療剤である。いくつかの実施形態によれば、剤は抗腫瘍剤である。いくつかの実施形態によれば、剤は毒素又はそのフラグメントである。いくつかの実施形態によれば、剤は、リンカーを介してＡＢに接合される。いくつかの実施形態によれば、リンカーは切断可能リンカーである。いくつかの実施形態によれば、剤は微小管阻害剤である。いくつかの実施形態によれば、剤は核酸損傷剤、例えばＤＮＡアルキ

ル化剤又はＤＮＡインターカレーター、又は他のＤＮＡ損傷剤である。いくつかの実施形態によれば、リンカーは切断可能リンカーである。いくつかの実施形態によれば、剤は、少なくとも１つのＭＭＰ－切断可能基質配列を含むリンカーを介してＡＢに接合される。いくつかの実施形態によれば、剤は、表３に列挙される群から選択される剤である。いくつかの実施形態によれば、剤はドラスタチンである。いくつかの実施形態によれば、剤はアウリスタチン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤は、アウリスタチンＥ又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤は、モノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）である。いくつかの実施形態によれば、剤は、モノメチルアウリスタチンＤ（ＭＭＡＤ）である。いくつかの実施形態によれば、剤は、メイタンシノイド又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤はＤＭ１又はＤＭ４である。いくつかの実施形態によれば、剤はデュオカルマイシン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤はカリケアマイシン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば剤はピロロベンゾジアゼピンである。

【０１５９】

いくつかの実施形態によれば、剤は抗炎症剤である。

【０１６０】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体はまた、検出可能部分も含む。いくつかの実施形態によれば、検出可能部分は、診断剤である。

【０１６１】

いくつかの実施形態によれば、接合された抗体は、検出できる標識を含む。いくつかの実施形態によれば、検出できる標識は、イメージング剤、造影剤、酵素、蛍光標識、発色団、色素、１又は２以上の金属イオン、又はリガンドベースの標識を含む。いくつかの実施形態によれば、イメージング剤は、放射性同位体を含む。いくつかの実施形態によれば、放射性同位体は、インジウム又はテクネチウムである。いくつかの実施形態によれば、造影剤は、ヨウ素、ガドリニウム又は酸化鉄を含む。いくつかの実施形態によれば、酵素は、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ又はβ－ガラクトシダーゼを含む。いくつかの実施形態によれば、蛍光標識は、黄色蛍光タンパク質（ＹＦＰ）、シアン蛍光タンパク質（ＣＦＰ）、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）、修飾された赤色蛍光タンパク質（ｍＲＦＰ）、赤色蛍光タンパク質ｔダイマー２（ＲＦＰ　ｔダイマー２）、ＨＣＲＥＤ、又はユーロピウム誘導体を含む。いくつかの実施形態によれば、発光標識は、Ｎ－メチルアクリジウム誘導体を含む。いくつかの実施形態によれば、標識は、Alexa Fluor（登録商標）標識，例えばAlex Fluor（登録商標）680 又はAlexa Fluor（登録商標）750を含む。いくつかの実施形態によれば、リガンドベースの標識は、ビオチン、アビジン、ストレプタビジン又は１又は２以上のハプテンを含む。

【０１６２】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体はまた、シグナルペプチドを含む。いくつかの実施形態によれば、シグナルペプチドは、スペーサーを介して活性化可能抗体に接合される。いくつかの実施形態によれば、スペーサーは、すぐなるペプチドの不在下で活性化可能抗体に接合される。いくつかの実施形態によれば、スペーサーは、活性化可能抗体のＭＭに直接的に連結される。いくつかの実施形態によれば、スペーサーは、スペーサー－ＭＭ－ＣＭ－ＡのＮ－末端からＣ－末端への構造配置において活性化可能抗体のＭＭに直接的に連結される。活性化可能抗体のＭＭのＮ－末端に対して直接的に連結されるスペーサーの例は、ＱＧＱＳＧＱ（配列番号５３）である。いくつかの実施形態によれば、スペーサーは、アミノ酸配列ＱＧＱＳＧＱ（配列番号５３）を少なくとも含む。

【０１６３】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体中のＡＢは天然において、１又は２以上のジスルフィド結合を含む。いくつかの実施形態によれば、ＡＢは、１又は２以上のジスルフィド結合を含むよう操作され得る。

【０１６４】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、その対応する抗体の半

減期よりも長く；例えば、活性化可能抗体のｐＫは、その対応する抗体のｐＫよりも長い。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、その対応する抗体の半減期に類似する。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１５日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１２日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１１日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１０日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも９日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも８日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも７日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも６日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも５日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも４日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも３日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも２日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも２４時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも２０時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１８時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１６時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１４時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１２時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１０時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも８時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも６時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも４時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも３時間である。

【０１６５】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、単一特異的である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、多重特異的、例えば非制限的例えば、二重特異的又は三重特異的であるいくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、プロ－二重特異的Ｔ細胞エンゲージャー（プロ－ＢＩＴＥ）分子の一部として処方される。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、、プロ－キメラ抗原受容体（プロ－ＣＡＲ）修飾Ｔ細胞又は他の操作された受容体の一部として処方される。

【０１６６】

本開示はまた、所定の標的を特異的に結合する抗体又は抗体フラグメント（ＡＢ）を含む活性化可能抗体を含む組成物及び方法も提供し、ここで前記ＡＢは、ＡＢのその標的を結合する能力を低めるマスキング部分（ＭＭ）にカップリングされる。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体はさらに、少なくとも１つのＭＭＰのための基質である切断可能部分（ＣＭ）も含む。本明細書に提供される組成物及び方法は、活性化可能抗体の活性（例えば、マスキング、活性化又は結合活性）を損なうことなく、ＡＢにおける１又は２以上のシステイン残基への１又は２以上の剤の結合を可能にする。いくつかの実施形態

によれば、本明細書に提供される組成物及び方法は、ＭＭ内の１又は２以上のジスルフィド結合も還元しないで、又は他方では妨害しないで、ＡＢにおける１又は２以上のシステイン残基への１又は２以上の剤の結合を可能にする。本明細書に提供される組成物及び方法は、１又は２以上の剤、例えば種々の治療、診断及び／又は予防剤の何れかに接合される活性化可能抗体を生成し、例えば、いくつかの実施形態によれば、前記剤の何れも活性化可能抗体のＭＭの何れにも接合されていない。本明細書に提供される組成物及び方法は、ＭＭが切断されていない状態下で活性化可能抗体のＡＢを効果的且つ効率的にマスキングする能力を保持している、接合された活性化可能抗体を生成する。本明細書に提供される組成物及び方法は、活性可能抗体が、ＣＭを切断できるＭＭＰの存在下で、まだ活性化されている、すなわち切断されている、接合された活性化可能抗体を生成する。

【０１６７】

活性化可能抗体は、剤のための少なくとも１つの接合点を有するが、本明細書に提供される方法及び組成物においては、すべての可能な接合点が剤への接合のために利用できる。いくつかの実施形態によれば、１又は２以上の接合点は、ジスルフィド接合に含まれる硫黄原子である。いくつかの実施形態によれば、１又は２以上の接合点は、鎖間ジスルフィド結合に含まれる硫黄原子である。いくつかの実施形態によれば、１又は２以上の接合点は、鎖間スルフィド結合に含まれる硫黄原子であるが、しかし鎖内ジスルフィド結合に含まれる硫黄原子ではない。いくつかの実施形態によれば、１又は２以上の接合点は、システイン、又は硫黄原子を含む他のアミノ酸残基の硫黄原子である。そのような残基は、抗体構造で天然において存在することができるか、又は部位特異的突然変異誘発、化学的変換、又は非天然アミノ酸の誤取り込みにより抗体中に組込まれ得る。

【０１６８】

１又は２以上のＡＢに、１又は２以上の鎖間ジスルフィド結合及びＭＭに１又は２以上の鎖内ジスルフィド結合を有する活性化可能抗体の接合体の調製方法がまた提供され、そして遊離チオールと反応性の薬剤が提供される。前記方法は一般的に、活性化可能抗体における鎖間ジスルフィド結合を、還元剤、例えばＴＣＥＰにより部分的に還元し；そしてその部分的に還元された活性化可能抗体に、遊離チオールと反応性の薬物を接合することを包含する。本明細書において使用される場合、用語「部分的還元」とは、多重特異的活性化可能抗体が、還元剤と接触され、そしてすべて未満ジスルフィド結合、例えばすべて未満の可能な接合部位が還元される状況を意味する。いくつかの実施形態によれば、９９％、９８％、９７％、９６％、９５％、９０％、８５％、８０％、７５％、７０％、６５％、６０％、５５％、５０％、４５％、４０％、３５％、３０％、２５％、２０％、１５％、１０％ 又は５％未満のすべての可能な接合部位が還元される。

【０１６９】

いくつかの実施形態によれば、剤、例えば薬剤を還元し、そして前記剤の置換下で選択をもたらす活性化可能抗体に接合する方法が提供される。前記方法は、還元剤により活性化可能抗体を還元し、結果的に、活性化可能抗体のマスキング部分又は他の非－ＡＢ部分の何れかにおける任意の接合部位が還元されず、そして活性化可能抗体の１又は２以上のＡＢにおける鎖間チオールに剤を接合することを包含する。接合部位は、所望する部位での接合の発生を可能にする剤の所望する置換を可能にするよう選択される。例えば、還元剤は、ＴＣＥＰである。還元反応条件、例えば還元剤：活性化可能抗体の比、インキュベーションの長さ、インキュベーションの間の温度、還元反応溶液のｐＨ、等が、ＭＭが切断されていない状態下で活性化可能抗体のＡＢを抗体を効果的且つ効率的にマスキングする能力を保持している、接合された活性化可能抗体を生成する条件を同定することにより決定される。還元剤：活性化可能抗体の比は、活性化可能抗体に依存して変化するであろう。いくつかの実施形態によれば、還元剤：活性化可能抗体の比は、約 ２０：１－１：１、約 １０：１－１：１、約 ９：１－１：１、約 ８：１－１：１、約 ７：１－１：１、約 ６：１－１：１、約５：１－１：１、約４：１－１：１、約３：１－１：１、約２：１－１：１、約 ２０：１－１：１．５、約１０：１－１：１．５、約 ９：１－１：１．５、約 ８：１－１：１．５、約７：１－１：１．５、約 ６：１－１：１．５、 約５

：１－１：１．５、約 ４：１－１：１．５、約 ３：１－１：１．５、約 ２：１－１：１．５、約 １．５：１－１：１．５又は 約 １：１－１：１．５の範囲下にあるであろう。いくつかの実施形態によれば、前記比は、約５：１－１．５：１の範囲にある。いくつかの実施形態によれば、前記化は、約４：１－１：１の範囲にある。いくつかの実施形態によれば、前記化は、約４：１－１．４：１の範囲にある。いくつかの実施形態によれば、前記比は、約８：１－約１：１の範囲にある。いくつかの実施形態によれば、前記比は、約２．５：１－１：１の範囲にある。

【０１７０】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の１又は２以上のＡＢ中の鎖間ジスルフィド結合を還元し、そして得られる鎖間チオールに、剤、例えばチオール含有剤、例えば薬剤を接合し、前記ＡＢ上に剤を選択的に位置決定する方法が提供される。前記方法は、活性化可能抗体中のすべての可能な鎖間チオールを形成しないで、少なくとも２つの鎖間チオールを形成するために、１又は２以上のＡＢを還元剤により部分的に還元し；そして前記部分的に還元されたＡＢの鎖間チオールに、前記剤を接合することを一般的に包含する。例えば、活性化可能抗体の１又は２以上のＡＢは、還元剤：活性化可能抗体の所望する比で、約３７℃で約１時間、部分的に還元される。いくつかの実施形態によれば、還元剤：活性化可能抗体の比は、約 ２０：１－１：１、約 １０：１－１：１、約 ９：１－１：１、約 ８：１－１：１、約 ７：１－１：１、約 ６：１－１：１、約５：１－１：１、約４：１－１：１、約３：１－１：１、約２：１－１：１、約 ２０：１－１：１．５、約１０：１－１：１．５、約 ９：１－１：１．５、約 ８：１－１：１．５、約７：１－１：１．５、約 ６：１－１：１．５、 約５：１－１：１．５、約 ４：１－１：１．５、約 ３：１－１：１．５、約 ２：１－１：１．５、約 １．５：１－１：１．５又は 約 １：１－１：１．５の範囲下にあるであろう。いくつかの実施形態によれば、前記比は、約５：１－１．５：１の範囲にある。いくつかの実施形態によれば、前記化は、約４：１－１：１の範囲にある。いくつかの実施形態によれば、前記化は、約４：１－１．４：１の範囲にある。いくつかの実施形態によれば、前記比は、約８：１－約１：１の範囲にある。いくつかの実施形態によれば、前記比は、約２．５：１－１：１の範囲にある。

【０１７１】

チオール含有試薬は、例えばシステイン又はＮ－アセチルシステインであり得る。還元剤は、例えばＴＣＥＰであり得る。いくつかの実施形態によれば、還元された活性化可能抗体は、接合の前、例えばカラムクロマトグラフィー、透析又はダイアフィルトレーションを用いて精製され得る。他方では、還元された抗体は、部分的還元の後、及び接合の前、精製されない。

【０１７２】

本開示はまた、活性化可能抗体中の少なくとも１つの鎖間ジスルフィド結合が、活性化可能抗体中の何れの鎖内ジスルフィド結合も妨害しないで、還元剤により還元されている、部分的に還元された活性化可能抗体も提供し、ここで前記活性化可能抗体は、標的に対して特異的に結合する抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ）、末切断状態下での活性化可能抗体のＡＢの標的への結合を阻害するマスキング部分（ＭＭ）、及びＡＢにカップリングされる切断可能部分（ＣＭ）（少なくとも１つのＭＭＰのための基質として機能するポリペプチドである）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、ＣＭを介してＡＢにカップリングされる。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の１又は２以上の鎖内ジスルフィド結合は、還元剤により妨害されない。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体内のＭＭの１又は２以上の鎖内ジスルフド結合は、還元剤により妨害されない。いくつかの実施形態によれば、末切断状態下での活性化可能抗体は、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：ＭＭ－ＣＭ－ＡＢ又はＡＢ－ＣＭ－ＭＭ。いくつかの実施形態によれば、還元剤はＴＣＥＰである。

【０１７３】

本開示はまた、活性化可能抗体中の少なくとも１つの鎖内ジスルフィド結合が、活性化

可能抗体の活性及び／又は効力を妨害しないで、又は他方では、損なわないで、還元剤により還元されている、部分的還元されている活性化可能抗体（例えば、本開示の多重特異的活性化可能抗体を包含するが、但しそれらだけには限定されない）も提供し、ここで前記活性化可能抗体は、標的に対して特異的に結合する抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ）、末切断状態下での活性化可能抗体のＡＢの標的への結合を阻害するマスキング部分（ＭＭ）、及びＡＢにカップリングされる切断可能部分（ＣＭ）（プロテアーゼのための基質として機能するポリペプチドである）を含む。活性化可能抗体の活性及び／又は効力は、非制限的例によれば、マスキング活性、活性化可能抗体の活性化、及び／又は活性化された活性化可能抗体の結合活性である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の１又は２以上の鎖内ジスルフィド結合は、還元剤により妨害されない。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体内のＭＭの１又は２以上の鎖内ジスルフド結合は、還元剤により妨害されない。いくつかの実施形態によれば、末切断状態下での活性化可能抗体は、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：ＭＭ－ＣＭ－ＡＢ又はＡＢ－ＣＭ－ＭＭ。いくつかの実施形態によれば、還元剤はＴＣＥＰである。

【０１７４】

本開示はまた、モノメチルアウリスタチンＤ（ＭＭＡＤ）ペイロードに連結される活性化可能抗体を含む接合された活性化可能抗体も提供し、ここで前記活性化可能抗体は、標的に対して特異的に接合する抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ）、標的への未切断状態での活性化可能抗体のＡＢの結合を阻害するマスキング部分（ＭＭ）、及びＡＢにカップリングされる切断可能部分（ＣＭ）（前記ＣＭは少なくとも１つのＭＭＰプロテアーゼのための基質として機能するポリペプチドである）を含む。

【０１７５】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭＡＤ－接合された活性化可能抗体は、次のような、ＡＢに剤を結合するためのいくつかの方法の何れかを用いて接合され得る：（ａ）ＡＢの炭水化物部分への接合、又は（ｂ）ＡＢのスルフヒドリル基への結合、又は（ｃ）ＡＢのアミノ基への結合、又は（ｄ）ＡＢのカルボキシレート基への結合。

【０１７６】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭＡＤペイロードは、リンカーを介してＡＢに接合される。いくつかの実施形態によれば、ＭＭＡＤペイロードは、リンカーを介してシステインに接合される。いくつかの実施形態によれば、ＭＭＡＤペイロードは、リンカーを介してＡＢにおけるリシンに接合される。いくつかの実施形態によれば、ＭＭＡＤは、リンカー、例えば本明細書に開示されるそれらの残基を介してＡＢの別の残基に接合される。いくつかの実施形態によれば、リンカーは、チオール含有リンカーである。いくつかの実施形態によれば、リンカーは切断可能リンカーである。いくつかの実施形態によれば、リンカーは、非切断可能リンカーである。いくつかの実施形態によれば、リンカーは、表５及び６に示されるリンカーから成る群から選択される。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体及びＭＭＡＤペイロードは、マレイミドカプロイル－バリン－シトルリンリンカーを介して連結される。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体及びＭＭＡＤペイロードは、マレイミドＰＥＧ－バリン－シトルリンリンカーを介して連結される。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体及びＭＭＡＤペイロードは、マレイミドカプロイド－バリン－シトルリン－パラ－アミノベンジルオキシカルボニルリンカーを介して連結される。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体及びＭＭＡＤペイロードは、マレイミドＰＥＧ－バリン－シトルリン－パラ－アミノベンジルオキシカルボニルリンカーを介して連結される。いくつかの実施形態によれば、ＭＭＡＤペイロードは、本明細書に開示される部分的還元及び接合技法を用いて、ＡＢに接合される。

【０１７７】

いくつかの実施形態によれば、標的は、表１に列挙される標的群から選択される。いくつかの実施形態によれば、標的はＥＧＦＲである。いくつかの実施形態によれば、標的は、Ｊａｇｇｅｄタンパク質、例えばＪａｇｇｅｄ１及び／又はＪａｇｇｅｄ２である。いくつかの実施形態によれば、標的はインターロイキン６受容体（ＩＬ－６Ｒ）である。いくつかの実施

形態によれば、ＡＢは、表２に列挙される抗体群から選択される抗体であるか又はそれに由来する。いくつかの実施形態によれば、その抗原結合フラグメントは、Ｆａｂフラグメント、Ｆ（ａｂ′）$_2$フラグメント、ｓｃＦｖ，ｓｃａｂ、ｄＡｂ、単一ドメインＨ鎖抗体、及び単一ドメインＬ鎖抗体から成る群から選択される。いくつかの実施形態によれば、ＡＢは、標的への結合のために、約１００ｎＭ又はそれ以下の平衡解離定数を有する。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、標的へのＡＢの結合のための平衡解離定数よりも高い、ＡＢへの結合への結合のための平衡解離定数を有する。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、切断された状態で、標的への結合のために、活性化可能抗体のＡＢを妨害しないか、又はそれと競争もしない。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、４０個以下の長さのアミノ酸のポリペプチドである。いくつかの実施形態によれば、ＭＭポリペプチド配列は、標的のそれとは異なり、そしてＭＭポリペプチド配列は、ＡＢの任意の天然の結合パートナーに対してせいぜい５０％、同一である。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、標的に対して２５％以上のアミノ酸配列同一を有さない。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、標的に対して１０％以上のアミノ酸配列同一性を有さない。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、１５個までの長さのアミノ酸のポリペプチドである。いくつかの実施形態によれば、ＭＭＰプロテアーゼは、組織において標的と共局在化され、そしてＭＭＰプロテアーゼは、活性化可能抗体がＭＭＰプロテアーゼに暴露される場合、活性化可能抗体におけるＣＭを切断する。いくつかの実施形態によれば、ＭＭＰ－プロテアーゼは、ＭＭＰ９プロテアーゼである。いくつかの実施形態によれば、ＭＭＰプロテアーゼは、ＭＭＰ１４プロテアーゼである。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＭＭとＣＭとの間に連結ペプチドを含む。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＣＭとＡＢとの間に連結ペプチドを含む。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体はまた、第１連結ペプチド（ＬＰ１）及び第２連結ペプチド（ＬＰ２）も含み、そして未切断状態下での活性化可能抗体は、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：ＭＭ－ＬＰ１－ＣＭ－ＬＰ２－ＡＢ又はＡＢ－ＬＰ２－ＣＭ－ＬＰ１－ＭＭ。いくつかの実施形態によれば、前記２種の連結ペプチドは、お互い同一である必要はない。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１及びＬＰ２の個々は、約１－２０個の長さのアミノ酸のペプチドである。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、（ＧＳ）$_n$、（ＧＧＳ）$_n$、（ＧＳＧＧＳ）$_n$（配列番号１）及び（ＧＧＧＳ）$_n$（配列番号２）（ｎは少なくとも１つの整数である）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、ＧＧＳＧ（配列番号３）、ＧＧＳＧＧ（配列番号４）、ＧＳＧＳＧ（配列番号５）、ＧＳＧＧＧ（配列番号６）、ＧＧＧＳＧ（配列番号７）、及びＧＳＳＳＧ（配列番号８）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、第２ＣＭを含み；いくつかの実施形態によれば、第２ＣＭは、表７に示されるそれらの酵素から成る群から選択される酵素のための基質である。

【０１７８】

本開示はまた、本明細書に提供される１又は２以上のＭＭＰ－切断可能基質配列を含む、ポリペプチド及び他の大分子も提供する。非制限的例によれば、本明細書に提供されるＭＭＰ－切断可能基質配列は、プロドラッグ組成物及びその使用方法において有用である。本明細書に提供されるそれらのＭＭＰ－切断可能基質配列もまた、プローブ及び他の検出剤、及びその使用方法においても有用である。例えば、本明細書に提供されるＭＭＰ－切断可能基質配列は、検出剤、例えばイメージング剤及び／又は他の診断剤を生成するために、フラワー及びクエンチャーと組合して使用され得る。当業者は、本明細書に提供されるＭＭＰ－切断可能基質配列が、１又は２以上のＭＭＰ，例えばＭＭＰ９及び／又はＭＭＰ１４により切断できる基質を用いるであろう当該技術分野における任意の組成物及び／又は方法において有用であることを理解するであろう。

【０１７９】

本開示はまた、本明細書に記載される抗体及び／又は活性化可能抗体をコードする単離核酸分子、及びそれらの単離された核酸配列を含むベクターも提供する。本開示は、抗体

及び／又は活性化可能抗体の発現を導く条件下で、前記ベクターを含む細胞を培養することによる、抗体及び／又は活性化可能抗体の製造方法を提供する。

【０１８０】

本開示は、（ａ）抗体の発現を導く条件下で、抗体をコードする核酸コンストラクトを含む細胞を培養し、ここで（ｉ）抗体は切断可能部分（ＣＨ）を含み、そして（ii）ＣＭはマトリックス・メタロプロテアーゼのための基質として機能するポリペプチドであり；（ｂ）抗体を回収し；そして（ｃ）１又は２以上の追加の剤に、前記回収される抗体を接合することによる、所定の標的を結合する本開示の接合をされた抗体の製造方法を提供する。

【０１８１】

本開示はまた、（ａ）活性化可能抗体の発現を導く条件下で、活性化可能抗体をコードする核酸コンストラクトを含む細胞を培養し、ここで前記活性化可能抗体は、マスキング部分（ＭＭ）、切断可能部分（ＣＭ）、及び標的を特異的に結合する抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ）を含み、ここで（ｉ）前記ＣＭはＭＭＰのための基質として機能するポリペプチドであり；そして（ｉｉ）ＣＭは、未切断状態下で、ＭＭが標的へのＡＢの特異的結合を妨害し、そして切断された状態下で、ＭＭが標的へのＡＢの特異的結合を妨害しないか、又はそれと競争しないよう、活性化可能抗体に配置され；そして（ｂ）活性化可能抗体を回収することによる、所定の標的を、活性化された状態下で結合する本開示の活性化可能抗体の製造方法も提供する。

【０１８２】

本開示は、治療的有効量の本明細書に記載される接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体を、その必要な対象に投与することにより、対照における標的関連疾患を、予防し、その進行を遅延し、それを治療し、その症状を軽減するか、又は他方では、改善する方法を提供する。

【０１８３】

本開示は、治療的有効量の本明細書に記載される接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体を、その必要な対象に投与することにより、対照における炎症及び/又は炎症性疾患を、予防し、その進行を遅延し、それを治療し、その症状を軽減するか、又は他方では、改善する方法を提供する。本開示は、治療的有効量の本明細書に記載される接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体を、その必要な対象に投与することにより、対照における癌を、予防し、その進行を遅延し、それを治療し、その症状を軽減するか、又は他方では、改善する方法を提供する。本開示は、治療的有効量の本明細書に記載される接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体を、その必要な対象に投与することにより、対照における自己免疫疾患を、予防し、その進行を遅延し、それを治療し、その症状を軽減するか、又は他方では、改善する方法を提供する。

【０１８４】

それらの方法及び使用の実施形態の何れかに使用される、接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能を抗体は、疾患の任意の段階で投与され得る。例えば、そのような接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、早期～転移性の任意の段階の癌を有する患者に投与され得る。用語、対象及び患者は本明細書においては、交換可能的に使用される。

【０１８５】

いくつかの実施形態によれば、対象は、哺乳類、例えばヒト、非ヒト霊長類、愛玩動物（例えば、ネコ、イヌ、ウマ）、農業用動物、作業用動物又は動物園の動物である。いくつかの実施形態によれば、対象はヒトである。いくつかの実施形態によれば、対象は愛玩動物である。いくつかの実施形態によれば、対象は、獣医師のケア動物である。

【０１８６】

接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、及びそれらの治療用製剤は、異常標的発現及び／又は活性に関連する疾患又は障害を有するか、又はそ

れの影響を受けやすい対象に投与される。異常標的発現及び／又は活性に関連する疾患又は障害を有するか、又はそれの影響を受けやすい対象は、当業界において知られている種々の方法の何れかを用いて、同定される。例えば、癌又は他の腫瘍性状態を有する対象は、種々の臨床学的及び／又は実験室試験の何れか、例えば物理的試験、及び健康状態を評価するための血液、尿及び／又はスツール分析を用いて、同定される。例えば、炎症及び／又は炎症性障害を有する対象は、種々の臨床学的及び／又は実験室試験の何れか、例えば物理的試験及び／又は体液分析、例えば、健康状態を評価するための血液、尿及び／又はスツール分析を用いて、同定される。

【０１８７】

異常標的発現及び／又は活性に関連する疾患又は障害を有する患者への接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体の投与は、種々の実験室又は臨床目的の何れかが達成されると、成功したとして見なされる。例えば、接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、疾患又は障害に関連する１又は２以上の症状が軽減されるか、低められるか、阻害されるか、又はさらに悪化状態に進行しない場合、成功したとして見なされる。接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、患者又は障害が寛解に入るか、又はさらに悪化状態に進行しない場合、成功したとして見なされる。

【０１８８】

いくつかの実施形態によれば、接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、１又は２以上の追加の剤、例えば、非制限的例によれば、抗炎症剤、免疫抑制剤、化学療法剤、例えばアルキル化剤、代謝拮抗剤、抗微小管剤、トポイソメラーゼ阻害剤、細胞毒性抗生物質及び／又は何れか他の核酸損傷剤と組合して、治療の間及び／又は治療の後、投与される。いくつかの実施形態によれば、追加の剤は、タキサン、例えばパクリタキセル（例えば、Ａｂｒａｘａｎｅ（登録商標））である。いくつかの実施形態によれば、追加の剤は、代謝拮抗剤、例えばゲムシタビンである。いくつかの実施形態によれば、追加の剤は、アルキル化剤、例えば白金を用いた化学療法剤、例えばカルボプラチン又はシスプラチンである。いくつかの実施形態によれば、追加の剤は、標的剤、例えばキナーゼ阻害剤、例えばソラフェニブ又はエルロチニブである。いくつかの実施形態によれば、追加の剤は、標的剤、例えば別の抗体、例えばモノクローナル抗体（例えば、ベバシズマブ）、二重特異的抗体、又は多重特異的抗体である。いくつかの実施形態によれば、追加の剤は、プロテアソーム阻害剤、例えばボルテゾミブ又はカーフィルゾミブである。いくつかの実施形態によれば、追加の剤は、免疫調節剤、例えばレノリドマイド又はＩＬ－２である。いくつかの実施形態によれば、追加の剤は、放射線である。いくつかの実施形態によれば、追加の剤は、当業者によるケアの標準として見なされる剤である。いくつかの実施形態によれば、追加の剤は、当業者に良く知られている化学療法剤である。

【０１８９】

いくつかの実施形態によれば、追加の剤は、抗体、別の接合された抗体、別の活性化可能抗体及び／又は別の接合された活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、及び追加の剤は、同時に投与される。例えば、接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、及び追加の剤は、単一組成物に配合され、又は複数の別々の組成物として投与され得る。いくつかの実施形態によれば、接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体、及び追加の剤は、連続的に投与されるか、又は抗体及び／又は接合された抗体及び追加の剤が、治療計画の間、異なった時点で、投与される。例えば、抗体及び／又は接合された抗体は、追加の剤の投与の前、投与され、抗体及び／又は接合された抗体は、追加の剤の投与に続いて投与されるか、又は抗体及び／又は接合された抗体及び追加の剤は、交互に投与される。本明細書に記載されるように、抗体及び／又は接合された抗体及び追加の剤は、単回用量又は複数回用量で投与される。

【０１９０】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、マスキング部分（ＭＭ）にカップリングされる所定の標的を特異的に結合する抗体又はその抗原結合フラグメントを含む活性化可能抗体に連結されるか、又は他方では、結合され、結果的に、ＡＢへのＭＭのカップリングが、標的を結合する抗体又はその抗原結合フラグメントの能力を低める。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、ＣＭを介してカップリングされる。典型的な標的は、表１に示される標的を包含するが、但しそれらだけには限定されない。典型的なＡＢは、表２に示される標的を包含するが、但しそれらだけには限定されない。本明細書に提供される活性化可能抗体は、循環において安定し、治療及び／又は診断の意図される側で活性化されるが、しかし正常、例えば健康組織又は治療及び診断のために標的化されない他の組織においては、活性化されず、そして活性化される場合、その対応する末修飾抗体と少なくとも同等である標的への結合を示す。

【０１９１】

本開示はまた、種々の診断的及び／又は予防的適用のためへの接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体の使用方法及びキットも提供する。

【０１９２】

いくつかの実施形態によれば、本開示は、（ｉ）対象又はサンプルと、活性化可能抗体とを接触し、ここで活性化可能抗体は、マスキング部分（ＭＭ）、切断剤により切断される切断部分（ＣＭ）、及び目的の標的を特異的に結合する抗原結合ドメイン又はそのフラグメント（ＡＢ）を含み、ここで活性化可能抗体は、未切断、非活性化状態で、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有し；ＭＭ－ＣＭ－ＡＢ又はＡＢ－ＣＭ－ＭＭ；ここで、（ａ）ＭＭは、標的へのＡＢの結合を阻害するペプチドであり、そしてＭＭは、ＡＢの天然に存在する結合パートナーのアミノ酸配列を有さず、そしてＡＢの天然の結合パートナーの変性形ではなく；そして（ｂ）未切断、非活性化状態で、ＭＭは標的へのＡＢの特異的結合を妨害し、そして切断された、活性化された状態で、ＭＭは、標的へのＡＢの特異的結合を妨害せず、又はそれと競争せず；そして（ｉｉ）対象又はサンプルにおける活性化された活性化可能抗体のレベルを測定することにより、対象又はサンプルにおける切断剤及び目的の標的の存在又は非存在を検出するための方法及びキットを提供し、ここで対象又はサンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出レベルが、切断剤及び標的が対象又はサンプルに存在することを示唆し、そして対象又はサンプルにおける活性化された、活性化可能抗体の検出レベルの不在は、切断剤、標的又は切断剤及び標的の両者が対象又はサンプルに存在しないことを示唆する。

【０１９３】

いくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、治療剤が接合される活性化できる活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、剤に接合されない。いくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、検出できる標識を含む。いくつかの実施形態によれば、検出できる標識は、ＡＢ上に位置決定される。いくつかの実施形態によれば、対象又はサンプル中の活性化できる活性化可能抗体のレベルの測定は、活性化された活性化可能抗体に対して特異的に結合する、検出可能標識を含む二次試薬を用いて達成される。いくつかの実施形態によれば、前記二次試薬は、検出できる標識を含む抗体である。

【０１９４】

それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、検出できる標識を含む。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、検出できる標識は、イメージング剤、造影剤、酵素、蛍光標識、発色団、色素、１又は２以上の金属イオン、又はリガンドベースの標識を含む。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、イメージング剤は、放射性同位体を含む。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、放射性同位体は、インジウム又はテクネチウムである。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、造影剤は、ヨウ素、ガドリニウム又は酸化鉄を含む。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、酵素は、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ又はβ－ガラクトシダーゼを含む

。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、蛍光標識は、黄色蛍光タンパク質（ＹＦＰ）、シアン蛍光タンパク質（ＣＦＰ）、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）、修飾された赤色蛍光タンパク質（ＭＲＦＰ）、赤色蛍光タンパク質ｔダイマー２（ＲＦＰｔダイマー２）、ＨＣＲＥＤ、又はユーロピウム誘導体を含む。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、発光標識は、Ｎ－メチルアクリジウム誘導体を含む。それらの方法のいくつかの実施形態によれば、標識は、Alexa Fluor（登録商標）標識，例えばAlex Fluor（登録商標）680 又はAlexa Fluor（登録商標）750を含む。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、リガンドベースの標識は、ビオチン、アビジン、ストレプタビジン又は１又は２以上のハプテンを含む。

【０１９５】

それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、対象は哺乳類である。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、対象はヒトである。いくつかの実施形態によれば、対象は、非ヒト哺乳類、例えば非ヒト霊長類、愛玩動物（例えば、ネコ、イヌ、ウマ）、農業用動物、作業用動物又は動物園の動物である。いくつかの実施形態によれば、対象は齧歯動物である。いくつかの実施形態によれば、対象はヒトである。いくつかの実施形態によれば、対象は愛玩動物である。いくつかの実施形態によれば、対象は、獣医師のケア動物である。

【０１９６】

それらの方法のいくつかの実施形態によれば、前記方法は、インビボ方法である。それらの方法のいくつかの実施形態によれば、前記方法は、現場方法である。それらの方法のいくつかの実施形態によれば、前記方法は、エキソビボ方法である。それらの方法のいくつかの実施形態によれば、前記方法は、インビトロ方法である。

【０１９７】

それらの方法のいくつかの実施形態によれば、前記方法は、本開示の活性化可能抗体による治療、続いて、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体を、その必要な対象に投与することによる治療のために適切な患者集団を同定するか又は他方では、さらに絞り込むために使用される。例えば、それらの方法において試験される、標的、及び活性化可能抗体中の切断可能部分（ＣＭ）において基質を切断する少なくとも１つのＭＭＰの両者について陽性である患者は、そのようなＣＭを含む活性化可能抗体による治療のための適切な候補体として同定され、そして次に、患者は試験される、治療的に有効な量の活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体を投与される。同様に、それらの方法を用いて試験される、標的、及び活性化可能抗体中のＣＭにおいて基質を切断するＭＭＰの両者について陰性である患者は、別の形の治療のための適切な候補体として同定され得る。いくつかの実施形態によれば、そのような患者は、治療のための適切な活性化可能抗体（例えば、疾患の部位で患者により切断されるＣＭを含む活性化可能抗体）が同定されるまで、他の活性化可能抗体により試験され得る。いくつかの実施形態によれば、次に、患者は、治療的有効量の活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体が投与され、患者が陽性として判定される。

【０１９８】

本開示の医薬組成物は、本開示の抗体は、及び担体を含むことができる。医薬組成物は、キット、例えば診断キットに含まれ得る。

【図面の簡単な説明】

【０１９９】

【図１Ａ】図１Ａは、アミノ酸配列ＣＩＳＰＲＧＣＰＤＧＰＹＶＭＹ（配列番号１６０）を含むマスキング部分、ＭＭＰ１４基質５２０（また、ＭＮ５２０とも、本明細書において呼ばれる）ＩＳＳＧＬＬＳＳ（配列番号１４）を含む切断部分、及び抗－ＥＧＦＲ抗体Ｃ２２５ｖ５（ここで、完全な活性化可能抗体コンストラクトは、本明細書に置いて、Ｐｂ－ＭＮ５２０とも呼ばれる）を含む活性化可能抗－ＥＧＦＲ抗体の、Ｈ２９２異種移植肺癌モデルにおける腫瘍増殖を阻害する能力を示す一連のグラフである。

【図１Ｂ】図１Ｂは、アミノ酸配列ＣＩＳＰＲＧＣＰＤＧＰＹＶＭＹ（配列番号１６０）

を含むマスキング部分、ＭＭＰ１４基質５２０（また、ＭＮ５２０とも、本明細書において呼ばれる）ＩＳＳＧＬＬＳＳ（配列番号１４）を含む切断部分、及び抗－ＥＧＦＲ抗体Ｃ２２５ｖ５（ここで、完全な活性化可能抗体コンストラクトは、本明細書に置いて、Ｐｂ－ＭＮ５２０とも呼ばれる）を含む活性化可能抗－ＥＧＦＲ抗体の、Ｈ２９２異種移植肺癌モデルにおける腫瘍増殖を阻害する能力を示す一連のグラフである。

【図２Ａ】図２Ａは、ＳＭＰ８７として本明細書において呼ばれる基質プールの５ｎＭのＭＭＰ９による切断を示す一連のグラフである。

【図２Ｂ】図２Ｂは、ＳＭＰ８７として本明細書において呼ばれる基質プールの５ｎＭのＭＭＰ９による切断を示す一連のグラフである。

【図３Ａ】図３Ａは、５ｎＭのＭＭＰ９による基質配列ＶＡＧＲＳＭＲＰ（配列番号４８４）の切断を示す一連のグラフである。

【図３Ｂ】図３Ｂは、５ｎＭのＭＭＰ９による基質配列ＶＡＧＲＳＭＲＰ（配列番号４８４）の切断を示す一連のグラフである。

【図４】図４は、基質配列頻度と機能との相互関係を示すがグラフである。

【図５Ａ】図５Ａは、６０ｎＭのＭＭＰ１４による基質プールＳＭＰ３９の切断を示す一連のグラフである。

【図５Ｂ】図５Ｂは、６０ｎＭのＭＭＰ１４による基質プールＳＭＰ３９の切断を示す一連のグラフである。

【図６Ａ】図６Ａは、３０ｎＭのＭＭＰ１４による基質配列ＱＮＱＡＬＲＭＡ（配列番号１５）の切断を示す一連のグラフである。

【図６Ｂ】図６Ｂは、３０ｎＭのＭＭＰ１４による基質配列ＱＮＱＡＬＲＭＡ（配列番号１５）の切断を示す一連のグラフである。

【図７Ａ】図７Ａは、本明細書に提供される実施例に使用されるペプチドディスプレイプラットフォームの一連の概略図である。図７Ａは、「ディスプレイプラットフォームＣＹＴＸ－ＤＰ－ＸＸＸＸＸＸＸＸ」又は「ＣＹＴＸ－ＤＰ－ＸＸＸＸＸＸＸＸ」（配列番号５１２）として本明細書において言及されるディスプレイプラットフォームの配列の概略図である。

【図７Ｂ】図７Ｂは、本明細書に提供される実施例に使用されるペプチドディスプレイプラットフォームの一連の概略図である。図７Ｂは、「ディスプレイプラットフォームＳＰ－ＣＹＴＸ－ＤＰ－ＸＸＸＸＸＸＸＸ」又は「ＳＰ－ＣＹＴＸ－ＤＰ－ＸＸＸＸＸＸＸＸ」（配列番号５１３）として本明細書において言及されるディスプレイプラットフォームの配列の概略図であり、ここでＳＰ－ＣＹＴＸ－ＤＰ－ＸＸＸＸＸＸＸＸ（配列番号５１３）は、シグナルペプチドを有するＣＹＴＸ－ＤＰ－ＸＸＸＸＸＸＸＸ（配列番号５１２）プラットフォームである。

【発明を実施するための形態】

【０２００】

本開示は、少なくとも１つのマトリックス・メタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）のための基質である切断可能部分（ＣＭ）を含むアミノ酸配列を提供する。それらのＣＭは、種々の治療的、診断的及び予防的適用において有用である。

【０２０１】

本明細書に提供される実施例は、それらのＣＭが、ペプチドディスプレイプラットフォームで表示される場合、特定の条件下でＭＭＰプロテアーゼに暴露される場合の多くの所望する切断特徴を示すことを実証する。例えば、表９は、次のことを示す：（ａ）１５０ｍＭのＮａＣｌ、１０ｍＭのＣａCl_2、及び０．０５％（ｗ／ｖ）Ｂｒｉｊ－３５により補充された、５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ（ｐＨ７．４）において、３７℃で１時間、５０ｎＭのヒトＭＭＰ９と共にインキュベートされる場合、少なくとも２０％の切断率を示したＣＹＴＸ－ＤＰディスプレイプラットフォームで試験されるＭＭＰ９－選択された基質の百分率（５０ｎＭのＭＭＰ９による２０％以上の切断率）；（ｂ）１０ｍＭのＣａCl_2、及び０．５ｍＭのＭｇCl_2により補充された、５０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ６．８）において、３７℃で１時間、５０ｎＭのヒトＭＭＰ１４と共にインキュベートされる場合

、少なくとも２０％の切断率を示したＣＹＴＸ－ＤＰディスプレイプラットフォームで試験されるＭＭＰ１４－選択された基質の百分率（５０ｎＭのＭＭＰ１４による２０％以上の切断率）；及び（ｃ）１００ｍＭのＮａＣｌ、０．０１％のＴｗｅｅｎ２０、及び１ｍＭのＥＤＴＡにより補充された、５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ（ｐＨ７．４）において、３７℃で１時間、５００ｐＭのヒトプラスミンと共にインキュベートされる場合、２０％以下の切断率を示したＣＹＴＸ－ＤＰディスプレイプラットフォームで試験されるＭＭＰ９－選択された又はＭＭＰ１４－選択された基質の百分率（５００ｐＭのプラスミンによる２０％以下の切断率）。

【０２０２】

いくつかの実施形態によれば、ＣＹＴＸ－ＤＰプラットフォームで表示される場合、ＭＭＰ９基質は、１５０ｍＭのＮａＣｌ、１０ｍＭの$CaCl_2$及び０．０５％（ｗ／ｖ）のBrij－３５により補充された、５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ（ｐＨ７．４）において３７℃で１時間、５０ｎＭのヒトＭＭＰ９と共にインキュベートされる場合、少なくとも２０％ノン切断率を示す。いくつかの実施形態によれば、ＣＹＴＸ－ＤＰプラットフォームで表示される場合、ＭＭＰ９基質は、１００ｍＭのＮａＣｌ、０．０１％のＴｗｅｅｎ２０、及び１ｍＭのＥＤＴＡにより補充された、５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ（ｐＨ７．４）において３７℃で１時間、５００ｐＭのヒトプラスミンと共にインキュベートされる場合、２０％以下の切断率を示す。いくつかの実施形態によれば、ＣＹＴＸ－ＤＰプラットフォームで表示される場合、ＭＭＰ９基質は、１５０ｍＭのＮａＣｌ、１０ｍＭの$CaCl_2$及び０．０５％（ｗ／ｖ）のBrij－３５により補充された、５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ（ｐＨ７．４）において３７℃で１時間、５０ｎＭのヒトＭＭＰ９と共にインキュベートされる場合、少なくとも２０％ノン切断率を示し、そして１００ｍＭのＮａＣｌ、０．０１％のＴｗｅｅｎ２０、及び１ｍＭのＥＤＴＡにより補充された、５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ（ｐＨ７．４）において３７℃で１時間、５００ｐＭのヒトプラスミンと共にインキュベートされる場合、２０％以下の切断率を示す。

【０２０３】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭＰ１４基質は、１０ｍＭの$CaCl_2$及び０．５ｍＭの$MaCl_2$により補充された、５０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ６．８）において、３７℃で１時間、５０ｍｎＭのヒトＭＭＰ１４と共にインキュベートされる場合、少なくとも２０％の切断率を示す。いくつかの実施形態によれば、ＭＭＰ１４基質は、ＣＹＴＸ－ＤＰ法ラットフォームで示される場合、１００ｍＭのＮａＣｌ、０．０１％のＴｗｅｅｎ２０及び１ｍＭのＥＤＴＡにより補充された、５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ（ｐＨ７．４）において、３７℃で１時間、５００ｐＭのヒトプラスミンと共にインキュベートされる場合、２０％以下の切断率を示す。いくつかの実施形態によれば、ＭＭＰ１４基質は、１０ｍＭの$CaCl_2$及び０．５ｍＭの$MaCl_2$により補充された、５０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ６．８）において、３７℃で１時間、５０ｍｎＭのヒトＭＭＰ１４と共にインキュベートされる場合、少なくとも２０％の切断率を示し、そして１００ｍＭのＮａＣｌ、０．０１％のＴｗｅｅｎ２０及び１ｍＭのＥＤＴＡにより補充された、５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ（ｐＨ７．４）において、３７℃で１時間、５００ｐＭのヒトプラスミンと共にインキュベートされる場合、２０％以下の切断率を示す。

【０２０４】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭＰ９についての活性化可能抗体における基質の観察される$K_{cat}／K_M$値は、１００$M^{-1}s^{-1}$以上である。いくつかの実施形態によれば、ＭＭＰ９についての活性化可能抗体における基質の観察される$K_{cat}／K_M$値は、１、０００$M^{-1}s^{-1}$以上である。いくつかの実施形態によれば、ＭＭＰ９についての活性化可能抗体における基質の観察される$K_{cat}／K_M$値は、１０、０００$M^{-1}s^{-1}$以上である。

【０２０５】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭＰ１４についての活性化可能抗体における基質の観察される$K_{cat}／K_M$値は、１００$M^{-1}s^{-1}$以上である。いくつかの実施形態によれば、ＭＭＰ１４についての活性化可能抗体における基質の観察される$K_{cat}／K_M$値は、１、

０００$M^{-1}s^{-1}$以上である。いくつかの実施形態によれば、ＭＭＰ１４についての活性化可能抗体における基質の観察されるK_{cat}／K_M値は、１０、０００$M^{-1}s^{-1}$以上である。

【０２０６】

本開示はまた、１又は２以上のそれらのＭＭＰ－切断可能基質を含む抗体も提供する。例えば、それらのＭＭＰ－切断可能基質は、接合された抗体を生成するために、抗体を、１又は２以上の追加の剤に接合する場合、有用である。それらのＭＭＰ－切断可能基質は、活性化可能抗体コンストラクトにおいて有用である。

【０２０７】

接合された抗体及び／又は活性化可能抗体は、標的を特異的に接合する抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ）を含む。ＡＢの典型的な種類の標的は、細胞表面受容体及び分泌された結合タンパク質（例えば、成長因子）、可溶性酵素、構造タンパク質（例えば、コラーゲン、フィブロネクチン）及び同様のものを包含するが、但しそれらだけには限定されない。いくつかの実施形態によれば、接合された抗体及び／又は活性化可能抗体は、細胞外標的、通常、細胞外タンパク質標的を結合するＡＢを有する。いくつかの実施形態によれば、接合された抗体及び／又は活性化可能抗体は、細胞摂取のために企画され、そして細胞内で切替え可能である。

【０２０８】

非制限的な例として、ＡＢは、表１に列挙される任意の標的のための接合パートナーである。

【０２０９】

【表２１】

表１：典型的な標的

1-92-LFA-3	CD52	DL44	HVEM	LAG-3	STEAP1
α-4インテグリン	CD56	DLK1	ヒアルロニダーゼ	LIF-R	STEAP2
α-Vインテグリン	CD64	DLL4	ICOS	ルイス X	TAG-72
α4β1 インテグリン	CD70	DPP-4	IFNα	LIGHT	TAPA1
α4β7 インテグリン	CD71	DSG1	IFNβ	LRP4	TGFβ
AGR2	CD74	EGFR	IFNγ	LRRC26	TIGIT
抗-ルイス-Y		EGFRviii	IgE	MCSP	TIM-3
アペリンJ受容体	CD80	エンドセリンB受容体(ETBR)	IgE 受容体(FceRI)	メソテリン	TLR2
APRIL	CD81	ENPP3	IGF	MRP4	TLR4
B7-H4	CD86	EpCAM	IGF1R	MUC1	TLR6
BAFF	CD95	EPHA2	IL1B	ムチン-16(MUC16, CA-125)	TLR7
BTLA	CD117	EPHB2	IL1R	Na/K ATPアーゼ	TLR8
C5 補体	CD125	ERBB3	IL2	好中球エラスターゼ	TLR9
C-242	CD132 (IL-2RG)	RSVのFタンパク質	IL11	NGF	TMEM31
CA9	CD133	FAP	IL12	ニカストリン	TNFα
CA19-9 (ルイス a)	CD137	FGF-2	IL12p40	ノッチ受容体	TNFR
炭酸脱水酵素9	CD138	FGF8	IL-12R, IL-12Rβ	ノッチ 1	TNFRS12A
CD2	CD166	FGFR1	IL13	ノッチ 2	TRAIL-R1
CD3	CD172A	FGFR2	IL13R	ノッチ 3	TRAIL-R2
CD6	CD248	FGFR3	IL15	ノッチ 4	トランスフェリン
CD9	CDH6	FGFR4	IL17	NOV	トランスフェリン受容体
CD11a	CEACAM5 (CEA)	葉酸受容体	IL18	OSM-R	TRK-A
CD19	CEACAM6 (NCA-90)	GAL3ST1	IL21	OX-40	TRK-B
CD20	CLAUDIN-3	G-CSF	IL23	PAR2	uPAR
CD22	CLAUDIN-4	G-CSFR	IL23R	PDGF-AA	VAP1
CD24	cMet	GD2	IL27/IL27R (wsx1)	PDGF-BB	VCAM-1

【０２１０】

【表２２】

CD25	コラーゲン	GITR	IL29	PDGFRα	VEGF
CD27	Cripto	GLUT1	IL-31R	PDGFRβ	VEGF-A
CD28	CSFR	GLUT4	IL31/IL31R	PD-1	VEGF-B
CD30	CSFR-1	GM-CSF	IL2R	PD-L1	VEGF-C
CD33	CTLA-4	GM-CSFR	IL4	PD-L2	VEGF-D
CD38	CTGF	GP IIb/IIIa 受容体	IL4R	ホスファチジルーセリン	VEGFR1
CD40	CXCL10	Gp130	IL6, IL6R	P1GF	VEGFR2
CD40L	CXCL13	GPIIB/IIIA	インスリン受容体	PSCA	VEGFR3
CD41	CXCR1	GPNMB	Jagged リガンド	PSMA	VISTA
CD44	CXCR2	GRP78	Jagged 1	RAAG12	WISP-1
CD44v6		HER2/neu	Jagged 2	RAGE	WISP-2
CD47	CXCR4	HGF		SLC44A4	WISP-3
CD51	CYR61	hGH		スフィンゴシン１リン酸	

【０２１１】
非制限的な例として、ＡＢは、表２に列挙される抗体であるか、又はその抗体に由来する。
【０２１２】

【表２３】

表２：ＡＢのための典型的な源

抗体商号(抗体名)	標的
Avastin（登録商標）（ベバシズマブ）	VEGF
Lucentis（登録商標）（ラニビズマブ）	VEGF
Erbitux（登録商標）（セツキシマブ）	EGFR
Vectibix（登録商標）（パニツムマブ）	EGFR
Remicade（登録商標）（インフリキシマブ）	TNFα
Humira（登録商標）（アダリムマブ）	TNFα
Tysabri（登録商標）（ナタリズマブ）	インテグリンα4
Simulect（登録商標）（バシリキシマブ）	IL2R
Soliris（登録商標）（エクリズマブ）	補体 C5
Raptiva（登録商標）（エファリズマブ）	CD11a
Bexxar（登録商標）（トシツモマブ）	CD20
Zevalin（登録商標）（イブリツモマブチウキセタン）	CD20
Rituxan（登録商標）（リツキシマブ）	CD20
オクレリズマブ	CD20
Arzerra（登録商標）（オファツムマブ）	CD20
オビヌツズマブ（Obinutuzumab）	CD20
Zenapax（登録商標）（ダクリズマブ）	CD25
Adcentris（登録商標）（ブレンツキシマブベドチン）	CD30
Myelotarg（登録商標）（ゲムツズマブ）	CD33
Mylotarg（登録商標）（ゲムツズマブオゾガミシン）	CD33
Campath（登録商標）（アレムツズマブ）	CD52
ReoPro（登録商標）（アブシキシマブ）	糖タンパク質受容体IIb/IIIa
Xolair（登録商標）（オマリズマブ）	IgE
Herceptin（登録商標）（トラスツズマブ）	Her2
Kadcyla（登録商標）（トラスツズマブエムタシン）	Her2
Synagis（登録商標）（パリビズマブ）	RSVのFタンパク質
（イピリムマブ）	CTLA-4
（トレメリムマブ）	CTLA-4
Hu5c8	CD40L
（ペルツズマブ）	Her2-neu
（エルタマキソマブ）	CD3/Her2-neu
Orencia（登録商標）（アバタセプト）	CTLA-4
（タネズマブ）	NGF
（バビツキシマブ）	ホスファチジルセリン
（ザルツムマブ）	EGFR
（マパツムマブ）	EGFR
（マツズマブ）	EGFR
（ニモツズマブ）	EGFR
ICR62	EGFR
mAb 528	EGFR
CH806	EGFR

【０２１３】

【表２４】

MDX-447	EGFR/CD64
（エドレコロマブ）	EpCAM
RAV12	RAAG12
huJ591	PSMA
Enbrel（登録商標）（エタネルセプト）	TNF-R
Amevive（登録商標）（アレファセプト）	1-92-LFA-3
Antril（登録商標）、Kineret（登録商標）（アナキンラ）	IL-1Ra
GC1008	TGFβ
	ノッチ、例えば ノッチ 1
	Jagged 1 又は Jagged 2
（アデカツムマブ）	EpCAM
（フィギツムマブ）	IGF1R
（トシリズマブ）	IL-6受容体
Stelara（登録商標）（アステキヌマブ）	IL-12/IL-23
Prolia（登録商標）（デノスマブ）	RANKL

【０２１４】

本開示の典型的な接合された抗体及び／又は活性化可能抗体は例えば、インターロイキン６受容体（ＩＬ－６Ｒ）を結合し、そしてインターロイキン－６受容体（ＩＬ－６Ｒ）を結合する、「Ａｖ１」抗体として、本明細書において言及される抗体であるか、又はその抗体に由来するＨ鎖及びＬ鎖を含む抗体を包含する。Ａｖ１　Ｈ鎖及びＡｖ１　Ｌ鎖についてのアミノ酸配列が、それぞれ配列番号５４及び配列番号５５として下記に示されている。

【０２１５】

Ａｖ１抗体Ｈ鎖アミノ酸配列：

【化１】

QVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITTYN PSLKSRVTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGSLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL F
PPKPKDTLMISRTPEVTCVWDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRW SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（配列番号５４）

【０２１６】

Ａｖ１抗体Ｌ鎖アミノ酸配列：

【化２】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSR FSGSGSGTDFTFTISSLQPED
IATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC（配列番号５５）

【０２１７】

本開示の典型的な接合された抗体及び／又は活性化可能抗体は例えば、インターロイキン６受容体（ＩＬ－６Ｒ）を結合し、そしてＡｖ１抗体であるか、又はその抗体に由来するＨ鎖及びＬ鎖、及びマスキング部分を含む抗体を包含する。本開示の典型的な接合された抗体及び／又は活性化可能抗体は、ＡＶ１Ｌ鎖のＮ－末端に結合されるアミノ酸配列を含む。それらのＮ－末端アミノ酸配列は、例えばＹＧＳＣＳＷＮＹＶＨＩＦＭＤＣ（配列番号１６１）；ＱＧＤＦＤＩＰＦＰＡＨＷＶＰＩＴ（配列番号１６２）；ＭＧＶＰＡＧＣＶＷＮＹＡＨＩＦＭＤＣ（配列番号１６３）；ＱＧＱＳＧＱＹＧＳＣＳＷＮＹＶＨＩＦＭＤＣ（配列番号１６４）；ＱＧＱＳＧＱＧＤＦＤＩＰＦＰＡＨＷＶＰＩＴ（配列番号１６５）；又はＱＧＱＳＧＱＭＧＶＰＡＧＣＶＷＮＹＡＨＩＦＭＤＣ（配列番号１６６）を含む。そのようなアミノ酸配列は、ＡＶ１Ｈ鎖のＮ－末端に、又はＡＶ１Ｈ又はＬ鎖のＣ－末端に結合され得ることがまた理解されるべきである。

【０２１８】

本開示の典型的な活性化可能抗体は、例えば上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）を結合し、そして「ｃ２２ｖ５」抗体として、本明細書において言及される抗体、「ｃ２２５ｖ４」抗体として、本明細書において言及される抗体、及び「ｃ２２５ｖ６」抗体として、本明細書に言及される抗体（それぞれ、ＥＧＦＲを結合する）から成る群から選択される抗体であるか、又はその抗体に由来するＨ鎖及びＬ鎖を含む抗体を包含する。ｃ２２５ｖ５抗体、ｃ２２５ｖ４抗体及びｃ２２５ｖ６抗体は、「ｃ２２５Ｌ鎖」として、本明細書において言及される同じＬ鎖配列を共有する。ｃ２２５ｖ５Ｈ鎖、ｃ２２５ｖ４抗体、ｃ２２５ｖ６抗体、及びｃ２２５Ｌ鎖についてのアミノ酸配列が下記に示される。

【０２１９】

ｃ２２５ｖ５抗体Ｈ鎖アミノ酸配列：

【化３】

QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNT PFTSRLSINKDNSKSQVFFKM
NSLQSQDTAIYYCARALTYYDYEFAYWGQGTLVTVSAAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP
PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*（配列番号５６）

【０２２０】

ｃ２２５ｖ４抗体Ｈ鎖アミノ酸配列：

【化４】

QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNT PFTSRLSINKDNSKSQVFFKM
NSLQSNDTAIYYCARALTYYDYEFAYWGQGTLVTVSAAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL F
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*（配列番号５７）

【０２２１】

ｃ２２５ｖ６抗体Ｈ鎖アミノ酸配列：

【化５】

QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNT PFTSRLSINKDNSKSQVFFKM
NSLQSQDTAIYYCARALTYYDYEFAYWGQGTLVTVSAAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL F
PPKPKDTLMISRTPEVTCVWDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRW SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* （配列番号５８）

【０２２２】
ｃ２２５抗体Ｌ鎖アミノ酸配列：
【化６】

QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSR FSGSGSGTDFTLSINSVESED
IADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* （配列番号５９）

【０２２３】
本開示の典型的な接合された抗体及び／又は活性化可能抗体は、例えば、Ｊａｇｇｅｄ標的、例えばＪａｇｇｅｄ－１、Ｊａｇｇｅｄ－２及び／又はＪａｇｇｅｄ－１及びＪａｇｇｅｄ－２の両方を結合し、そして下記に示される可変Ｈ鎖及び可変Ｌ鎖配列であるか、又はそれらに由来する、可変Ｈ鎖領域及び可変Ｌ鎖領域の組合せを含む抗体を包含する。
【０２２４】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列　Ｌｃ４
【化７】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSWAPLTFGQGTKVEIKR （配列番号６０）

【０２２５】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列　Ｈｃ４
【化８】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEQMGWQTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKDIGGRSAFDYWGQGTLVTVSS(配列番号６１）

【０２２６】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列　Ｌｃ５
【化９】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSVVAPLTFGQGTKVEIKR （配列番号６２）

【０２２７】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列　Ｈｃ５

【化１０】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEQMGWQTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKSPPYHGQFDYWGQGTLVTVSS(配列番号６３)

【０２２８】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列　Ｌｃ７
【化１１】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSVVAPLTFGQGTKVEIKR（配列番号６４）

【０２２９】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列　Ｈｃ７
【化１２】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEQMGWQTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKSPPFFGQFDYWGQGTLVTVSS(配列番号６５)

【０２３０】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列　Ｌｃ８
【化１３】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSWAPLTFGQGTKVEIKR（配列番号６７）

【０２３１】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列　Ｈｃ８
【化１４】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEQMGWQTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKHIGRTNPFDYWGQGTLVTVSS(配列番号６８)

【０２３２】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列　Ｌｃｌ３
【化１５】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSVVAPLTFGQGTKVEIKR（配列番号６９）

【０２３３】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列　Ｈｃｌ３

【化１６】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEQMGWQTEYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKSAAAFDYWGQGTLVTVSS（配列番号７０）

【０２３４】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列 Ｌｃｌ６
【化１７】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSVVAPLTFGQGTKVEIKR（配列番号７１）

【０２３５】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列 Ｈｃｌ６
【化１８】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEQMGWQTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKSPPYYGQFDYWGQGTLVTVSS(配列番号７２)

【０２３６】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列 Ｌｃｌ９
【化１９】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSVVAPLTFGQGTKVEIKR（配列番号７３）

【０２３７】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列 Ｈｃｌ９
【化２０】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEQMGWQTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM
NSLRAEDTAVYYCAKSPPFFGQFDYWGQGTLVTVSS（配列番号７４）

【０２３８】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列 Ｌｃ２１
【化２１】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSVVAPLTFGQGTKVEIKR（配列番号７５）

【０２３９】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列 Ｈｃ２１

【化２２】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEQMGWQTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKDIGGRSAFDYWGQGTLVTVSS(配列番号７６)

【０２４０】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列 Ｌｃ２４
【化２３】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSVVAPLTFGQGTKVEIKR（配列番号７７）

【０２４１】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列 Ｈｃ２４
【化２４】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEEMGWQTLYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKSAAAFDYWGQGTLVTVSS（配列番号７８）

【０２４２】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列 Ｌｃ２６
【化２５】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSVVAPLTFGQGTKVEIKR（配列番号７９）

【０２４３】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列 Ｈｃ２６
【化２６】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEQMGWQTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM
NSLRAEDTAVYYCAKDIGGRSAFDYWGQGTLVTVSS（配列番号８０）

【０２４４】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列 Ｌｃ２７
【化２７】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSVVAPLTFGQGTKVEIKR（配列番号８１）

【０２４５】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列 Ｈｃ２７

【化２８】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEQMGWQTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKSPPFYGQFDYWGQGTLVTVSS(配列番号８２)

【０２４６】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列　Ｌｃ２８
【化２９】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSVVAPLTFGQGTKVEIKR（配列番号８３）

【０２４７】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列　Ｈｃ２８
【化３０】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEQMGWQTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKSPPFFGQFDYWGQGTLVTVSS(配列番号８４)

【０２４８】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列　Ｌｃ３０
【化３１】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSVVAPLTFGQGTKVEIKR（配列番号８５）

【０２４９】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列　Ｈｃ３０
【化３２】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEEMGWQTLYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYAKSAAAFDYWGQGTLVTVSS（配列番号８６）

【０２５０】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列　Ｌｃ３１
【化３３】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSWAPLTFGQGTKVEIKR（配列番号８７）

【０２５１】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列　Ｈｃ３１

【化３４】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEQMGWQTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKDIGGRSAFDYWGQGTLVTVSS(配列番号８８)

【０２５２】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列 Ｌｃ３２
【化３５】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSVVAPLTFGQGTKVEIKR (配列番号８９)

【０２５３】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列 Ｈｃ３２
【化３６】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIDPEGWQTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKSAAAFDYWGQGTLVTVSS (配列番号９０)

【０２５４】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列 Ｌｃ３７
【化３７】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSVVAPLTFGQGTKVEIKR (配列番号９１)

【０２５５】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列 Ｈｃ３７
【化３８】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEQMGWQTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKSPPHNGQFDYWGQGTLVTVSS(配列番号９２)

【０２５６】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列 Ｌｃ３９
【化３９】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSVVAPLTFGQGTKVEIKR (配列番号９３)

【０２５７】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列 Ｈｃ３９

【化４０】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEQMGWQTEYADSKGRF ISRDNSKNTLYLQMN
SLRAED A YYCAKSAAAFDYWGQGTLVTVSS（配列番号９４）

【０２５８】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列 Ｌｃ４０
【化４１】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSVVAPLTFGQGTKVEIKR（配列番号９５）

【０２５９】
Ｈ鎖アミノ配列 Ｈｃ４０
【化４２】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEQMGWQTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKSPPFFGQFDYWGQGTLVTVSS(配列番号９６）

【０２６０】
可変Ｌ鎖アミノ酸配列 Ｌｃ４７
【化４３】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSVVAPLTFGQGTKVEIKR（配列番号９７）

【０２６１】
可変Ｈ鎖アミノ酸配列 Ｈｃ４７
【化４４】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIDEMGWQTEYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKSAAAFDYWGQGTLVTVSS（配列番号９８）

【０２６２】
可変４Ｂ２ Ｌ鎖
【化４５】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQTLDAPPQFGQGTKVEIKR（配列番号９９）

【０２６３】
可変 ４Ｂ２Ｈ鎖

【化４６】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEQMGWQTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKDIGGRSAFDYWGQGTLVTVSS(配列番号１００)

【０２６４】
可変 ４Ｄ１１ Ｌ鎖
【化４７】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQTWAPPLFGQGTKVEIKR (配列番号１０１)

【０２６５】
可変 ４Ｄ１１ Ｈ鎖
【化４８】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIDPEGRQTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKDIGGRSAFDYWGQGTLVTVSS(配列番号１０２)

【０２６６】
可変４Ｅ７ Ｌ鎖
【化４９】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQSLVAPLTFGQGTKVEIKR (配列番号１０３)

【０２６７】
可変４Ｅ７ Ｈ鎖
【化５０】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEEMGWQTKYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKSAAAFDYWGQGTLVTVSS (配列番号１０４)

【０２６８】
可変４Ｅ１１Ｌ鎖
【化５１】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQALDAPLMFGQGTKVEIKR (配列番号１０５)

【０２６９】
可変４Ｅ１１ Ｈ鎖

【化５２】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIEPMGQLTEYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKDIGGRSAFDYWGQGTLVTVSS(配列番号１０６)

【０２７０】
可変６Ｂ７Ｌ鎖
【化５３】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQALVAPLTFGQGTKVEIKR (配列番号１０７)

【０２７１】
可変６Ｂ７ Ｈ鎖
【化５４】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIDEMGWQTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM
NSLRAEDTAVYYCAKSAAAFDYWGQGTLVTVSS (配列番号１０８)

【０２７２】
可変６Ｆ８ Ｌ鎖
【化５５】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQALVAPLTFGQGTKVEIKR (配列番号１０９)

【０２７３】
可変６Ｆ８ Ｈ鎖
【化５６】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIDEMGWQTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKSAAAFDYWGQGTLVTVSS (配列番号１１０)

【０２７４】
本開示の典型的な接合された抗体及び／又は活性化可能抗体は、例えば、Ｊａｇｇｅｄ標的、例えばＪａｇｇｅｄ－１、Ｊａｇｇｅｄ－２及び／又はＪａｇｇｅｄ－１及びＪａｇｇｅｄ－２の両方を結合し、そして下記に示されるＨ鎖及びＬ鎖配列であるか、又はそれらに由来する、Ｈ鎖領域及びＬ鎖領域の組合せを含む抗体を包含する。
【０２７５】
４Ｄ１１Ｌ鎖配列:

【化５７】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQTVVAPPLFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC（配列番号１１１）

【０２７６】
４Ｄ１１Ｈ鎖配列:
【化５８】

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIDPEGRQTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKDIGGRSAFDYWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL F
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（配列番号１１２）

【０２７７】
４Ｄｌｌｖ２Ｈ鎖配列：
【化５９】

EVHLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIDPEGRQTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM
NSLRAEDTAVYYCAKDIGGRSAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（配列番号１１３）

【０２７８】
４Ｄｌｌｖ２Ｌ鎖配列：
【化６０】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQTVVAPPLFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYSLSSTLTLXK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC（配列番号１１４）

【０２７９】
本明細書に提供される活性化可能抗体及び活性化可能抗体組成物は、標的、例えばヒト標的を特異的に結合する抗体又はその抗体フラグメント（集合的には、本開示を通してＡＢとして言及される）を少なくとも含み、ここで前記ＡＢはマスキング部分（ＭＭ）により修飾される。

【０２８０】
いくつかの実施形態によれば、マスキング部分は、特定の抗体又は抗体フラグメントとの使用のために選択される。例えば、ＥＧＦＲを結合する抗体との使用のための適切なマスキング部分は、配列ＣＩＳＰＲＧ（配列番号１６７）を含むＭＭを包含する。非制限的

例によれば、ＭＭは、配列、例えばＣＩＳＰＲＧＣ（配列番号４９７）；ＣＩＳＰＲＧＣＧ（配列番号１６８）；ＣＩＳＰＲＧＣＰＤＧＰＹＶＭＹ（配列番号１６０）；ＣＩＳＰＲＧＣＰＤＧＰＹＶＭ（配列番号１６９）；ＣＩＳＰＲＧＣＥＰＧＴＹＶＰＴ（配列番号１７０）及びＣＩＳＰＲＧＣＰＧＱＩＷＨＰＰ（配列番号１７１）を含むことができる。他の適切なマスキング部分は、ＰＣＴ国際公開番号２０１０／０８１１７３号に開示されるＥＧＦＲ－特異的マスクの何れか、例えば、非制限的例によれば、ＧＳＨＣＬＩＰＩＮＭＧＡＰＳＣ（配列番号１７２）；ＣＩＳＰＲＧＣＧＧＳＳＡＳＱＳＧＱＧＳＨＣＬＩＰＩＮＭＧＡＰＳＣ（配列番号１７３）；ＣＮＨＨＹＦＹＴＣＧＣＩＳＰＲＧＣＰＧ（配列番号１７４）；ＡＤＨＶＦＷＧＳＹＧＣＩＳＰＲＧＣＰＧ（配列番号１７５）；ＣＨＨＶＹＷＧＨＣＧＣＩＳＰＲＧＣＰＧ（配列番号１７６）；ＣＰＨＦＴＴＴＳＣＧＣＩＳＰＲＧＣＰＧ（配列番号１７７）；ＣＮＨＨＹＨＹＹＣＧＣＩＳＰＲＧＣＰＧ（配列番号１７８）；ＣＰＨＶＳＦＧＳＣＧＣＩＳＰＲＧＣＰＧ（配列番号１７９）；ＣＰＹＹＴＬＳＹＣＧＣＩＳＰＲＧＣＰＧ（配列番号１８０）；ＣＮＨＶＹＦＧＴＣＧＣＩＳＰＲＧＣＰＧ（配列番号１８１）；ＣＮＨＦＴＬＴＴＣＧＣＩＳＰＲＧＣＰＧ（配列番号１８２）；ＣＨＨＦＴＬＴＴＣＧＣＩＳＰＲＧＣＰＧ（配列番号１８３）；ＹＮＰＣＡＴＰＭＣＣＩＳＰＲＧＣＰＧ（配列番号１８４）；ＣＮＨＨＹＦＹＴＣＧＣＩＳＰＲＧＣＧ（配列番号１８５）；ＣＮＨＨＹＨＹＹＣＧＣＩＳＰＲＧＣＧ（配列番号１８６）；ＣＮＨＶＹＦＧＴＣＧＣＩＳＰＲＧＣＧ（配列番号１８７）；ＣＨＨＶＹＷＧＨＣＧＣＩＳＰＲＧＣＧ（配列番号１８８）；ＣＰＨＦＴＴＴＳＣＧＣＩＳＰＲＧＣＧ（配列番号１８９）；ＣＮＨＦＴＬＴＴＣＧＣＩＳＰＲＧＣＧ（配列番号１９０）；ＣＨＨＦＴＬＴＴＣＧＣＩＳＰＲＧＣＧ（配列番号１９１）；ＣＰＹＹＴＬＳＹＣＧＣＩＳＰＲＧＣＧ（配列番号１９２）；ＣＰＨＶＳＦＧＳＣＧＣＩＳＰＲＧＣＧ（配列番号１９３）；ＡＤＨＶＦＷＧＳＹＧＣＩＳＰＲＧＣＧ（配列番号１９４）；ＹＮＰＣＡＴＰＭＣＣＩＳＰＲＧＣＧ（配列番号１９５）；ＣＨＨＶＹＷＧＨＣＧＣＩＳＰＲＧＣＧ（配列番号１９６）；Ｃ（Ｎ/Ｐ）Ｈ（Ｈ/Ｖ/Ｆ）（Ｙ/Ｔ）（Ｆ/Ｗ/Ｔ/Ｌ）（Ｙ/Ｇ/Ｔ/Ｓ）（Ｔ/Ｓ/Ｙ/Ｈ）ＣＧＣＩＳＰＲＧＣＧ（配列番号１９７）；ＣＩＳＰＲＧＣＧＱＰＩＰＳＶＫ（配列番号１９８）；ＣＩＳＰＲＧＣＴＱＰＹＨＶＳＲ（配列番号１９９）；及び/又はＣＩＳＰＲＧＣＮＡＶＳＧＬＧＳ（配列番号２００）を含む。

【０２８１】

Ｊａｇｇｅｄ標的、例えばＪａｇｇｅｄ１及び／又はＪａｇｇｅｄ２を結合する抗体との使用のための適切なマスキング部分は、非制限的例によれば、配列、例えばＱＧＱＳＧＱＣＮＩＷＬＶＧＧＤＣＲＧＷＱＧ（配列番号４９６）；ＱＧＱＳＧＱＧＱＱＱＷＣＮＩＷＩＮＧＧＤＣＲＧＷＮＧ（配列番号２０１）；ＰＷＣＭＱＲＱＤＦＬＲＣＰＱＰ（配列番号２０２）；ＱＬＧＬＰＡＹＭＣＴＦＥＣＬＲ（配列番号２０３）；ＣＮＬＷＶＳＧＧＤＣＧＧＬＱＧ（配列番号２０４）；ＳＣＳＬＷＴＳＧＳＣＬＰＨＳＰ（配列番号２０５）；ＹＣＬＱＬＰＨＹＭＱＡＭＣＧＲ（配列番号２０６）；ＣＦＬＹＳＣＴＤＶＳＹＷＮＮＴ（配列番号２０７）；ＰＷＣＭＱＲＱＤＹＬＲＣＰＱＰ（配列番号２０８）；ＣＮＬＷＩＳＧＧＤＣＲＧＬＡＧ（配列番号２０９）；ＣＮＬＷＶＳＧＧＤＣＲＧＶＱＧ（配列番号２１０）；ＣＮＬＷＶＳＧＧＤＣＲＧＬＲＧ（配列番号２１１）；ＣＮＬＷＩＳＧＧＤＣＲＧＬＰＧ（配列番号２１２）；ＣＮＬＷＶＳＧＧＤＣＲＤＡＰＷ（配列番号２１３）；ＣＮＬＷＶＳＧＧＤＣＲＤＬＬＧ（配列番号２１４）；ＣＮＬＷＶＳＧＧＤＣＲＧＬＱＧ（配列番号２１５）；ＣＮＬＷＬＨＧＧＤＣＲＧＷＱＧ（配列番号２１６）；ＣＮＩＷＬＶＧＧＤＣＲＧＷＱＧ（配列番号２１７）；ＣＴＴＷＦＣＧＧＤＣＧＶＭＲＧ（配列番号２１８）；ＣＮＩＷＧＰＳＶＤＣＧＡＬＬＧ（配列番号２１９）；ＣＮＩＷＶＮＧＧＤＣＲＳＦＥＧ（配列番号２２０）；ＹＣＬＮＬＰＲＹＭＱＤＭＣＷＡ（配列番号２２１）；ＹＣＬＡＬＰＨＹＭＱＡＤＣＡＲ（配列番号２２２）；ＣＦＬＹＳＣＧＤＶＳＹＷＧＳＡ（配列番号２２３）；ＣＹＬＹＳＣＴＤＳＡＦＷＮＮＲ（配列番号２２４）；ＣＹＬＹＳＣＮＤＶＳＹＷＳＮＴ（配列番号２２５）；ＣＦＬＹＳＣＴＤＶＳＹＷ（配列番号２２６）；ＣＦＬＹＳＣＴＤＶＡＹＷＮＳＡ（配列番号２２７）；ＣＦＬＹＳＣＴＤＶＳＹＷＧＤＴ（配列番号２２８）；ＣＦＬＹＳＣＴＤＶＳＹＷＧＮＳ（配列番号２２９）；ＣＦＬＹＳＣＴＤＶＡＹＷＮＮＴ

(配列番号２３０)；ＣＦＬＹＳＣＧＤＶＳＹＷＧＮＰＧＬＳ（配列番号２３１)；ＣＦＬＹＳＣＴＤＶＡＹＷＳＧＬ（配列番号２３２)；ＣＹＬＹＳＣＴＤＧＳＹＷＮＳＴ（配列番号２３３)；ＣＦＬＹＳＣＳＤＶＳＹＷＧＮＩ（配列番号２３４)；ＣＦＬＹＳＣＴＤＶＡＹＷ（配列番号２３５)；ＣＦＬＹＳＣＴＤＶＳＹＷＧＳＴ（配列番号２３６)；ＣＦＬＹＳＣＴＤＶＡＹＷＧＤＴ（配列番号２３７)；ＧＣＮＩＷＬＮＧＧＤＣＲＧＷＶＤＰＬＱＧ（配列番号２３８)；ＧＣＮＩＷＬＶＧＧＤＣＲＧＷＩＧＤＴＮＧ（配列番号２３９)；ＧＣＮＩＷＬＶＧＧＤＣＲＧＷＩＥＤＳＮＧ（配列番号２４０)；ＧＣＮＩＷＡＮＧＧＤＣＲＧＷＩＤＮＩＤＧ（配列番号２４１)；ＧＣＮＩＷＬＶＧＧＤＣＲＧＷＬＧＥＡＶＧ（配列番号２４２)；ＧＣＮＩＷＬＶＧＧＤＣＲＧＷＬＥＥＡＶＧ（配列番号２４３)；ＧＧＰＡＬＣＮＩＷＬＮＧＧＤＣＲＧＷＳＧ（配列番号２４４)；ＧＡＰＶＦＣＮＩＷＬＮＧＧＤＣＲＧＷＭＧ（配列番号２４５)；ＧＱＱＱＷＣＮＩＷＩＮＧＧＤＣＲＧＷＮＧ（配列番号２４６)；ＧＫＳＥＦＣＮＩＷＬＮＧＧＤＣＲＧＷＩＧ（配列番号２４７)；ＧＴＰＧＧＣＮＩＷＡＮＧＧＤＣＲＧＷＥＧ（配列番号２４８)；ＧＡＳＱＹＣＮＬＷＩＮＧＧＤＣＲＧＷＲＧ（配列番号２４９)；ＧＣＮＩＷＬＶＧＧＤＣＲＰＷＶＥＧＧ（配列番号２５０)；ＧＣＮＩＷＡＶＧＧＤＣＲＰＦＶＤＧＧ（配列番号２５１)；ＧＣＮＩＷＬＮＧＧＤＣＲＡＷＶＤＴＧ（配列番号２５２)；ＧＣＮＩＷＩＶＧＧＤＣＲＰＦＩＮＤＧ（配列番号２５３)；ＧＣＮＩＷＬＮＧＧＤＣＲＰＶＶＦＧＧ（配列番号２５４)；ＧＣＮＩＷＬＳＧＧＤＣＲＭＦＭＮＥＧ（配列番号２５５)；ＧＣＮＩＷＶＮＧＧＤＣＲＳＦＶＹＳＧ（配列番号２５６)；ＧＣＮＩＷＬＮＧＧＤＣＲＧＷＥＡＳＧ（配列番号２５７)；ＧＣＮＩＷＡＨＧＧＤＣＲＧＦＩＥＰＧ（配列番号２５８)；ＧＣＮＩＷＬＮＧＧＤＣＲＴＦＶＡＳＧ（配列番号２５９)；ＧＣＮＩＷＡＨＧＧＤＣＲＧＦＩＥＰＧ（配列番号２６０)；ＧＦＬＥＮＣＮＩＷＬＮＧＧＤＣＲＴＧ（配列番号２６１)；ＧＩＹＥＮＣＮＩＷＬＮＧＧＤＣＲＭＧ（配列番号２６２)；及び/又はＧＩＰＤＮＣＮＩＷＩＮＧＧＤＣＲＹＧ（配列番号２６３)を含むマスキング部分を含む。

【０２８２】

インターロイキン６標的、例えばインターロイキン６受容体（ＩＬ－６Ｒ）を結合する抗体との使用のためのマスキング部分は、非制限的例によれば、配列、例えばＱＧＱＳＧＱＹＧＳＣＳＷＮＹＶＨＩＦＭＤＣ（配列番号２６４)；ＱＧＱＳＧＱＧＤＦＤＩＰＦＰＡＨＷＶＰＩＴ（配列番号２６５)；ＱＧＱＳＧＱＭＧＶＰＡＧＣＶＷＮＹＡＨＩＦＭＤＣ（配列番号２６６)；ＹＲＳＣＮＷＮＹＶＳＩＦＬＤＣ（配列番号２６７)；ＰＧＡＦＤＩＰＦＰＡＨＷＶＰＮＴ（配列番号２６８)；ＥＳＳＣＶＷＮＹＶＨＩＹＭＤＣ（配列番号２６９)；ＹＰＧＣＫＷＮＹＤＲＩＦＬＤＣ（配列番号２７０)；ＹＲＴＣＳＷＮＹＶＧＩＦＬＤＣ（配列番号２７１)；ＹＧＳＣＳＷＮＹＶＨＩＦＭＤＣ（配列番号１６１)；ＹＧＳＣＳＷＮＹＶＨＩＦＬＤＣ（配列番号２７２)；ＹＧＳＣＮＷＮＹＶＨＩＦＬＤＣ（配列番号２７３)；ＹＴＳＣＮＷＮＹＶＨＩＦＭＤＣ（配列番号２７４)；ＹＰＧＣＫＷＮＹＤＲＩＦＬＤＣ（配列番号２７５)；ＷＲＳＣＮＷＮＹＡＨＩＦＬＤＣ（配列番号２７６)；ＷＳＮＣＨＷＮＹＶＨＩＦＬＤＣ（配列番号２７７)；ＤＲＳＣＴＷＮＹＶＲＩＳＹＤＣ（配列番号２７８)；ＳＧＳＣＫＷＤＹＶＨＩＦＬＤＣ（配列番号２７９)；ＳＲＳＣＩＷＮＹＡＨＩＨＬＤＣ（配列番号２８０)；ＳＭＳＣＹＷＱＹＥＲＩＦＬＤＣ（配列番号２８１)；ＹＲＳＣＮＷＮＹＶＳＩＦＬＤＣ（配列番号２８２)；ＳＧＳＣＫＷＤＹＶＨＩＦＬＤＣ（配列番号２８３)；ＹＫＳＣＨＷＤＹＶＨＩＦＬＤＣ（配列番号２８４)；ＹＧＳＣＴＷＮＹＶＨＩＦＭＥＣ（配列番号２８５)；ＦＳＳＣＮＷＮＹＶＨＩＦＬＤＣ（配列番号２８６)；ＷＲＳＣＮＷＮＹＡＨＩＦＬＤＣ（配列番号２８７)；ＹＧＳＣＱＷＮＹＶＨＩＦＬＤＣ（配列番号２８８)；ＹＲＳＣＮＷＮＹＶＨＩＦＬＤＣ（配列番号２８９)；ＮＭＳＣＨＷＤＹＶＨＩＦＬＤＣ（配列番号２９０)；ＦＧＰＣＴＷＮＹＡＲＩＳＷＤＣ（配列番号２９１)；ＸＸｓＣＸＷＸＹｖｈｌｆＸｄＣ（配列番号２９２)；ＭＧＶＰＡＧＣＶＷＮＹＡＨＩＦＭＤＣ（配列番号１６３)；ＲＤＴＧＧＱＣＲＷＤＹＶＨＩＦＭＤＣ（配列番号２９３)；ＡＧＶＰＡＧＣＴＷＮＹＶＨＩＦＭＥＣ（配列番号２９４)；ＶＧＶＰＮＧＣＶＷＮＹＡＨＩＦＭＥＣ（配列番号２９５)；ＤＧＧＰＡＧＣＳＷＮＹＶＨＩＦＭＥＣ（配列番号２９６)；ＡＶＧＰＡＧＣＷＷＮＹＶＨＩＦＭＥＣ（配列番号２９７)；ＣＴＷＮ

ＹＶＨＩＦＭＤＣＧＥＧＥＧＰ（配列番号２９８）；ＧＧＶＰＥＧＣＴＷＮＹＡＨＩＦＭＥＣ（配列番号２９９）;ＡＥＶＰＡＧＣＷＷＮＹＶＨＩＦＭＥＣ（配列番号３００）；ＡＧＶＰＡＧＣＴＷＮＹＶＨＩＦＭＥＣ（配列番号３０１）；ＳＧＡＳＧＧＣＫＷＮＹＶＨＩＦＭＤＣ（配列番号３０２）;ＴＰＧＣＲＷＮＹＶＨＩＦＭＥＣＥＡＬ（配列番号３０３）；ＶＧＶＰＮＧＣＶＷＮＹＡＨＩＦＭＥＣ（配列番号３０４）；ＰＧＡＦＤＩＰＦＰＡＨＷＶＰＮＴ（配列番号３０５）；ＲＧＡＣＤＩＰＦＰＡＨＷＩＰＮＴ（配列番号３０６）；ＱＧＤＦＤＩＰＦＰＡＨＷＶＰＩＴ（配列番号１６２）；ＸＧａｆＤＩＰＦＰＡＨＷｖＰｎＴ(配列番号３０７)；ＲＧＤＧＮＤＳＤＩＰＦＰＡＨＷＶＰＲＴ（配列番号３０８）;ＳＧＶＧＲＤＲＤＩＰＦＰＡＨＷＶＰＲＴ（配列番号３０９）；ＷＡＧＧＮＤＣＤＩＰＦＰＡＨＷＩＰＮＴ（配列番号３１０）；ＷＧＤＧＭＤＶＤＩＰＦＰＡＨＷＶＰＶＴ（配列番号３１１）;ＡＧＳＧＮＤＳＤＩＰＦＰＡＨＷＶＰＲＴ（配列番号３１２）；ＥＳＲＳＧＹＡＤＩＰＦＰＡＨＷＶＰＲＴ（配列番号３１３）；及び/又は ＲＥＣＧＲＣＧＤＩＰＦＰＡＨＷＶＰＲＴ（配列番号３１４)を含むマスキング部分を含む。

【０２８３】

ＡＢがＭＭにより修飾され、そして標的の存在下にある場合、ＡＢのその標的への特異的結合は、ＭＭにより修飾されていないＡＢの特異的結合、又は親ＡＢの標的への特異的結合に比較して、低められるか、又は阻害される。

【０２８４】

標的に対する、ＭＭにより修飾されたＡＢのK_dは、ＭＭにより修飾されていないＡＢ、又は標的に対する親ＡＢのK_dよりも、少なくとも５、１０、２０、２５、４０、５０、１００、２５０、５００、１，０００、２，５００、５，０００、１０，０００、５０，０００、１００，０００、５００，０００、１，０００，０００、５，０００，０００、１０，０００，０００、５０，０００，０００ 又はそれ以上，又は ５－１０、１０－１００、１０－１，０００、１０－１０，０００、１０－１００，０００、１０－１，０００，０００、１０－１０，０００，０００、１００－１，０００、１００－１０，０００、１００－１００，０００、１００－１，０００，０００、１００－１０，０００，０００、１，０００－１０，０００、１，０００－１００，０００、１０００－１０，０００，０００、１０，０００－１００，０００、１０，０００－１，０００，０００、１０，０００－１０，０００，０００、１００，０００－１，０００，０００又は１００，０００－１０，０００，０００倍、高い。逆に、ＭＭにより修飾されたＡＢの標的に対する結合親和性は、ＭＭにより修飾されていないＡＢ又は親ＡＢの標的に対する結合親和性によも少なくとも２、３、４、５、１０、２０、２５、４０、５０、１００、２５０、５００、１，０００、２，５００、５，０００、１０，０００、５０，０００、１００，０００、５００，０００、１，０００，０００、５，０００，０００、１０，０００，０００、５０，０００，０００ 又はそれ以上，又は ５－１０、１０－１００、１０－１，０００、１０－１０，０００、１０－１００，０００、１０－１，０００，０００、１０－１０，０００，０００、１００－１，０００、１００－１０，０００、１００－１００，０００、１００－１，０００，０００、１００－１０，０００，０００、１，０００－１０，０００、１，０００－１００，０００、１，０００－１，０００，０００、１０００－１０，０００，０００、１０，０００－１００，０００、１０，０００－１，０００，０００、１０，０００－１０，０００，０００、１００，０００－１，０００，０００又は１００，０００－１０，０００，０００倍、低い。

【０２８５】

ＡＢに対するＭＭの解離定数（K_d）は一般的に、標的に対するＡＢのK_dよりも高い。ＡＢに対するＭＭのK_dは、標的に対するＡＢのK_dよりも少なくとも５、１０、２５、５０、１００、２５０、５００、１，０００、２，５００、５，０００、１０，０００、１００，０００、１，０００，０００ 又はさらに１０，０００，０００倍、高い。逆に、ＡＢに対するＭＭの結合親和性は、一般的に標的に対するＡＢの結合親和性よりも低い。ＡＢに対するＭＭの結合親和性は、標的に対するＡＢの結合親和性よりも少な

くとも５、１０、２５、５０、１００、２５０、５００、１，０００、２，５００、５，０００、１０，０００、１００，０００、１，０００，０００又はさらに１０，０００，０００倍、低い。

【０２８６】

ＡＢがＭＭにより修飾され、そしてその標的の存在下にある場合、ＡＢのその標的への特異的結合は、ＭＭにより修飾されていないＡＢの特異的結合又は親ＡＢの標的への特異的結合に比べて、低められるか又は阻害される。ＭＭにより修飾されていないＡＢの標的への結合又は親ＡＢの標的への結合に比較される場合、ＭＭにより修飾される場合の標的を結合するＡＢの能力は、インビボ又はインビトロアッセイで測定される場合、少なくとも２、４、６、８、１２、２８、２４、３０、３６、４８、６０、７２、８４又は９６時間、又は５、１０、１５、３０、４５、６０、９０、１２０、１５０又は１８０日、又は１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、又は１２か月又はそれ以上で、少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％及びさらに１００％、低められ得る。

【０２８７】

ＭＭは、ＡＢのその標的に対する結合を阻害する。ＭＭはＡＢの抗原結合ドメインを結合し、そしてＡＢのその標的への結合を阻害する。ＭＭは、ＡＢのその標的への結合を立体的に阻害する。ＭＭはＡＢのその標的への結合をアロステリックに阻害することができる。それらの実施形態によれば、ＡＢが修飾されるか又はＭＭにカップリングされ、そして標的の存在下にある場合、インビボ又はインビトロアッセイで測定される場合、少なくとも２、４、６、８、１２、２８、２４、３０、３６、４８、６０、７２、８４又は９６時間、又は５、１０、１５、３０、４５、６０、９０、１２０、１５０又は１８０日、又は１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、又は１２か月又はそれ以上での間、ＭＭにより修飾されていないＡＢ、親ＡＢ、又はＭＭにカップリングされていないＡＢの標的に対する結合に比べて、ＡＢの標的への結合は存在しないか、又は実質的に存在しないか、又はわずか０．００１％、０．０１％、０．１％、１％、２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％又は５０％の標的に対するＡＢの結合が存在する。

【０２８８】

ＡＢがＭＭにカップリングされるか、又はＭＭにより修飾される場合、ＭＭはＡＢのその標的への特異的結合を「マスキングするか」又は低めるか、又は他方では、阻害する。ＡＢがＭＭにカップリングするか又はＭＭにより修飾される場合、そのようなカップリング又は修飾は、ＡＢのその標的への特異的結合能力を低めるか、阻害する構造変化に影響を及ぼすことができる。

【０２８９】

ＭＭにカップリングされているか、又はＭＭにより修飾されたＡＢは、次の式によって表され得る（アミノ（Ｎ）末端領域からカルボキシル（Ｃ）末端領域の順に）：

【０２９０】

【化６１】

（ＭＭ）－（ＡＢ）
（ＡＢ）－（ＭＭ）
（ＭＭ）－Ｌ－（ＡＢ）
（ＡＢ）－Ｌ－（ＭＭ）

【０２９１】

ここで、ＭＭはマスキング部分であり、ＡＢは抗体又はその抗体フラグメントであり、

そしてＬはリンカーである。多くの実施形態によれば、１又は２以上のリンカー、例えば柔軟リンカーを、組成物中に挿入し、柔軟性を提供することが所望される。

【０２９２】

特定の実施形態によれば、ＭＭはＡＢの天然の結合パートナーではない。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、ＡＢの任意の天然の結合パートナーを含まないか又はそのパートナーに対する相同性を含まない。他の実施形態によれば、ＭＭは、ＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して、せいぜい５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％又は８０％しか、同一ではない。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、ＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して、わずか５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％又は８０％しか同一ではない。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、ＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して、わずか２５％しか同一ではない。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、ＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して、わずか５０％しか同一ではない。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、ＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して、わずか２０％しか同一ではない。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、ＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して、わずか１０％しか同一ではない。

【０２９３】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＭＭにより修飾され、そしてまた、１又は２以上の切断可能部分（ＣＭ）も含むＡＢを含む。そのような活性化可能抗体は、ＡＢの標的への活性化可能／スイッチング可能結合を示す。活性化可能抗体は一般的に、マスキング部分（ＭＭ）及び修飾可能又は切断可能部分（ＣＭ）により修飾されるか又はそれにカップリングされる少なくとも１つの抗体又は抗体フラグメント（ＡＢ）を含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭは、目的のプロテアーゼのための基質として作用するアミノ酸配列を含む。

【０２９４】

活性化可能抗体中の要素は、ＭＭ及びＣＭが位置決定され、従って、切断された（又は比較的活性）状態下で及び標的の存在下で、ＡＢが標的を結合するが、ところが標的の存在下で、切断されていない（又は相対的に不活性）状態下で、ＡＢのその標的への特異的結合が低められるか又は阻害されるよう、配置される。ＡＢのその標的への特異的結合は、ＭＭによりその標的を特異的に結合するＡＢの能力の阻害又はマスキングのために、低められ得る。

【０２９５】

標的に対する、ＭＭ及びＣＭにより修飾されたＡＢのK_dは、ＭＭ及びＣＭにより修飾されていないＡＢ、又は標的に対する親ＡＢのK_dよりも、少なくとも５、１０、２０、２５、４０、５０、１００、２５０、５００、１，０００、２，５００、５，０００、１０，０００、５０，０００、１００，０００、５００，０００、１，０００，０００、５，０００，０００、１０，０００，０００、５０，０００，０００又はそれ以上，又は５－１０、１０－１００、１０－１，０００、１０－１０，０００、１０－１００，０００、１０－１，０００，０００、１０－１０，０００，０００、１００－１，０００，０００、１００－１０，０００，０００、１００－１００，０００、１００－１，０００，０００、１００－１０，０００，０００、１，０００－１０，０００、１，０００－１００，０００、１，０００－１，０００，０００、１０００－１０，０００，０００、１０，０００－１００，０００、１０，０００－１，０００，０００、１０，０００－１０，０００，０００、１００，０００－１，０００，０００又は１００，０００－１０，０００，０００倍、高い。逆に、ＭＭ及びＣＭにより修飾されたＡＢの標的に対する結合親和性は、ＭＭ及びＣＭにより修飾されていないＡＢ又は標的に対する親ＡＢの結合親和性によりも少なくとも２、３、４、５、１０、２０、２５、４０、５０、１００、２５０、５００、１，０００、２，５００、５，０００、１０，０００、５０，０００、１００，０００、５００，０００、１，０００，０００、５，００

０，０００、１０，０００，０００、５０，０００，０００又はそれ以上，又は５－１０、１０－１００、１０－１，０００、１０－１０，０００、１０－１００，０００、１０－１，０００，０００、１０－１０，０００，０００、１００－１，０００、１００－１０，０００、１００－１００，０００、１００－１，０００，０００、１００－１０，０００，０００、１，０００－１０，０００、１，０００－１００，０００、１，０００－１，０００，０００、１０００－１０，０００，０００、１０，０００－１００，０００、１０，０００－１，０００，０００、１０，０００－１０，０００，０００、１００，０００－１，０００，０００又は１００，０００－１０，０００，０００倍、低い。

【０２９６】

ＡＢがＭＭ及びＣＭにより修飾され、そしてその標的の存在下にあるが、しかし修飾剤（例えば、ＭＭＰ）の存在下でわない場合、ＡＢのその標的への特異的結合は、ＭＭ及びＣＭにより修飾されていないＡＢの特異的結合又は親ＡＢの標的への特異的結合に比べて、低められるか又は阻害される。親ＡＢの結合、又はＭＭ及びＣＭにより修飾されていないＡＢの標的への結合に比較される場合、ＭＭ及びＣＭにより修飾される場合の標的を結合するＡＢの能力は、インビボ又はインビトロアッセイで測定される場合、少なくとも２、４、６、８、１２、２８、２４、３０、３６、４８、６０、７２、８４又は９６時間、又は５、１０、１５、３０、４５、６０、９０、１２０、１５０又は１８０日、又は１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、又は１２か月又はそれ以上で、少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％及びさらに１００％、低められ得る。

【０２９７】

本明細書において使用される場合、用語、切断された状態とは、少なくとも１つのマトリックス・メタロプロテアーゼによりＣＭの修飾に続く活性化可能抗体の状態を意味する。用語、切断されていない状態とは、本明細書において使用される場合、ＭＭＰによるＣＭの切断の不在下での活性化可能抗体の状態を意味する。上記で論じられたように、用語「活性化可能抗体（activatable antibodies）」とは、その切断されていない（生来）状態及びその切断された状態の両者での活性化可能抗体を言及するよう、本明細書において使用される。いくつかの実施形態によれば、切断された活性化可能抗体は、プロテアーゼによるＣＭの切断のために、ＭＭを欠いており、少なくともＭＭの放出をもたらす（例えば、ＭＭは、共有結合（例えば、システイン残基間のジスルフィト結合）により活性化可能抗体に結合されていない場合）ことは、当業者に明らかであろう。

【０２９８】

活性化可能又はスイッチング可能とは、活性化可能抗体が、阻害された、マスキングされた、又は切断されていない状態下で、標的への結合の第１レベル（第１コンホメーション）、及び阻害されていない、マスキングされていない、及び／又は切断された状態下で、標的への結合の第２レベル（すなわち、第２コンホメーション）を示し、ここで標的結合の第２レベルは、結合の第１レベルよりも大きいことを意味する。一般的に、活性化可能抗体のＡＢへの標的のアクセスは、ＣＭを切断できる切断剤の存在下において、そのような切断剤の不在下でよりも高い。従って、活性化可能抗体が切断されていない状態下にある場合、ＡＢが標的結合から阻害され、そして標的結合からマスキングされ得（すなわち、第１コンホメーションは、ＡＢが標的を結合できないようなものである）、そして切断された状態下で、ＡＢは阻害されないか、又は標的結合にマスキングされない。

【０２９９】

活性化可能抗体のＣＭ及びＡＢは、ＡＢが所定の標的のための結合部分を表し、そしてＣＭが対象における治療部位又は診断部位で標的と共局在されるＭＭＰのための基質を表すよう、選択される。本明細書に開示される活性化可能抗体は、例えば、ＣＭにおける部位を切断できるＭＭＰが、非治療部位の組織においてよりも（例えば、健康組織においてよりも）、治療部位又は診断部位の標的含有組織において、比較的高いレベルで存在する

場合、特に有用である。
【０３００】
いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＡＢがマスキングされないか、又は他方では、その標的の結合から阻害される場合、非治療部位での第１ＡＢの結合に起因する、低められた毒性及び／又は有害な副作用を提供する。
【０３０１】
一般的に、活性化可能抗体は、目的の第１ＡＢで選択し、そして活性化可能抗体の残りを構築することにより設計され得、結果的に、コンホメーション的に制約される場合、ＭＭはＡＢのマスキング、又はＡＢのその標的への結合の低減を提供する。構築設計基準は、この機能的特徴を提供するよう考慮されるべきである。
【０３０２】
阻害されていないコンホメーションに対する阻害されたコンホメーションでの標的結合のための所望するダイナミック範囲のスイッチング可能表現型を示す活性化可能抗体が提供される。ダイナミック範囲とは一般的に、（ｂ）第２組の条件下でのパラメーターの最小検出レベルに対する（ａ）第１組の条件下でのパラメーターの最大検出レベルの比率を意味する。例えば、活性化可能抗体の場合、ダイナミック範囲は、（ｂ）プロテアーゼの不在下で活性化可能抗体に結合する標的タンパク質の最小検出レベルに対する（ａ）活性化可能抗体のＣＭを切断できるＭＭＰの存在下で活性化可能抗体に結合する標的タンパク質の最大検出レベルの比率を意味する。活性化可能抗体のダイナミック範囲は、活性化可能抗体切断剤、治療の平衡解離定数に対する、活性化可能抗体切断剤（例えば、酵素）治療の平衡解離定数の比率として計算され得る。活性化可能抗体のダイナミック範囲が大きいほど、活性化可能抗体のスイッチング可能表現型は良好である。比較的高いダイナミック範囲値（例えば、１よりも高い）を有する活性化可能抗体は、活性化可能抗体により結合する標的タンパク質が、切断剤の不在下においてよりも、活性化可能抗体のＣＭを切断できる切断剤（例えば、酵素）の存在下で、より高い程度に発生する（例えば、主に発生する）ような、より所望のスイッチング表現型を示す。
【０３０３】
活性化可能抗体は、種々の構造的構成で提供され得る。活性化可能抗体の少なくとも一部についての典型的な式が、下記に提供される。ＡＢのＮ－からＣ－末端への順に、ＭＭ及びＣＭが活性化可能抗体内で逆になされ得ることが特に企画される。ＣＭ及びＭＭが、例えばＣＭがＭＭ内に含まれるよう、アミノ酸配列においてオーバーラップすることができることがまた、特に企画される。
【０３０４】
例えば、活性化可能抗体の少なくとも一部がアミノ（Ｎ）末端領域からカルボキシル（Ｃ）末端領域の順に、次の式により表され得る：
【０３０５】
【化６２】

（ＭＭ）－（ＣＭ）－（ＡＢ）
（ＡＢ）－（ＣＭ）－（ＭＭ）

【０３０６】
ここで、ＭＭはマスキング成分であり、ＣＭは切断可能部分であり、そしてＡＢは抗体又はそのフラグメントである。ＭＭ及びＣＭは上記式において異なる成分として示されるが、本明細書において開示されるすべての典型的な実施形態（式を含む）によれば、ＭＭ及びＣＭのアミノ酸配列は、ＣＭがＭＭ内に完全に又は部分的に含まれるよう、オーバーラップできることが企画される。さらに、上記式は、活性化可能抗体要素に対してＮ末端又はＣ末端に位置決定され得る追加のアミノ酸配列を提供する。
【０３０７】

特定の実施形態によれば、ＭＭはＡＢの天然の結合パートナーではない。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、ＡＢの任意の天然の結合パートナーを含まないか又はそのパートナーに対する相同性を含まない。他の実施形態によれば、ＭＭは、ＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して、せいぜい５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％又は８０％しか、同一ではない。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、ＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して、わずか５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％又は８０％しか同一ではない。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、ＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して、わずか５０％しか同一ではない。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、ＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して、わずか２５％しか同一ではない。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、ＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して、わずか２０％しか同一ではない。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、ＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して、わずか１０％しか同一ではない。

【０３０８】

多くの実施形態によれば、１又は２以上のＭＭ－ＣＭ接合、ＣＭ－ＡＢ接合、又は両者で柔軟性を提供するために、活性化可能抗体コンストラクト中に、１又は２以上のリンカー、例えば柔軟リンカーを挿入することが所望される。例えば、ＡＢ、ＭＭ及び／又はＣＭは、所望する柔軟性を提供するために、十分な数の残基（例えば、Ｇｌｙ、Ｓｅｒ、Ａｓｐ、Ａｓｎ、特にＧｌｙ及びＳｅｒ、特にＧｌｙ）を含むことはできない。そのような活性化可能抗体コンストラクトのスイッチング可能表現型は、柔軟リンカーを提供するために、１又は２以上のアミノ酸の導入から利益を得ることができる。さらに、下記のように、活性化可能抗体がコンホメーション的に制約されたコンストラクトとして提供される場合、柔軟リンカーは、切断されていない活性化可能抗体における環状構造の形成及び維持を促進するために、操作可能的に導入され得る。

【０３０９】

例えば、特定の実施形態によれば、活性化可能抗体は、次の式の１つを含む（ここで、下記式は、Ｎ－からＣ－末端方向に、又はＣ－からＮ－末端方向に、アミノ酸配列を表す）：

【０３１０】

【化６３】

(ＭＭ)－Ｌ１－(ＣＭ)－(ＡＢ)
(ＭＭ)－(ＣＭ)－Ｌ２－(ＡＢ)
(ＭＭ)－Ｌ１－(ＣＭ)－Ｌ２－(ＡＢ)

【０３１１】

ここで、ＭＭ、ＣＭ及びＡＢは、上記に定義された通りであり；Ｌ１及びＬ２は、それぞれ独立して、及び任意には、存在しても又は不在である良く、少なくとも１つの柔軟アミノ酸（例えば、Ｇｌｙ）を含む同じか又は異なった柔軟リンカーである。さらに、上記式は、活性化可能抗体要素に対してＮ末端又はＣ末端に配置され得る追加のアミノ酸配列を提供する。例として、次のものを挙げることができるが、但しそれらだけには限定されない：標的化部分（例えば、標的組織に存在する細胞の受容体のためのリガンド）及び血清半減期延長部分（例えば、血清タンパク質、例えば免疫グロブリン（すなわち、ＩｇＧ）又は血清アルブミン（例えば、ヒト結成アルブミン（ＨＡＳ））を結合するポリペプチド。

【０３１２】

ＣＭは、約０．００１－１５００ ｘ １０^{4} Ｍ$^{-1}$Ｓ$^{-1}$ 又は少なくとも ０．００１、０．００５、０．０１、０．０５、 ０．１、 ０．５、１、 ２．５、５、７.５、 １０

、１５、２０、２５、５０、７５、１００、１２５、１５０、２００、２５０、５００、７５０、１０００、１２５０又は１５００ x 10^4 $M^{-1}S^{-1}$の速度で少なくとも１つのＭＭＰにより特異的に切断される。

【０３１３】

酵素による特異的切断のためには、酵素とＣＭとの間の接触が行われる。ＭＭ及びＣＭにカップリングされるＡＢを含む活性化可能抗体が、標的及び十分な酵素活性の存在下にある場合、ＣＭは切断され得る。十分な酵素活性とは、ＣＭと接触し、そして切断をもたらす酵素の能力を意味する。酵素はＣＭの近くにあっても良いが、しかし他の細胞因子又は酵素のタンパク質修飾のために切断できないことが容易に想定される。

【０３１４】

本明細書に記載される組成物への使用のために適切なリンカーは一般的に、標的への少なくとも第１ＡＢの結合の阻害を促進するために、修飾されたＡＢ又は活性化可能抗体の柔軟性を提供するリンカーである。適切なリンカーは、容易に選択され、そして何れかの適切な異なった長さのものであり得、例えば１個のアミノ酸（例えば、Ｇｌｙ）－２０個のアミノ酸、２個のアミノ酸－１５個のアミノ酸、３個のアミノ酸－１２個のアミノ酸、４個のアミノ酸－１０個のアミノ酸、５個のアミノ酸－９個のアミノ酸、６個のアミノ酸－８個のアミノ酸、又は７個のアミノ酸－８個のアミノ酸であり得、そして１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９又は２０個の長さのアミノ酸であり得る。

【０３１５】

典型的な柔軟リンカーは、グリシンポリマー（Ｇ）ｎ、グリシン－セリンポリマー(例えば、（ＧＳ）ｎ、（ＧＳＧＧＳ）ｎ（配列番号 １）及び （ＧＧＧＳ）ｎ（配列番号２）、ここでｎ は、少なくとも１の整数である)、グリシン－アラニンポリマー、アラニン－セリンポリマー、及び当業界において知られている他の柔軟リンカーを包含する。グリシン及びグリシン－セリンポリマーは、比較的構造化されておらず、そして従って、構成成分間で中立的テサー（neutral tether）として作用することができる。グリシンは、あってもアラニンよりも著しくファイ・プサイ空間にアクセスし、そしてより長い側鎖を有する残基よりもはるかに低く制限される（Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992)を参照のこと）。典型的な柔軟リンカーは、次の配列を含むが、但しそれらだけには限定されない：Gly-Gly-Ser-Gly(配列番号３)、Gly-Gly-Ser-Gly-Gly(配列番号４)、 Gly-Ser-Gly-Ser-Gly(配列番号５)、Gly-Ser-Gly-Gly-Gly(配列番号６)、 Gly-Gly-Gly-Ser-Gly（配列番号７)、 Gly-Ser-Ser-Ser-Gly（配列番号８)、及び同様のもの。当業者は、活性化可能抗体の企画がすべて又は部分的に柔軟であるリンカーを含むことができ、結果的に、そのリンカーは柔軟リンカー及び所望する多重特異的活性化可能抗体構造を提供するために低い柔軟性の構造を付与する１又は２以上の部分を含むことができることを認識するであろう。

【０３１６】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に記載される活性化可能抗体はまた、活性化可能抗体に接合される剤も包含する。いくつかの実施形態によれば、接合された剤は、治療剤、例えば抗炎症剤及び／又は抗腫瘍剤である。そのような実施形態によれば、剤は、活性化可能抗体の炭水化物部分に接合され、例えば、いくつかの実施形態によれば、前記炭水化物部分は、抗体の抗原結合領域又は活性化可能抗体における抗原結合フラグメントの外部に位置する。いくつかの実施形態によれば、剤は、抗体のスルフヒドリル基、又は活性化可能抗体における抗原結合フラグメントに接合される。

【０３１７】

いくつかの実施形態によれば、剤は細胞毒性剤、例えば毒素（例えば、細菌、菌類、植物又は動物起源の酵素的活性毒素、又はそのフラグメント）、又は放射性同位体（すなわち、放射性接合体）である。

【０３１８】

いくつかの実施形態によれば、剤は、検出可能部分、例えば標識又は他のマーカーであ

る。例えば、剤は、放射性標識されたアミノ酸、マーキングされたアビジン（例えば、光学的又は比色法により検出され得る蛍光マーカー又は酵素活性を含むストレプタビジン）により検出され得る１又は２以上のビオチニル部分、１又は２以上の蛍光標識、１又は２以上の酵素標識、及び／又は１又は２以上の化学蛍光剤により検出され得る。

【０３１９】

本開示はまた、細胞毒性剤、例えば毒素（例えば、細菌、菌類、植物又は動物起源の酵素的活性毒素、又はそのフラグメント）、又は放射性同位体（すなわち、放射性接合体）に接合される抗体を含む免疫接合体にも関連する。適切な細胞毒性剤は、例えばドラスタチン及びその誘導体（例えば、アウリスタチンＥ、ＡＦＰ、ＭＭＡＤ、ＭＭＡＦ、ＭＭＡＥ）を含む。例えば、細胞毒性剤は、モノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）である。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、モノメチルアウリスタチンＤ（ＭＭＡＤ）である。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、表３に列挙される群から選択された剤である。いくつかの実施形態によれば、剤はドラスタチンである。いくつかの実施形態によれば、剤はアウリスタチン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤は、アウリスタチンＥ又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤はモノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）である。いくつかの実施形態によれば、剤はモノメチルアウリスタチンＤ（ＭＭＡＤ）である。いくつかの実施形態によれば、剤はメイタンシノイド又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤はＤＭ１又はＤＭ４である。いくつかの実施形態によれば、剤はデュオカルマイシン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤はカリケアマイシン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤は、ピロロベンゾジアゼピンである。

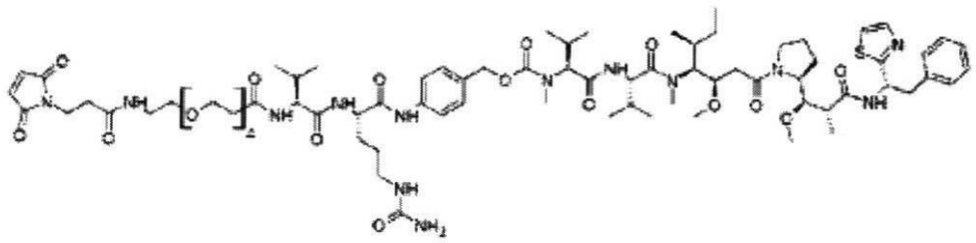
【０３２０】

いくつかの実施形態によれば、剤は、マレイミドカプロイル－シトルリンリンカー又はマレイミドＰＥＧ－バリン－シトルリンリンカーを用いて、ＡＢに連結される。いくつかの実施形態によれば、剤は、マレイミドカプロイル－バリン－シトルリンリンカーを用いて、ＡＢに連結される。いくつかの実施形態によれば、剤は、マレイミドＰＥＧ－バリン－シトルリンリンカーを用いて、ＡＢに連結される。いくつかの実施形態によれば、剤は、マレイミドＰＥＧ－バリン－シトルリン－パラ－アミノベンゾイルオキシカルボニルリンカーを用いて、ＡＢに連結されるモノメチルアウリスタチンＤ（ＭＭＡＤ）であり、そしてこのリンカーペイロードコンストラクトは、本明細書において、「ｖｃ－ＭＭＡＤ」として呼ばれる。いくつかの実施形態によれば、剤は、マレイミドＰＥＧ－バリン－シトルリン－パラ－アミノベンゾイルオキシカルボニルリンカーを用いて、ＡＢに連結されるモノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）であり、そしてこのリンカーペイロードコンストラクトは、本明細書において、「ｖｃ－ＭＭＡＥ」として呼ばれる。ｖｃ－ＭＭＡＤ及びｖｃ－ＭＭＡＥの構造は、下記に示される：

【０３２１】

【化６４】

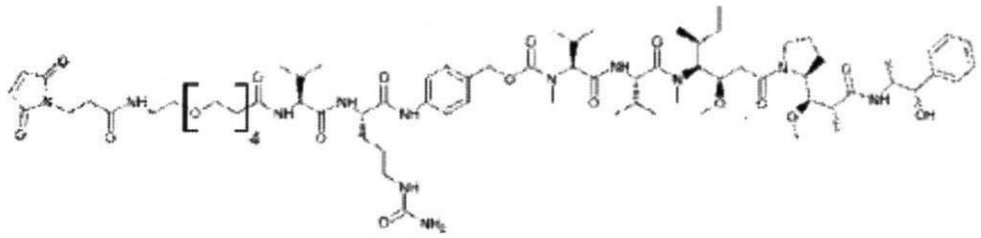
ｖｃ－ＭＭＡＤ：



【０３２２】

【化６５】

ｖｃ－ＭＭＡＥ：



【０３２３】

使用され得る酵素的活性毒素及びそのフラグメントは、ジフテリアＡ鎖、ジフテリア毒素の非結合活性フラグメント、外毒素Ａ鎖（緑膿菌からの）、リシンＡ鎖、アブリンＡ鎖、モデシンＡ鎖、α－サルシン、シナアブラギリ（Aleurites fordii）タンパク質、ジアンチンタンパク質、ヨウシュヤマゴボウ（Phytolaca americana）タンパク質（ＰＡＰＩ、ＰＡＰII及びＰＡＰ－Ｓ）、ゴーヤー（Momordica charantia）阻害剤、クルシン、クロトン、サポナリア・オフィシナリス（Sapaonaria officinalis）阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン（restrictocin）、フェノマイシン、エノマイシン及びトリコテセンを包含する。種々の放射性核種が放射性接合された抗体の生成のために利用できる。例としては、^{212}Ｂｉ、^{131}Ｉ、^{131}Ｉｎ、^{90}Ｙ、及び^{186}Ｒｅを挙げることができる。

【０３２４】

抗体及び細胞毒性剤の接合体は、種々の二官能タンパク質－カップリング剤、例えばＮ－スクシンイミジル－３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート（ＳＰＤＰ）、イミノチオラン（ＩＴ）、イミドエステルの二官能誘導体（例えば、ジメチルアジピミデートＨＣＬ）、活性エステル（例えば、スベリン酸ジスクシンイミジル）、アルデヒド（例えば、グルタルアルデヒド）、ビス－アジド化合物（例えば、ビス(p－アジドベンゾイル)ヘキサンジアミン）、ビス－ジアゾニウム誘導体（例えば、ビス －（p－ジアゾニウムベンゾイル）－エチレンジアミン）、ジイソシアネート（例えば、トルエン２，６－ジイソシアネート）、及びビス－活性フッ素化合物（例えば、１，５－ジフルオロ－２,４－ジニトロベンゼン）を用いて製造される。例えば、リシン免疫毒素がVitetta et al., Science 238: 1098 (1987)に記載のようにして調製され得る。^{14}Ｃ－標識された１－イソチオシアネートベンジル－３－メチルジエチレントリアミン五酢酸（ＭＸ－ＤＴＰＡ）は、抗体への放射性核種の接合のための典型的なキレート剤である。（国際公開第９４／１１０２６号を参照のこと）。

【０３２５】

表３は、本明細書に記載される開示に使用され得る典型的な薬剤のいくつかを列挙するが、しかし決して網羅的な列挙を意味するものではない。

【０３２６】

【表２５】

表３：接合のための典型的な薬剤

細胞毒性剤

アウリスタチン	ツルボスタチン（Turbostatin）
アウリスタチンE	フェンスタチン（Phenstatins）
モノメチルアウリスタチンD（MMAD）	ヒドロキシフェンスタチン
モノメチルアウリスタチン(MMAE)	スポンギスタチン5
デスメチルアウリスタチンE（DMAE）	スポンギスタチン7
アウリスタチンF	ハリスタチン1
モノメチルアウリスタチンF（MMAF）	ハリスタチン2
デスメチルアウリスタチンF（DMAF）	ハリスタチン3
アウリスタチン誘導体、例えばそのアミド	修飾されたブリオスタチン
アウリスタチンチラミン	ヘイロースタチン
アウリスタチンキノリン	ピロロベンズイミダゾール(PBI)
ドラスタチン	シブロスタチン６（Cibrostatin6）
ドラスタチン誘導体	ドキサリホルム（Doxaliform）
ドラスタチン16 DmJ	アントラサイクリン類似体
ドラスタチン16 Dpv	
メイタンシノイド，例えば、DM-1；DM-4	
メイタンシノイド誘導体	セマドチン類似体(CemCH2-SH)
デュオカルマイシン	シュードモナス毒素A（PE38）変異体
デュオカルマイシン誘導体	シュードモナス毒素A（ZZ-PE38）変異体
α－アマニチン	ZJ-101
アントラサイクリン	OSW-1
ドキソルビシン	O6-ベンジルグアニンの4-ニトロベンジルオキシカルボニル誘導体
ダウノルビシン	トポイソメラーゼ阻害剤
ブリオスタチン	ヘミアステルリン（Hemiasterlin）
カンプトテシン	セファロタキシン
カンプトテシン誘導体	ホモハリングトニン
7-置換カンプトテシン	ピロロベンゾジアゼピンダイマー(PBDs)
10，11-ジフルオロメチレンジオキシカンプトテシン	官能化ピロロベンゾジアゼピン
コンブレタスタチン	カリケアマイシン
デブロモアプリシアトキシン	ポドフィロトキシン
カハラリド-F	タキサン
ディスコデルモライド	ビンカアルカロイド
エクチナサイジン	

【０３２７】

【表２６】

抗ウイルス薬	**接合可能な検出試薬**
アシクロビル	フルオレセイン及びその誘導体
ビラA	フルオレセインイソチオシアネート(FITC)
シンメトレル	
	放射性医薬
抗真菌剤	^{125}I
ナイスタチン	^{131}I
	^{89}Zr
	^{111}In
追加の抗腫瘍薬	^{123}I
アドリアマイシン	^{131}I
セルビジン（Cerubidine）	^{99}mTc
ブレオマイシン	^{201}Tl
アルケラン	^{133}Xe
ベルバン	^{11}C
オンコビン	^{62}Cu
フルオロウラシル	^{18}F
メトトレキサート	^{68}Ga
チオテパ	^{13}N
ビサントレン	^{15}O
ノバントロン	^{38}K
チオグアニン	^{82}Rb
プロカルバジン	^{99}mTc（テクネチウム）
シタラビン	
	重金属
抗菌薬	バリウム
アミノグリコシド	金
ストレプトマイシン	白金
ネオマイシン	
カナマイシン	**抗-マイコプラズマ**
アミカシン	タイロシン
ゲンタマイシン	スペクチノマイシン
トブラマイシン	
Sストレプトマイシン B	
スペクチノマイシン	
アンピシリン	
スルファニルアミド	
ポリミキシン	
クロラムフェニコール	

【０３２８】
当業者は、多くの種類の可能性ある部分が、得られる本開示の抗体にカップリングされ得ることを認識するであろう（例えば、“Conjugate Vaccines”, Contributions to Microbiology and Immunology, J. M. Cruse and R. E. Lewis, Jr (eds), Carger Press, New York, (1989)を参照のこと、この全内容は、引用により本明細書に組込まれる）。

【０３２９】
カップリングは、抗体及び他の部分がそれらのそれぞれの活性をできるだけ長く保持するよう、２つの分子を結合するであろう任意の化学反応により達成される。この結合は、

多くの化学機構、例えば共有結合、親和性結合、インターカレーション、配位結合及び錯体形成を包含することができる。しかしながら、いくつかの実施形態によれば、好ましい結合は共有結合である。共有結合は、既存の側鎖の直接的縮合により又は外部架橋分子の取り組みにより達成され得る。多くの二価又は多価結合剤が、タンパク質分子、例えば本開示の抗体を、他の分子にカップリングすることにおいて有用である。例えば、代表的なカップリング剤は、有機化合物、例えばチオエステル、カルボジイミド、スクシンイミドエステル、ジイソシアネート、グルタルアルデヒド、ジアゾベンゼン及びヘキサメチレンジアミンを包含することができる。この列挙は、当業界において知られている種々の種類のカップリング剤を網羅することを意図するものではなく、むしろ、より一般的なカップリング剤の例である。（Killen and Lindstrom, Jour. Immun. 133:1335-2549 (1984); Jansen et al., Immunological Reviews 62:185-216 (1982); 及び Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)を参照のこと）。

【０３３０】

いくつかの実施形態によれば、本明細書に提供される組成物及び方法の他に、接合された活性化可能抗体はまた、活性化可能抗体配列に挿入されるか、又は他方では、含まれる修飾されたアミノ酸配列を通して、部位特異的接合のために修飾され得る。それらの修飾されたアミノ酸配列は、接合された活性化可能抗体内での接合された剤の制御された置換及び／又は投与を可能にするよう企画される。例えば、活性化可能抗体は、反応性チオール基を提供し、そしてタンパク質の折りたたみ及びアセンブリーに負の影響を与えず、又は抗原結合も変更しない、Ｌ及びＨ鎖上の位置でのシステイン置換を含むよう操作され得る。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、接合のための適切な部位を提供するために、活性化可能抗体内に１又は２以上の非天然のアミノ酸残基を含むか又は他方では、導入するよう操作され得る。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、その活性化可能抗体配列内に酵素的に活性化可能ペプチド配列を含むか又は他方では、導入するよう操作され得る。

【０３３１】

適切なリンカーは、文献に記載されている。（例えば、ＭＢＳ（Ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル）の使用を記載する、Ramakrishnan, S. et al., Cancer Res. 44:201-208 (1984)を参照のこと）。また、オリゴペプチドリンカーにより抗体にカップリングされる、ハロゲン化されたアセチルヒドラジド誘導体の使用を記載する米国特許第５，０３０，７１９号も参照のこと。いくつかの実施形態によれば、適切なリンカーは、次のものを包含する：（ｉ）ＥＤＣ（１－エチル－３－（３－ジメチルアミノ－プロピル）カルボジイミド塩酸塩；（ｉｉ）ＳＭＰＴ（４－スクシンイミジルオキシカルボニル－α－メチル－α－（２－ピリジル－ジチオ）－トルエン（Pierce Chem. Co., カタログ番号(21558G)）；（iii）ＳＰＤＰ（スクシンイミジル－６－［３－（２－ピリジルジチオ）プロピオンアミド］ヘキサノエート（Pierce Chem. Co. カタログ番号21651G）；（iv）スルホ－ＬＣ－ＳＰＤＰ（スルホスクシンイミジル－６－［３－（２－ピリジルジチオ）－プロピオンアミド］－ヘキサノエート（Pierce Chem. Co. カタログ番号2165-G）；及び（v）ＥＤＣに接合されるスルホ－ＮＨＳ(Ｎ－ヒドロキシスルホ－スクシンイミドPierce Chem. Co. カタログ番号24510）：。追加のリンカーは、ＳＭＣＣ、スルホ－ＳＭＣＣ、ＳＰＤＢ又はスルホ－ＳＰＤＢを包含するが、但しそれらだけには限定されない。

【０３３２】

上記に記載されるリンカーは、異なった属性を有する成分を含み、従って、異なった物理－化学性質を有する接合体を導く。例えば、アルキルカルボキシレートのスルホ－ＮＨＳエステルは、芳香族カルボキシレートのスルホ－ＮＨＳエステルよりも、より安定性である。ＮＨＳ－エステル含有リンカーは、スルホ－ＮＨＳエステルよりも低い溶解性である。さらに、リンカーＳＭＰＴは、立体的にヒンダードされたジスルフィド結合を含み、そして高められた安定性を有する接合体を形成することができる。ジスルフィド結合は一般的に、ジスルフィド結合がインビトロで切断され、低い利用可能な接合体をもたらすの

で、他の結合よりも安定性が低い。特に、スルホ－ＮＨＳは、カルボジイミドカップリングの安定性を増強することができる。カルボジイミドカップリング（例えば、ＥＤＣ）は、スルホ－ＮＨＳと併用して使用される場合、カルボジイミドカップリング反応のみよりも、加水分解に対して、より耐性である。

【０３３３】

いくつかの実施形態によれば、リンカーは切断可能である。いくつかの実施形態によれば、リンカーは非切断可能である。いくつかの実施形態によれば、複数のリンカーが存在する。それらの複数のリンカーはすべて同じである。例えば切断可能か又は非切断可能であり、又はそれらの複数のリンカーは異なっており、例えば、少なくとも１つは切断可能であり、そして少なくとも１つは非切断可能である。

【０３３４】

本開示は、次のように、ＡＢに剤を接合するためのいくつかの方法を利用する：（ａ）ＡＢの炭水化物部分への結合、又は（ｂ）ＡＢのスルフヒドリル基への結合、又は（ｃ）ＡＢのアミノ基への結合、又は（ｄ）ＡＢのカルボキシル基への結合。本開示によれば、ＡＢは、少なくとも２つの反応性基を有する中間リンカーを通して剤に共有結合され得、ここで１つの反応性基はＡＢと反応し、そして１つの基は剤と反応する。任意の適合性有機化合物を含むことができるリンカーは、ＡＢ（又は剤）との反応がＡＢ反応性及び選択性に悪影響を及ぼさないよう選択される。さらに、剤へのリンカーの結合は、剤の活性を破壊しない。酸化された抗体又は酸化された抗体フラグメントとの反応のための適切なリンカーは、第１アミン、第２アミン、ヒドラジン、ヒドラジド、ヒドロキシルアミン、フェニルヒドラジン、セミカルバジド及びチオセミフルバジド基から成る群から選択されたアミンを含むそれらのリンカーである。そのような反応性官能基は、リンカーの構造の一部として存在するか、又はそのような基を含まないリンカーの適切な化学的修飾により導入され得る。

【０３３５】

本開示によれば、還元されたＡＢへの結合のための適切なリンカーは、還元された抗体又はフラグメントのスルフヒドリル基と反応できる特定の反応性基を有するそれらのリンカーを包含する。そのような反応性基は次のものを包含するが、但しそれらだけには限定されない：反応性ハロアルキル基（例えば、ハロアセチル基を包含する）、ｐ－マーキュリー安息香酸基及びマイケル型付加反応することができる基（例えば、マレイミド、及びMitra and Lawton, 1979, J. Amer. Chem. Soc. 101: 3097-3110により記載されるタイプの基を包含する）。

【０３３６】

本開示によれば、酸化も又は還元もされていないＡＢへの結合のための適切なリンカーは、ＡＢにおける修飾されていないリシン残基に存在する第１アミンと反応することができる特定の官能基を有するそれらのリンカーである。そのような反応性基は、次のものを包含するが、但しそれらだけには限定されない：ＮＨＳカルボン酸又は炭酸エステル、スルホ－ＮＨＳカルボン酸又は炭酸エステル、４－ニトロフェニルカルボン酸又は炭酸エステル、ペンクフルオロフェニルカルボン酸又は炭酸エステル、アシルイミダゾール、イソシアネート及びインチオシアネート。

【０３３７】

本開示によれば、酸化も、還元もされていないＡＢへの結合のための適切なリンカーは、適切な試薬により活性化された、ＡＢにおけるアスパラギン酸又はグルタミン酸残基に存在するカルボン酸基と反応することができる特定の官能基を有するそれらのリンカーを包含する。適切な活性化試薬は、付加されたＮＨＳ又はスルホ－ＮＨＳを有するか又は有さないＥＤＣ、及びカルボキサミド形成のために利用される他の脱水剤を包含する。それらの場合、適切なリンカーに存在する官能基は、第１及び第２アミン、ヒドラジン、ヒドロキシルアミン及びヒドラジドを包含する。

【０３３８】

剤は、リンカーがＡＢに結合される前又は後、リンカーに結合され得る。特定の用途に

よれば、リンカーが関連する剤を有さないＡｂ－リンカー中間体を、最初に生成することが所望される。特定の用途に依存して、特定の剤がリンカーに共有結合され得る。他の実施形態によれば、ＡＢが、ＭＭ、ＣＭ及び関連するリンカーに、まず結合され、そして次に、接合目的のためにリンカーに結合される。

【０３３９】

分枝状リンカー：特定の実施形態によれば、剤の結合のための複数の部位を有する分枝状リンカーが使用される。複数部位リンカーに関しては、ＡＢへの単一の共有結合が、多数の部位で剤を結合できるＡＢ－リンカー中間体をもたらす。前記部位は、アルデヒド又はスルフヒドリル基であり得るか、又は剤が結合され得る任意の化学部位であり得る。

【０３４０】

いくつかの実施形態によれば、より高い比活性（又はＡＢに対する剤の高い比率）が、ＡＢ上の複数の部位での単一の部位リンカーの結合により達成され得る。この複数の部位は、２種の方法の何れかによりＡＢ中に導入され得る。最初に、１つの方法は、同じＡＢに複数のアルデヒド基及び／又はスルフヒドリル基を生成することができる。第２に、１つの方法は、リンカーへの続く結合のために複数の官能部位を有する「分枝状リンカー」を、ＡＢのアルデヒド又はスルフヒドリルに結合することができる。分枝状リンカー又は複数部位リンカーの官能部位は、アルデヒド又はスルフヒドリル基であり得るか、又はリンカーが結合され得る任意の化学部位であり得る。さらに高い比活性がそれらの２種のアプローチを組合すことにより、すなわちあＢ上のいくつかの部位で複数部位リンカーを結合することにより得られる。

【０３４１】

切断可能リンカー：補体系の酵素、例えばウロキナーゼ、組織プラスミノーゲン活性化因子、トリプシン、プラスミン、又はタンパク質分解活性を有する別の酵素（但し、それだけには限定されない）による切断に対して敏感であるペプチドリンカーが、本開示の１つの実施形態に使用され得る。本開示の１つの方法によれば、剤が補体による切断に敏感なリンカーを介して結合される。抗体は、補体を活性化できる種類から選択される。従って、抗体－剤接合体は、補体カスケードを活性化し、そして標的部位で剤を開放する。本開示の別の方法によれば、剤は、タンパク質分解活性を有する酵素、例えばウロキナーゼ、組織プラスミノーゲン、活性化因子、プラスミン又はトリプシンによる切断に対して敏感なリンカーを介して結合される。それらの切断可能リンカーは、細胞外毒素、例えば非制限的例によれば、表３に示される細胞外毒性の何れかを含む、接合された活性化可能抗体において有用である。

【０３４２】

切断可能リンカー配列の非制限的剤が、表４に提供される。

【０３４３】

【表２７】

表４：接合のための典型的なリンカー配列

切断可能配列のタイプ	アミノ酸
プラスミン切断可能配列	
プロ－ウロキナーゼ	ＰＲＦＫＩＩＧＧ（配列番号 １２７）
	ＰＲＦＲＩＩＧＧ（配列番号１２８）
TGFβ	ＳＳＲＨＲＲＡＬＤ（配列番号 １２９）
プラスミノーゲン	ＲＫＳＳＩＩＩＲＭＲＤＶＶＬ（配列番号 １３０）
スタフィロキナーゼ	ＳＳＳＦＤＫＧＫＹＫＫＧＤＤＡ（配列番号 １３１）
	ＳＳＳＦＤＫＧＫＹＫＲＧＤＤＡ（配列番号１３２）
第Xa因子切断可能配列	ＩＥＧＲ（配列番号 １３３）
	ＩＤＧＲ（配列番号１３４）
	ＧＧＳＩＤＧＲ（配列番号 １３５）
MMP 切断可能配列	
ゼラチナーゼA	ＰＬＧＬＷＡ（配列番号１３６）
コラゲナーゼ切断可能配列	
ウシ皮膚コラーゲン（α1(I) 鎖）	ＧＰＱＧＩＡＧＱ（配列番号１３７）
ウシ皮膚コラーゲン（α2(I) 鎖）	ＧＰＱＧＬＬＧＡ（配列番号 １３８）
ウシ軟骨コラーゲン（α1(II)鎖）	ＧＩＡＧＱ（配列番号 １３９）
ヒト肝臓コラーゲン（α1(III) 鎖）	ＧＰＬＧＩＡＧＩ（配列番号 １４０）
ヒト α_2M	ＧＰＥＧＬＲＶＧ（配列番号 １４１）
ヒト PZP	ＹＧＡＧＬＧＶＶ（配列番号 １４２）
	ＡＧＬＧＶＶＥＲ（配列番号１４３）
	ＡＧＬＧＩＳＳＴ（配列番号 １４４）
ラットα_1M	ＥＰＱＡＬＡＭＳ（配列番号 １４５）
	ＱＡＬＡＭＳＡＩ（配列番号 １４６）
ラットα_2M	ＡＡＹＨＬＶＳＱ（配列番号１４７）
	ＭＤＡＦＬＥＳＳ（配列番号 １４８）
ラット$\alpha_1 I_3$ (2J)	ＥＳＬＰＶＶＡＶ（配列番号１４９）
ラット$\alpha_1 I_3$ (27J)	ＳＡＰＡＶＥＳＥ（配列番号 １５０）
ヒト線維芽細胞コラゲナーゼ	ＤＶＡＱＦＶＬＴ（配列番号 １５１）
（自己分解切断）	ＶＡＱＦＶＬＴＥ（配列番号 １５２）
	ＡＱＦＶＬＴＥＧ（配列番号 １５３）
	ＰＶＱＰＩＧＰＱ（配列番号 １５４）

【０３４４】

さらに、剤は、ジスルフィド接合（例えば、システイン残基上のジスルフィド結合）を介してＡＢに結合され得る。多くの腫瘍は天然において、高レベルのグルタチオン（還元剤）を放出するので、これがジスルフィド結合を還元し、送達の部位での剤の続く放出を引起す。特定の実施形態によれば、ＣＭを修飾する還元剤はまた、接合された活性化可能抗体のリンカーを修飾するであろう。

【０３４５】

スペーサー及び切断可能要素：さらに別の実施形態によれば、剤と、活性可能抗体のＡＢとの間の空間を最適化するような手段でリンカーを構成する必要がある。これは、下記一般構造のリンカーの使用により達成され得る：

【０３４６】
【化６６】



【０３４７】
ここで、Ｗは、－Ｎ－ＣＨ$_2$－又は－ＣＨ$_2$－のいずれかであり；
Ｑは、アミノ酸、ペプチドであり；そして
ｎは、０－２０の整数である。
【０３４８】
いくつかの実施形態によれば、リンカーはスペーサー要素及び切断可能要素を含むことができる。スペーサー要素は、切断可能要素が切断を担当する酵素により接近できるようＡＢのコアーから離れて、切断可能要素を位置決定するよう作用する。上記に記載される特定の分枝リンカーが、スペーサー要素として作用することができる。
【０３４９】
この議論を通して、剤へのリンカーの結合（又は切断可能要素へのスペーサー要素の、又は剤への切断可能要素の結合）は、結合又は反応の特定のモードである必要はないことが理解されるべきである。適切な安定性及び生物学的適合性の生成物を提供する任意の反応が許容できる。
【０３５０】
血清補体及びリンカーの選択：本開示の１つの方法によれば、剤の放出が所望される場合、補体を活性化できる種類の抗体であるＡＢが使用される。その得られる接合体は、抗原を接合し、そしてカスケードを活性化する両能力を保持する。従って、本開示のこの実施形態によれば、剤は、切断可能リンカー又は切断可能要素の一端に連結され、そしてリンカー基の他端がＡＢ上の特異的部位に結合される。例えば、剤がヒドロキシ基又はアミノ基を有する場合、それは、ペプチド、アミノ酸又は他の適切に選択されたリンカーのカルボキシ末端に、それぞれ、エステル又はアミド結合を介して結合され得る。例えば、そのような剤は、カルボジイミド反応を介してリンカーペプチドに結合され得る。剤が、リンカーへの結合を妨げる官能基を含む場合、それらの妨害官能基は、結合の前、ブロックされ、そして生成物の接合体又は中間体が製造されるとすぐに、脱ブロックされる。次に、リンカーの反対又はアミノ末端が、直接、又は補体を活性化できるＡＢへの結合のために、さらなる修飾の後、使用される。
【０３５１】
リンカー（又はリンカーのスペーサー要素）は何れかの所望する長さのものであり、その一端は、活性化可能抗体のＡＢ上の特異的部位に共有結合される。リンカー又はスペーサー要素の他の末端は、アミノ酸又はペプチドリンカーに結合され得る。
【０３５２】
従って、それらの接合体が補体の存在下で抗原に結合する場合、剤をリンカーに結合するアミド又はエステル結合が切断され、その活性形での剤の放出がもたらされる。それらの接合体は、対象に投与される場合、標的部位での剤の送達又は放出を達成し、そして表３のそれら（但し、それらに制限されない）に提示されるように、薬剤、抗生物質、代謝拮抗剤、抗増殖剤及び同様のもののインビボ送達のために特に効果的である。
【０３５３】
補体活性化なしでの放出のためのリンカー：標的化された送達のさらなる別の用途によれば、補体活性化なしでの剤の放出は、補体カスケードの活性化が最終的には、標的細胞を溶解するので、所望される。従って、このアプローチは、剤の送達及び放出が標的細胞を死滅しないで、達成されるべきである場合、有用である。細胞メディエーター、例えばホルモン、酵素、コルチコステロイド、神経伝達物質、遺伝子又は酵素の標的細胞への送達が所望される場合、そのようなことが目的である。それらの接合体は、血清プロテアー

ゼによる切断に対して軽度に敏感であるリンカーを介して、補体を活性化できないＡＢに剤を結合することにより調製され得る。この接合体が個人に投与される場合、抗原－抗体補体がすばやく形成するが、ところが剤の切断はゆっくり生じ、従って、標的部位での化合物の放出がもたらされる。

【０３５４】

生化学架橋剤：他の実施形態によれば、活性化可能抗体は、特定の生化学的架橋剤を用いて、１又は２以上の治療剤に接合され得る。架橋試薬は、２種の異なった分子の官能基を一緒に結合する分子橋を形成する。段階的に２つの異なったタンパク質を連結するためには、所望しないホモポリマー形成を排除するヘテロ－二官能性架橋剤が使用され得る。

【０３５５】

リソソームプロテアーゼにより切断可能なペプチジルリンカー、例えばＶａｌ－Ｃｉｔ、Ｖａｌ－Ａｌａ又は他のジペプチドがまた有用である。さらに、リソソームの低ｐＨ環境下で切断可能な酸－不安定性リンカー、例えばビス－シアリルエーテルが使用され得る。他の適切なリンカーは、カテプシン－不安定性基質、特に酸性ｐＨで最適な機能を示すそれらを包含する。

【０３５６】

典型的なヘテロ－二官能性架橋剤が表５に参照される。

【０３５７】

【表２８】

表５：典型的なヘテロ二官能性架橋剤

ヘテロ二官能性架橋剤			
リンカー	に対して反応性	利点及び用途	架橋結合後のスペーサーアームの長さ（Å）
SMPT	第一アミン スルフヒドリル	高い安定性	11.2 Å
SPDP	第一アミン スルフヒドリル	チオール化 切断可能な架橋	6.8 Å
LC-SPDP	第一アミン スルフヒドリル	拡張スペーサーアーム	15.6 Å
スルホ-LC-SPDP	第一アミン スルフヒドリル	エキステンダースペーサーアーム 水溶性	15.6 Å
SMCC	第一アミン スルフヒドリル	安定したマレイミド反応基 酵素 - 抗体接合 ハプテン - キャリアタンパク質接合	11.6 Å
スルホ-SMCC	第一アミン スルフヒドリル	安定したマレイミド反応基 水溶性 酵素 - 抗体接合	11.6 Å
MBS	第一アミン スルフヒドリル	酵素 - 抗体接合 ハプテン - キャリアタンパク質接合	9.9 Å
スルホ-MBS	第一アミン スルフヒドリル	水溶性	9.9 Å
SIAB	第一アミン スルフヒドリル	酵素 - 抗体接合	10.6 Å
スルホ-SIAB	第一アミン スルフヒドリル	水溶性	10.6 Å
SMPB	第一アミン スルフヒドリル	拡張スペーサーアーム 酵素 - 抗体接合	14.5 Å
スルホ-SMPB	第一アミン スルフヒドリル	拡張スペーサーアーム 水溶性	14.5 Å
EDE/スルホ-NHS	第一アミン カルボキシル基	ハプテン - キャリア接合	0
ABH	炭水化物 非選択性	糖基と反応する	11.9 Å

【０３５８】

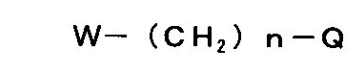
非切断可能リンカー又は直接的結合：本開示のさらに他の実施形態によれば、接合体は、剤が標的に送達されるが、しかし放出されないよう企画され得る。これは、ＡＢに剤を、直接的に又は非切断可能リンカーを介して結合することにより達成され得る。

【０３５９】

それらの非切断リンカーは、続いて、本明細書に記載される方法によりＡＢへの結合に利用され得る官能基を含むよう修飾され得る、アミノ酸、ペプチド、Ｄ－アミノ酸又は他の有機化合物を含むことができる。そのような有機リンカーのための一般式は、下記式であり得る：

【０３６０】

【化６７】



【０３６１】
ここで、Ｗは、－Ｎ－ＣＨ$_2$－又は－ＣＨ$_2$－のいずれかであり；
Ｑは、アミノ酸、ペプチドであり；そして
ｎは、０－２０の整数である。

【０３６２】
非切断可能接合体：いくつかの実施形態によれば、化合物は、補体を活性化できないＡＢに結合され得る。補体活性化することができないＡＢを用いる場合、この結合は、活性化された補体による切断に敏感であるリンカーを用いて、又は活性化された補体による切断に敏感ではないリリンカーを用いて、達成され得る。

【０３６３】
本明細書に開示される抗体はまた、免疫リポソームとして製剤化され得る。抗体を含むリポソームは、当業界において知られている方法、例えばEpstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); 及び米国特許第４，４８５，０４５号 及び米国特許第４，５４４，５４５号に記載される方法により調製される。向上された循環時間を有するリポソームが、米国特許第５，０１３，５５６号に開示されている。

【０３６４】
特に有用なリポソームは、ホスファチジルコリン、コレステロール、及びＰＥＧ－誘導体化されたホスファチジルエタノールアミン（ＰＥＧ－ＰＥ）を含む脂質組成物を用いて、逆相蒸発方法により生成され得る。リポソームは、所望する直径を有するリポソームを生成するために、定義された孔サイズのフィルターを通して押出される。本開示の抗体のＦａｂ'フラグメントは、ジスルフィド－交換反応を介して、Martin et al., J. Biol. Chem., 257: 286-288 (1982)に記載されるリポソームに結合され得る。

【０３６５】
定義
特にことわらない限り、本開示に関連して使用される科学技術用語は、当業者により通常、理解される意味を有するであろう。用語「ａ」実体又は「ａｎ」実体とは、１又は２以上のその実体を意味する。たとえば、１つの化合物とは、１又は２以上の化合物を言及する。従って、用語「ａ」、「ａｎ」、「１又は２以上（one or more）」及び「少なくとも１つ（at least one）」とは、交換可能的に使用され得る。さらに、文脈により必要とされない限り、単数形の用語は、複数形も含み、そして複数形の用語は単数形も含むであろう。一般的に、本明細書に記載される細胞及び組織培養、分子生物学、及びタンパク質及びオリゴ－又はポリヌクレオチド化学及びハイブリダイゼーションに関連して及びそれらの技法に関連して使用される命名法は、当業界において良く知られており、そして通常使用されるものである。組換えＤＮＡ、オリゴヌクレオチド合成、及び組織培養及び形質転換（例えば、エレクトロポレーション、リポフェクション）に関しては、標準技法が使用される。酵素反応及び精製技法は、製造業者の仕様に従って、又は当核技術分野において通常に達成されるようにして、又は本明細書に記載されるようにして、実施される。前述の技法及び手順は、一般的に、当業界において良く知られている従来の技法に従って、及び本明細書を通して引用され、そして議論される種々の一般的な及びより具体的な参考文献に記載されるようにして実施される。例えば、Sambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))を参照のこと。本明細書に記載される、分析化学、合成有機化学、及び医薬品及び製薬化学に関連して使用される命名法、及びそれらの実験手順及び技法は、良く知られており、そして一般的に当業界において使用され

る。化学合成、化学分析、医薬製剤、製剤化及び送達、及び患者の治療についての標準技法が用いられる。

【０３６６】

本開示に従って使用される場合、次の用語は、特にことわらない限り、次の意味を有することが理解されるであろう。

【０３６７】

本明細書において使用される場合、用語「抗体（antibody）」とは、免疫グロブリン分子、及び免疫グロブリン（Ｉｇ）分子の免疫学的活性部分、すなわち抗原を特異的に結合する（抗原と免疫反応する）抗原結合部位を含む分子を意味する。「特異的に結合する（specifically bind）」又は「～と免疫反応する（immunoreacts with）」、又は「免疫特異的に結合する（immunospecifically bind）」とは、抗体が所望の抗原の１又は２以上の抗原決定基と反応し、そして他のポリペプチドとは反応しないか、又はより低い親和性（$K_d > 10^{-6}$）で結合することを意味する。抗体とは、ポリクローナル、モノクローナル、キメラ、ドメイン抗体、一本鎖、Ｆａｂ及びＦ（ａｂ′）$_2$フラグメント、ｓｃＦｖ及びＦａｂ発現ライブラリーを包含するが、但しそれらだけには限定されない。

【０３６８】

基本的抗体構造単位は、テトラマーを含むことが知られている。各テトラマーは、２つの同一対のポリペプチド鎖から構成され、各対は１つの「Ｌ鎖」（約２５ｋＤａ）及び１つの「Ｈ鎖」（約５０－７０ｋＤａ）を有する。各鎖のアミノ末端部分は、抗原認識を主に担当する約１００－１１０又はそれ以上のアミノ酸の可変領域を含む。各鎖のカルボキシル末端部分は、エフェクター機能を主に担当する不変領域を定義する。一般的に、ヒトから得られる抗体分子は、クラスＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＡ、ＩｇＥ及びＩｇＤのいずれかに関し、それらは分子に存在するＨ鎖の性質によりお互い異なる。特定のクラスは、サブクラス、例えばＩｇＧ$_1$、ＩｇＧ$_2$、及び他のものを有する。さらに、ヒトにおいては、Ｌ鎖は、κ鎖又はλ鎖であり得る。

【０３６９】

用語「モノクローナル抗体（monoclonal antibody）」(ｍＡｂ)又は「モノクローナル抗体組成物（monoclonal antibody composition）」とは、本明細書において使用される場合、ユニークＬ鎖遺伝子生成物及びユニークＨ鎖遺伝子生成物から成る抗体分子の１つの分子種のみを含み抗体分子集団を言及する。特に、モノクローナル抗体の相補性決定領域（ＣＤＲ）は、前記集団の分子全てにおいて同一である。ＭＡｂは、それに対するユニーク結合親和性により特徴づけられる抗原の特定のエピトープと免疫反応することができる抗原結合部位を含む。

【０３７０】

用語「抗原－結合部位（antigen-binding site）」又は「結合部分（binding portion）」とは、抗原結合に関与する免疫グロブリン分子の一部を言及する。抗原結合部位は、Ｈ鎖（Ｈ）及びＬ鎖（Ｌ）のＮ－末端可変（Ｖ）領域のアミノ酸残基により形成される。「超可変領域（hyperrariable regions）」として言及される、Ｈ及びＬ鎖のＶ領域内の３つの高度に分岐したストレッチが、「骨格領域（framework regions）」又はＦＲとして知られている、より保存されたフランキングストレッチ間に介在する。従って、用語「ＦＲ」とは、免疫グロブリンにおける超可変領域間に天然において見出され、そしてその領域に隣接して存在するアミノ酸配列を言及する。抗体分子においては、Ｌ鎖の３つの超可変領域及びＨ鎖の３つの超可変領域が、抗原－結合表面を形成するために、立体空間でお互いに対して配置される。抗原結合表面は、結合される抗原の立体表面に相補的であり、そしてＨ鎖及びＬ鎖の個々の３つの超可変領域は、「相補性－決定領域（Complementarity-determining regions）」又は「ＣＤＲ」として言及される。各ドメインへのアミノ酸の割り当ては、Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991))又は Chothia & Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987), Chothia et

al. Nature 342:878-883 (1989)の定義に従う。

【０３７１】

本明細書において使用される場合、用語「エピトープ（epitope）」は、免疫グロブリン、ｓｃＦｖ又はＴ－細胞受容体に対して特異的結合できる任意のタンパク質決定因子を包含する。用語「エピトープ」は、免疫グロブリン又はＴ－細胞受容体に対して特異的結合できる任意のタンパク質決定因子を包含する。エピトープ決定因子は通常、分子、例えばアミノ酸又は糖側鎖の化学的活性表面基から成り、そして通常、特異的立体構造特性、及び特異的電荷特性を有する。例えば、抗体は、ポリペプチドのＮ－末端又はＣ－末端ペプチドに対して高められる。抗体は、解離定数が≦１μＭである場合、例えば、いくつかの実施形態によれば、≦１００ｎＭ、及びいくつかの実施形態によれば、≦１０ｎＭである場合、抗原を特異的に結合すると言われる。

【０３７２】

本明細書において使用される場合、用語「特異的結合（specific binding）」、「免疫学的結合（immunological binding）」及び「免疫学的結合性質（immunological binding properties）」とは、免疫グロブリン分子と、免疫グロブリンが特異的である抗原との間で生じるタイプの非共有相互作用を言及する。免疫学的結合相互作用の強度又は親和性は、相互作用の解離定数（Ｋｄ）で表され得、ここでより小さなＫｄがより高い親和性を表す。選択されたポリペプチドの免疫学的結合性質は、当業界において良く知られている方法を用いて定量化され得る。１つのそのような方法は、抗原結合部位／抗原複合体形成及び解離の速度の測定を必要とし、ここでそれらの速度は、複合体パートナーの濃度、相互作用の親和性及び両方向にその速度に等しく影響を及ぼす幾何学的パラメーターに依存する。従って、「オン速度定数（on rate constant）」（Kon)及び「オフ速度定数（「off rate constant」）(Koff)の両者は、濃度、及び会合及び解離の実際の速度の計算により決定され得る。（Nature 361:186-87 (1993)を参照のこと）。Koff/Konの比率は、親和性に関係しないすべてのパラメーターの取り消しを可能にし、そして解離定数K_dに等しい。（一般的に、Davies et al. (1990) Annual Rev Biochem 59:439-473を参照のこと）。本開示の抗体は、当業者に知られているアッセイ、例えば放射性リガンド結合アッセイ又は類似するアッセイにより測定される場合、平衡結合定数（Ｋｄ）が、≦１μＭ、例えば、いくつかの実施形態によれば、≦１００ｎＭ、いくつかの実施形態によれば、≦１０ｎＭ、及びいくつかの実施形態によれば、≦１００ｐＭ－約１ｐＭである場合、ＥＧＦＲに対して特異的に結合すると言われる。

【０３７３】

用語「単離されたポリヌクレオチド（isolated polynucleotide）」とは、本明細書において使用される場合、ゲノム、ｃＤＮＡ又は合成起源、又はそれらのいくつかの組合せのポリヌクレオチドを意味し、その起源により、「単離されたポリヌクレオチド」は、（１）「単離されたポリヌクレオチド」が天然で見出される、ポリヌクレオチドのすべて又は一部に関連せず、（２）それが天然において連結されないポリヌクレオチドに操作可能的に連結されるか、又は（３）大きな配列の一部として、天然において存在しない。本開示のポリヌクレオチドは、本明細書に示されるＨ鎖免疫グロブリン分子をコードする核酸分子、及び本明細書に示されるＬ鎖免疫グロブリン分子をコードする核酸分子を含む。

【０３７４】

本明細書において言及される用語「単離されたタンパク質（isolated protein）」とは、ｃＤＮＡ、組換えＲＮＡ、又は合成起源又はそれらのいくつかの組合せのタンパク質を意味し、その起源又は誘導源により、「単離されたタンパク質」は、（１）天然において見出されるタンパク質とは関連せず、（２）同じ源からの他のタンパク質、例えばネズミタンパク質を有さず、（３）異なった種からの細胞により発現されるか、又は（４）天然において存在しない。

【０３７５】

用語「ポリペプチド（polypeptide）」とは、天然タンパク質フラグメント又はポリペプチドの配列の類似体を言及するための遺伝子用語として、本明細書において使用され

る。従って、天然タンパク質フラグメント及び類似体は、ポリペプチド属の種である。本開示のポリペプチドは、本明細書に示されるＨ鎖免疫グロブリン分子、及び本明細書に示されるＬ鎖免疫グロブリン分子、並びに、Ｌ鎖免疫グロブリン分子、例えばカッパＬ鎖免疫グロブリンと共に、Ｈ鎖免疫グロブリン分子を含む組合せにより形成される抗体分子を含み、そして逆もまた同様に、及びそれらのフラグメント及び類似体も含む。

【０３７６】

本明細書において使用される、用語「天然に存在する（naturally-occurring）」とは、目的に適用される場合、目的が天然において見出され得る事実を意味する。例えば、天然源から単離され得る生物（ウィルスを含む）に存在し、そして実験室においてヒトにより意図的に修飾されておらず、又は他方では、天然に存在するポリペプチド又はポリヌクレオチド配列を挙げることができる。

【０３７７】

用語「操作可能的に連結される（operably linked）」とは、本明細書において使用される場合、そのように記載される成分の位置が、それらの意図される様式で機能することを可能にする関係にあることを意味する。コード配列に「操作可能的に連結される」制御配列は、そのコード配列の発現が制御配列と適合できる条件下で達成されるような手段で連結される。

【０３７８】

用語「制御配列（control sequence）」とは、本明細書において使用される場合、連結されるコード配列の発現及びプロセッシングに影響を及ぼすのに必要であるポリヌクレオチド配列を意味する。そのような制御配列の性質は、原核生物における宿主生物に依存して異なり、そのような制御配列は一般的に、真核生物では、プロモーター、リボソーム結合部位及び転写終結配列を含み、一般的に、そのような制御配列はプロモーター及び転写終結配列を含む。用語「制御配列」は、その存在が発現及びプロセッシングのために必須であるすべての成分を、少なくとも含むよう意図され、そしてまた、その存在が好都合である追加の成分、例えばリーダー配列及び融合パートナー配列を含むことができる。用語「ポリヌクレオチド（polynucleotide）」とは、本明細書において使用される場合、少なくとも１０個の長さの塩基のヌクレオチド、リボヌクレオチド又はデオキシヌクレオチド、又は何れかのタイプのヌクレオチドの修飾形を意味する。この用語は、単鎖及び二本鎖形のＤＮＡを包含する。

【０３７９】

本明細書において言及される用語、ポリヌクレオチドは、天然に存在し、そして天然に存在しないオリゴヌクレオチド結合により一緒に連結される、天然に存在し、そして修飾されたヌクレオチドを包含する。オリゴヌクレオチドは、２００個又はそれよりも少ない長さの塩基を一般的に含むポリヌクレオチドポリヌクレオチドサブセットである。いくつかの実施形態によれば、オリゴヌクレオチドは、１０－６０個の長さの塩基、及び、いくつかの実施形態によれば、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９又は２０－４０個の長さの塩基である。オリゴヌクレオチドは通常、プローブについては一本鎖であるが、但しオリゴヌクレオチドは、遺伝子変異体の構成への使用に関しては、二本鎖であり得る。本開示のオリゴヌクレオチドは、センス又はアンチセンスの何れかのオリゴヌクレオチドである。

【０３８０】

本明細書において言及される用語「天然に存在するヌクレオチド（naturally occurring nucleotides）」は、デオキシリボヌクレオチド及びリボヌクレオチドを包含する。本明細書において言及される用語「修飾されたヌクレオチド（modified nucleotides）」は、修飾されたか又は置換された糖基等を有するヌクレオチドを含む。本明細書において言及される用語「オリゴヌクレオチド結合（oligonucleotide linkages）」は、オリゴヌクレオチド結合、例えばホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホロセレノエート、ホスホロジセレノエート、ホスホロアニロチオエート、ホスホラニラデート、ホスホロンミデート及び同様のものを包含する。例えば、LaPlanche et al.

Nucl. Acids Res. 14:9081 (1986); Stec et al. J. Am. Chem. Soc. 106:6077 (1984), Stein et al. Nucl. Acids Res. 16:3209 (1988), Zon et al. Anti Cancer Drug Design 6:539 (1991); Zon et al. Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, pp. 87-108 (F. Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England (1991)); Stec et al. U.S. Patent No. 5,151,510; Uhlmann and Peyman Chemical Reviews 90:543 (1990)を参照のこと。オリゴヌクレオチドは、所望には、検出のための標識を含むことができる。

【０３８１】

本明細書において使用される場合、２０種の従来のアミノ酸及びそれらの略語は、慣用的用法に従う。Immunology - A Synthesis (2nd Edition, E.S. Golub and D.R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland7 Mass. (1991))を参照のこと。２０種の従来のアミノ酸、非天然アミノ酸、例えばα－置換されたアミノ酸、Ｎ－アルキルアミノ酸、乳酸及び他の非従来型アミノ酸の立体異性体（例えば、Ｄ－アミノ酸）もまた、本開示のポリペプチドのための適切な成分であり得る。非従来型アミノ酸の例は、次のものを包含する：４－ヒドロキシプロリン、γ－カルボキシグルタミン酸、ε－Ｎ、Ｎ、Ｎ、Ｎ－トリメチルリジン、ε－Ｎ－アセチルリジン、Ｏ－ホスホセリン、Ｎ－アセチルセリン、Ｎ－ホルミルメチオニン、３－メチルヒスチジン、５－ヒドロキシリジン、δ－Ｎ－メチルアルギニン及び他の類似するアミノ酸、及びイミノ酸（例えば、４－ヒドロキシプロリン）。本明細書において使用されるポリペプチド表記においては標準の使用法及び慣習によれば、左方向はアミノ末端方向であり、そして右方向はカルボキシ末端方向である。

【０３８２】

同様に、特にことわらない限り、一本鎖ポリヌクレオチド配列の左側端は、５′末端であり、そして二本鎖ポリヌクレオチド配列の左側方向は、５′方向として言及される。新生ＲＮＡ転写体の５′から３′への付加の方向は、ＲＮＡと同じ配列を有するＤＮＡ鎖との転写方向配列と称され、そしてＲＮＡ転写体の５′から５′末端への方向は、「上流配列（upstream sequences）」、すなわちＲＮＡと同じ配列を有するＤＮＡ鎖上の配列領域と称され、そしてＲＮＡ転写体の３′から３′末端への方向は、「下流配列（downstream sequences）」と称される。

【０３８３】

ポリペプチドに適用される場合、用語「実質的な同一性（substantial identity）」とは、２種のペプチド配列が、デフォルトギャップウェイト（default gap weights）を用いてプログラムＧＡＰ又はＢＥＳＴＦＩＴにより最適に整列される場合、少なくとも８０％の配列同一性、例えば、いくつかの実施形態によれば、少なくとも９０％の配列同一性、いくつかの実施形態によれば、少なくとも９５％の配列同一性、及びいくつかの実施形態によれば、少なくとも９９％の配列同一性を共有することを意味する。

【０３８４】

いくつかの実施形態によれば、同一でない残基位置は、保存性アミノ酸置換により異なる。

【０３８５】

本明細書において論じられる場合、抗体又は免疫グロブリン分子のアミノ酸配列における小さな変動が、本開示により包含されるよう意図され、但しアミノ酸配列における変動が少なくとも７５％、例えば、いくつかの実施形態によれば、少なくとも８０％、９０％、９５％、及びいくつかの実施形態によれば、９９％、維持されるべきである。特に、保存性アミノ酸置換が意図される。保存性置換は、それらの側鎖に関連するアミノ酸ファミリー内で生じるものである。遺伝子的にコードされるアミノ酸は一般的に、次のファミリーに分けられる：（１）酸性アミノ酸は、アスパラギン酸、グルタミン酸であり；（２）塩基性アミノ酸は、リシン、アルギニンヒスチジンであり；（３）非極性アミノ酸は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファンであり；そして（４）非荷電極性アミノ酸は、グリシン、アスパラギン、

グルタミン、システイン、セリン、トレオニン、チロシンである。親水性アミノ酸は、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン、グルタミン酸、ヒスチジン、リシン、セリン及びトレオニンを包含する。疎水性アミノ酸は、アラニン、システイン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、トリプトファン、チロシン及びバリンを包含する。アミノ酸の他のファミリーは、次のものを包含する：（ｉ）脂肪族－ヒドロキシファミリーである、セリン及びトレオニン；（ii）アミド含有ファミリーである、アスパラギン及びグルタミン；（iii）脂肪族ファミリーである、アラニン、バリン、ロイシン及びイソロイシン；及び（iv）芳香族ファミリーである、フェニルアラニン、トリプトファン及びチロシン、例えば、イソロイシン又はバリンによるロイシンの単離された置換、グルタミン酸によるアスパラギン酸、セリンによるトレオニン、又は構造的に関連するアミノ酸によるアミノ酸の類似する置換が、特に、その置換が骨格部位内にアミノ酸を含まない場合、その得られる分子の結合又は性質に対して主要な影響を与えないであろうことを予測するのは合理的である。アミノ酸変化が機能的ペプチドをもたらすかどうかは、ポリペプチド誘導体の比活性をアッセイすることにより、容易に決定され得る。アッセイは、本明細書において詳細に記載されている。抗体又は免疫グロブリン分子のフラグメント又は類似体は、当業者により容易に調製され得る。フラグメント又は類似体の適切なアミノ－及びカルボキシ－末端は、機能的ドメインの境界近くに存在する。構造及び機能ドメインは、公的又は独自の配列データベースに、ヌクレオチド及び／又はアミノ酸配列を比較することにより、同定され得る。いくつかの実施形態によれば、コンピューター化された比較方法が、既知構造及び／又は機能の他のタンパク質に存在する配列モチーフ又は予測されるタンパク質立体構造ドメインを同定するために使用され得る。既知の三次元構造に折りたたむタンパク質を同定する方法は知られている（Bowie et al. Science 253:164 (1991)）。従って、前述の例は、当業者が本開示に従って構造的及び機能的ドメインを定義するために使用され得る配列モチーフ及び構造コンホメーションを認識できることを示す。

【０３８６】

適切なアミノ酸置換は、（１）タンパク質分解に対する感受性を低め、（２）酸化に対する感受性を低め、（３）タンパク質複合体を形成するために結合親和性を変更し、（４）結合親和性を変更し、そして（５）そのような類似体の他の物理化学的マタハ機能的性質を付与するか、又は修飾するそれらの置換である。類似体は、天然に存在するペプチド配列以外の配列の種々のムテインを含むことができる。例えば、単一又は複数のアミノ酸置換（例えば、保存性アミノ酸置換）が、天然に存在する配列において（分子間接触を形成するドメイン外のポリペプチドの部分において）、行われ得る。保存性アミノ酸置換は、親配列の構造特性を実質的に変えるべきではない（例えば、アミノ酸置換は、親配列に存在するヘリックスを破壊するか又は親配列を特徴づける他のタイプの二次構造を分裂する傾向があるべきではない）。当技術分野で認識されるポリペプチドの二次及び三次構造の例は、タンパク質、構造及び分子の原則（Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)）；タンパク質構造の紹介（C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)）；及びThornton et at. Nature 354:105 (1991)に記載されている。

【０３８７】

用語「ポリペプチドフラグメント（polypeptide fragment）」とは、本明細書において使用される場合、アミノ末端及び／又はカルボキシ末端欠失及び／又は１又は２以上の内部欠失を有するが、しかし残るアミノ酸配列が、例えば完全な長さのｃＤＮＡ配列から推定される天然に存在する配列におけるその対応する位置と同一である、ポリペプチドを意味する。フラグメントは典型的には、少なくとも５、６、８又は１０個の長さのアミノ酸、例えば、いくつかの実施形態によれば、少なくとも１４個の長さのアミノ酸、いくつかの実施形態によれば、少なくとも２０個の長さのアミノ酸、通常、少なくとも５０個の長さのアミノ酸、及びいくつかの実施形態によれば、７０個の長さのアミノ酸である。用語「類似体（analog）」とは、本明細書において使用される場合、推定されるアミノ

酸配列の一部に対して実質的な同一性を有し、そして適切な結合条件下で標的に対する特異的結合を有する、少なくとも２５個のアミノ酸のセグメントから構成されるポリペプチドを意味する。典型的には、ポリペプチド類似体は、天然に存在する配列に対して保存性アミノ酸置換（又は付加又は欠失）を含む。類似体は、典型的には、少なくとも２０個の長さのアミノ酸、例えば、いくつかの実施形態によれば、少なくとも５０個又はそれ以上の長さのアミノ酸であり、そしてしばしば、完全な長さの天然に存在するポリペプチドと同じ長さであり得る。

【０３８８】

用語「剤（agent）」は、化合物、化合物の混合物、生体高分子、又は生体材料から製造される抽出物を示すために、本明細書において使用される。

【０３８９】

本明細書において使用される場合、用語「標識（label）」又は「標識された（labeled）」とは、例えば放射性標識されたアミノ酸の組込み、又はマーキングされたアビジン（例えば、光学的又は比色法により検出され得る蛍光マーカー又は酵素活性を含むストレプタビジン）により検出され得るビオチニル部分のポリペプチドへの結合による、検出可能マーカーの組込みを意味する。ポリペプチド及び糖タンパク質を標識する種々の方法が当業界において知られており、そして使用され得る。ポリペプチドのための標識の例は、次のものを包含するが、但しそれらだけには限定されない：放射性同位体又は放射性核種（例えば、^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{15}Ｎ、^{35}Ｓ、^{90}Ｙ、^{99}Ｔｃ、^{111}Ｉｎ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ）、蛍光標識（例えば、ＦＩＴＣ、ローダミン、ランタニド蛍光体）、酵素標識（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、β-ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）、化学発光、ビオチニル基、二次レポーターにより認識される所定のポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパー対配列、二次抗体のための結合部位、金属結合ドメイン、エピトープ標識）。いくつかの実施形態によれば、標識は、潜在的な立体障害を低めるために、種々の長さのスペーサーアームにより結合される。用語「薬剤又は薬物（pharmaceutical agent or drug）」とは、本明細書において使用される場合、患者に正しく投与される場合、所望の治療効果を誘発できる化合物又は組成物を意味する。

【０３９０】

本明細書における他の化学用語は、The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (Parker, S., Ed., McGraw-Hill, San Francisco (1985))により例示されるように、当業界における従来の用法に従って使用される。

【０３９１】

本明細書において使用される場合、「実質的に純粋な（substantially pure）」とは、目的種が存在する主要種であり（すなわち、モル基準で、組成物中のいずれか他の個々の種よりも豊富である）、そしていくつかの実施形態によれば，実質的に精製された画分が組成物であり、ここで、目的種が存在するすべての高分子種の少なくとも約５０％（モル基準で）を占めることを意味する。

【０３９２】

一般的に、実質的に純粋な組成物は、組成物の存在するすべての高分子種の約８０％以上、いくつかの実施形態によれば、約８５％、９０％、９５％及び９９％以上を占めるであろう。いくつかの実施形態によれば、目的種は、本質的に均質に精製され（組成物中の汚染種は、従来の検出法によっては検出され得ない）、ここで組成物は単一の高分子種から本質的に成る。

【０３９３】

用語「患者（patient）」とは、ヒト及び獣医学的対象を含む。

【０３９４】

本開示の活性化可能抗体は、所定の標的、例えばヒト標的タンパク質を、特異的に結合する。本明細書に記載される活性化可能抗体と同じエピトープに結合する活性化可能抗体もまた、本開示に結合される。

【０３９５】

当業者は、モノクローナル抗体（例えば、ネズミモノクローナル又はヒト化抗体）が、前者が後者の標的への結合を妨げるかどうかを確かめることにより、本明細書に記載される方法に使用されるモノクローナル抗体と同じ特異性を有するかどうかを、過度の実験を行わないで、決定することが可能であることを認識するであろう。試験されるモノクローナル抗体が、本開示のモノクローナル抗体による結合の低下により示されるように、本開示のモノクローナル抗体と競争する場合、それらの２種のモノクローナル抗体は、同じか又は密接に関連するエピトープに結合する。モノクローナル抗体が本開示のモノクローナル抗体の特異性を有するかどうかを決定するための方法は、標的と共に、本開示のモノクローナル抗体とをプレインキュベートし、そして次に、試験されるモノクローナル抗体を添加し、試験されるモノクローナル抗体が標的を結合するその能力を阻害するかどうかを決定することである。試験されるモノクローナル抗体が阻害される場合、ほぼ確実に、それは本開示のモノクローナル抗体と同じか、又は機能的に同等のエピトープ特異性を有する。

【０３９６】

多重特異的活性化可能抗体

本開示はまた、多重特異的活性化可能抗体を提供する。本明細書において提供される多重特異的活性化可能抗体は、複数の抗原又はエピトープを認識し、そして多重特異的抗体の少なくとも１つの抗原－又はエピトープ結合ドメインに連結される少なくとも１つのマスキング部分（ＭＭ）を含む多重特異的抗体であり、結果的に、ＭＭのカップリングが、抗原－又はエピトープ－結合ドメインのその標的を結合する能力を低める。いくつかの実施形態によれば、ＭＭは、少なくとも１つのＭＭＰプロテアーゼのための基質として機能する切断可能部分（ＣＭ）を介して、多重特異的抗体の抗原－又はエピトープ－結合ドメインにカップリングされる。本明細書において提供される多重特異的活性化可能抗体は、循環において安定し、治療及び／又は診断の意図される部位で活性化されるが、しかし正常な、すなわち健康な組織においては活性化されず、そして活性化される場合、その対応する、修飾されていない多重特異的抗体に、少なくとも匹敵する標的への結合を示す。

【０３９７】

いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、また本明細書において免疫エフェクター係合多重特異的活性化可能抗体としても言及される免疫エフェクター細胞を係合するよう企画される。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、また白血病係合多重特異的活性化可能抗体として本明細書において言及される、白血球を係合するよう企画される。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、またＴ－細胞係合多重特異的活性化可能抗体として本明細書において言及される、Ｔ－細胞を係合するよう企画される。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、白血球、例えばＴ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、骨髄単核細胞、マクロファージ、及び／又は別の免疫エフェクター細胞上の表面抗原を係合する。いくつかの実施形態によれば、免疫エフェクター細胞は、白血球である。いくつかの実施形態によれば、免疫エフェクター細胞は、Ｔ細胞である。いくつかの実施形態によれば、免疫エフェクター細胞は、ＮＫ細胞である。いくつかの実施形態によれば、免疫エフェクター細胞は、単核細胞、例えば骨髄単核細胞である。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、多抗原標的化活性化可能抗体としても本明細書において言及される、複数の標的及び／又は複数のエピトープを結合するか、又は他方では、それと反応するよう企画される。本明細書において使用される場合、用語「標的（target）」及び「抗原（antigen）」とは、交換可能的に使用される。

【０３９８】

いくつかの実施形態によれば、本開示の免疫エフェクター細胞係合多重特異的活性化可能抗体は、標的化抗体又はその抗原結合フラグメント、及び免疫エフェクター細胞係合抗体又はその抗原結合部分を含み、ここで標的化抗体又はその抗原結合フラグメント、及び/又は免疫エフェクター細胞係合抗体又はその抗原結合部分の少なくとも１つはマスキングされている。いくつかの実施形態によれば、免疫エフェクター細胞係合抗体又はその抗

原結合フラグメントは、第１免疫エフェクター細胞係合標的を結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、前記ＭＭ１のカップリングは、前記第１標的を結合するＡＢ１の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングは、第２標的を結合するＡＢ２の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、免疫エフェクター細胞係合抗体又はその抗原結合フラグメントは、第１免疫エフェクター細胞係合標的を結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、前記ＭＭ１のカップリングは、前記第１標的を結合するＡＢ１の能力を低め、そして標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングは、第２標的を結合するＡＢ２の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、免疫エフェクター細胞係合抗体又はその抗原結合フラグメントは、第１免疫エフェクター細胞係合標的を結合する、第１抗体又はその抗原フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的にＭＭ１のカップリングは、第１標的を結合するＡＢ１の能力を低め、そして前記標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２標的を結合する、第２抗体又は抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含み、ここで前記ＡＢ２は、マスキング成分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングは、第２標的を結合するＡＢ２の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、非免疫エフェクター細胞係合抗体は、癌標的化抗体である。いくつかの実施形態によれば、免疫エフェクター細胞係合抗体は、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態によれば、標的化抗体（例えば、非免疫細胞エフェクター抗体）は、ＩｇＧであり、そして免疫エフェクター細胞係合抗体はｓｃＦｖである。いくつかの実施形態によれば、免疫エフェクター細胞は白血球である。いくつかの実施形態によれば、免疫エフェクター細胞は、Ｔ細胞である。いくつかの実施形態によれば、免疫エフェクター細胞は、ＮＫ細胞である。いくつかの実施形態によれば、免疫エフェクター細胞は骨髄単核細胞である。

【０３９９】

いくつかの実施形態によれば、本開示のＴ－細胞係合多重特異的活性化可能抗体は、標的化抗体又はその抗原結合フラグメント、及びＴ－細胞係合抗体又はその抗原結合部分を含み、ここで標的化抗体又はその抗原結合フラグメント、及び/又はＴ－細胞係合抗体又はその抗原結合部分の少なくとも１つはマスキングされている。いくつかの実施形態によれば、Ｔ－細胞係合抗体又はその抗原結合フラグメントは、第１Ｔ－細胞係合標的を結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、前記ＭＭ１のカップリングは、前記第１標的を結合するＡＢ１の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングは、第２標的を結合するＡＢ２の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、Ｔ－細胞係合抗体又はその抗原結合フラグメントは、第１Ｔ－細胞係合標的を結合する、第１抗体又はその抗原フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的にＭＭ１のカップリングは、第１標的を結合するＡＢ１の能力を低め、そして前記標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２標的を結合する、第２抗体又は抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含み、ここで前記ＡＢ２は、マスキング成分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングは、第２標的を結合するＡＢ２の能力を低める。

【０４００】

いくつかの実施形態によれば、Ｔ－細胞係合多重特異的活性化可能抗体は、癌標的化抗体又はその抗原結合フラグメント、及びＴ－細胞係合抗体又はその抗原結合部分を含み、

ここで癌標的化抗体又はその抗原結合フラグメント、及び/又はＴ－細胞係合抗体又はその抗原結合部分の少なくとも１つはマスキングされている。いくつかの実施形態によれば、Ｔ－細胞係合抗体又はその抗原結合フラグメントは、第１Ｔ－細胞係合標的を結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、前記ＭＭ１のカップリングは、前記第１標的を結合するＡＢ１の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、癌標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングは、第２癌関連標的を結合するＡＢ２の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、Ｔ－細胞係合抗体又はその抗原結合フラグメントは、第１Ｔ－細胞係合標的を結合する、第１抗体又はその抗原フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的にＭＭ１のカップリングは、第１標的を結合するＡＢ１の能力を低め、そして前記癌標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２癌関連標的を結合する、第２抗体又は抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含み、ここで前記ＡＢ２は、マスキング成分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングは、第２癌関連標的を結合するＡＢ２の能力を低める。

【０４０１】

いくつかの実施形態によれば、Ｔ－細胞係合多重特異的活性化可能抗体は、癌標的化ＩｇＧ抗体又はその抗原結合フラグメント、及びＴ－細胞係合ｓｃＦｖを含み、ここで癌標的化ＩｇＧ抗体又はその抗原結合フラグメント、及び/又はＴ－細胞係合抗体又はその抗原結合部分の少なくとも１つはマスキングされている。いくつかの実施形態によれば、Ｔ－細胞係合抗体又はその抗原結合フラグメントは、第１Ｔ－細胞係合標的を結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、前記ＭＭ１のカップリングは、前記第１標的を結合するＡＢ１の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、癌標的化ＩｇＧ抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングは、第２癌関連標的を結合するＡＢ２の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、Ｔ－細胞係合抗体又はその抗原結合フラグメントは、第１Ｔ－細胞係合標的を結合する、第１抗体又はその抗原フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的にＭＭ１のカップリングは、第１標的を結合するＡＢ１の能力を低め、そして前記癌標的化ＩｇＧ抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２癌関連標的を結合する、第２抗体又は抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含み、ここで前記ＡＢ２は、マスキング成分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングは、第２癌関連標的を結合するＡＢ２の能力を低める。

【０４０２】

免疫エフェクター係合多重特異的活性化可能抗体のいくつかの実施形態によれば、１つの抗原は典型的には、腫瘍細胞、又は疾患に関連する他の細胞型の表面上に存在する抗原、例えば、表１に列挙されるに任意の標的、例えばＥＧＧＲ、ｅｒｂＢ２、ＥｐＣＡＭ、Ｊａｇｇｅｄ、ＰＤ－Ｌ１、Ｂ７Ｈ３又はＣＤ７１（トランスフェリン受容体）であるが、但しそれらだけには限定されず、そして別の抗原は典型的には、Ｔ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、骨髄単核細胞、マクロファージ、及び／又は他の免疫エフェクター細胞の表面上に存在する刺激又は阻害受容体、例えばＢ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ１６ａ、ＣＤ２５、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３２、ＣＤ５６、ＣＤ１３７、ＣＴＬＡ－４、ＧＩＴＲ、ＨＶＥＭ、ＩＣＯＳ、ＬＡＧ３、ＮＫＧ２Ｄ、ＯＸ４０、ＰＤ－１、ＴＩＧＩＴ、ＴＩＭ３、又は ＶＩＳＴＡであるが、但しそれらだけには限定されない。いくつかの実施形態によれば、抗原は、Ｔ細胞又はＮＫ細胞の表面上に存在する刺激受容体であり；そのような刺激受容体の例は、ＣＤ３、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ１３７（又は４－１ＢＢとしても言及される）、ＧＩＴＲ、ＨＶＥＭ、ＩＣＯＳ、ＮＫＧ２Ｄ、及び ＯＸ４０を包含するが、但しそれらだけには制限されない。いくつかの実

施形態によれば、抗原は、Ｔ－細胞の表面上に存在する阻害受容体であり；そのような阻害受容体の例は、ＢＴＬＡ、ＣＴＬＡ－４、ＬＡＧ３、ＰＤ－１、ＴＩＧＩＴ、ＴＩＭ３及びＮＫ－発現ＫＩＲを包含するが、但しそれらだけには限定されない。Ｔ－細胞表面抗原に対して特異性を与える抗体エフェクター細胞受容体、例えばＢ７－１、Ｂ７－２、Ｂ７Ｈ３、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２又はＴＮＦＳＦ９（但し、それらだけには限定されない）に結合する、リガンド又はリガンドドメインにより置換され得る。

【０４０３】

本開示の１つの実施形態は、癌微小環境において活性化でき、そして抗体、例えば腫瘍標的及びアゴニスト抗体に向けられるＩｇＧ又はｓｃＦｖ、例えば活性化されたＴ細胞又はＮＫ細胞の表面上で発現される共刺激受容体に向けられるＩｇＧ又はｓｃＦｖを含む多重特異的活性化可能抗体であり、ここで前記癌標的抗体及び／又はアゴニスト抗体の少なくとも１つはマスキングされている。共刺激受容体の例は、ＣＤ２７、ＣＤ１３７、ＧＩＴＲ、ＨＶＥＭ、ＮＫＧ２Ｄ及びＯＸ４０を包含するが、但しそれらだけには限定されない。この実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、腫瘍関連プロテーゼにより活性化されると、任意の腫瘍抗原に応答するＴ細胞の活性を、それらの内因性Ｔ細胞抗原又はＮＫ－活性化受容体を介して増強するために、腫瘍依存性態様でＴ細胞又はＮＫ細胞発現共刺激受容体を効果的に架橋し、そして活性化するであろう。それらのＴ細胞又はＮＫ細胞共刺激受容体の活性化－依存性質は、それらの抗原特異性に関係なく、すべてのＴ細胞を活性化しないで、腫瘍特異的Ｔ細胞に、活性化された多重特異的活性化可能抗体の活性の焦点を当てている。１つの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体の少なくとも共刺激受容体抗体、多重特異的活性化可能抗体において腫瘍標的指向抗体により認識される抗原をまた発現する組織に存在することができる自己反応性Ｔ細胞の活性化を防止するために、マスキングされているが、しかしそれらの活性は、共受容体の係合の欠如により制限されている。

【０４０４】

本開示の１つの実施形態は、Ｔ細胞過剰刺激により特徴づけられる疾患、例えば自己免疫疾患又は炎症性疾患の微小環境（但し、それらだけには限定されない）において活性化できる多重特異的活性化可能抗体である。そのような多重特異的活性化可能抗体は、抗体、例えば自己免疫炎症性疾患においてＴ細胞により標的化される組織において発現される表面抗原を含む標的に向けられたＩｇＧ又はｓｃＦｖ、及び抗体、例えばＴ細胞又はＮＫ細胞の表面上に発現される阻害受容体に向けられるＩｇＧ又はｓｃＦｖを含み、ここで疾患組織標的抗体及び／又はＴ細胞受容体抗体の少なくとも１つはマスキングされている。阻害受容体の例は、次のものを包含するが、但しそれらだけには限定されない：ＢＴＬＡ、ＣＴＬＡ－４、ＬＡＧ３、ＰＤ－１、ＴＩＧＩＴ、ＴＩＭ３及びＮＫ－発現ＫＩＲ。自己免疫疾患におけるＴ細胞により標的化される組織抗原の例は、次のものを包含するが、但しそれらだけには制限されない：多発生硬化症におけるミエリン又は神経細胞上に発現される表面抗原、又は１型糖尿病における膵島細胞上に発現される表面抗原。この実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、自己免疫攻撃又は炎症下で組織に局在化される場合、活性化され、そして任意の疾患組織組織－標的化抗原に応答する自己反応性Ｔ細胞の活性を抑制するために、Ｔ細胞又はＮＫ細胞阻害受容体を、それらの内因性ＴＣＲ又は活性化受容体を介して共同係合する。１つの実施形態によれば、少なくとも１つの又は複数の抗体が、標的抗原がまた発現され得る非疾患組織における所望のＴ細胞応答の抑制を防ぐために、マスキングされる。

【０４０５】

いくつかの実施形態によれば、Ｔ－細胞係合多重特異的活性化可能抗体は、抗－ＣＤ３イプシロン（ＣＤ３ε、またＣＤ３ｅ及びＣＤ３としても本明細書において言及される）ｓｃＦｖ及び標的化抗体又はその抗原結合フラグメントを含み、ここで抗－ＣＤ３εｓｃＦｖ及び／又は標的化抗体又はその抗原結合フラグメントの少なくとも１つはマスキングされている。いくつかの実施形態によれば、前記ＣＤ３ε　ｓｃＦｖは、ＣＤ３εを結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマ

スキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングは、ＣＤ３εを結合するＡＢ１の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、前記標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含む、第２抗体又はそのフラグメントを含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングが前記第２標的を結合するＡＢ２の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、前記ＣＤ３ε　ｓｃＦｖは、ＣＤ３εを結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングは、ＣＤ３εを結合するＡＢ１の能力を低め、そして前記標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含む、第２抗体又はそのフラグメントを含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングが前記第２標的を結合するＡＢ２の能力を低める。

【０４０６】

いくつかの実施形態によれば、Ｔ－細胞係合多重特異的活性化可能抗体は、抗－ＣＤ３ε　ｓｃＦｖ及び癌標的化抗体又はその抗原結合フラグメントを含み、ここで抗－ＣＤ３εｓｃＦｖ及び／又は癌標的化抗体又はその抗原結合フラグメントの少なくとも１つはマスキングされている。いくつかの実施形態によれば、前記ＣＤ３ε　ｓｃＦｖは、ＣＤ３εを結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングは、ＣＤ３εを結合するＡＢ１の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、前記癌標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２の癌関連標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含む、第２抗体又はそのフラグメントを含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングが前記第２癌関連標的を結合するＡＢ２の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、前記ＣＤ３ε　ｓｃＦｖは、ＣＤ３εを結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングは、ＣＤ３εを結合するＡＢ１の能力を低め、そして前記癌標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２癌関連標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含む、第２抗体又はそのフラグメントを含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングが前記第２癌関連標的を結合するＡＢ２の能力を低める。

【０４０７】

いくつかの実施形態によれば、Ｔ－細胞係合多重特異的活性化可能抗体は、抗－ＣＤ３ε　ｓｃＦｖ及び癌標的化ＩｇＧ抗体又はその抗原結合フラグメントを含み、ここで抗－ＣＤ３εｓｃＦｖ及び／又は癌標的化ＩｇＧ抗体又はその抗原結合フラグメントの少なくとも１つはマスキングされている。いくつかの実施形態によれば、前記ＣＤ３ε　ｓｃＦｖは、ＣＤ３εを結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングは、ＣＤ３εを結合するＡＢ１の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、前記癌標的化ＩｇＧ抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２の癌関連標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含む、第２抗体又はそのフラグメントを含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングが前記第２癌関連標的を結合するＡＢ２の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、前記ＣＤ３ε　ｓｃＦｖは、ＣＤ３εを結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングは、ＣＤ３εを結合するＡＢ１の能力を低め、そして前記癌標的化ＩｇＧ抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２癌関連標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含む、第２抗体又はそのフラグメントを含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、Ｍ

ＭＭ２のカップリングが前記第２癌関連標的を結合するＡＢ２の能力を低める。
【０４０８】
いくつかの実施形態によればＴ－細胞係合多重特異的活性化可能抗体は、ＯＫＴ３由来の抗－ＣＤ３イプシロン（ＣＤ３ε）ｓｃＦｖを含み、ここで標的抗体又はその抗原結合フラグメント及び／又はＯＫＴ３　ｓｃＦｖ又はＯＫＴ３－由来のｓｃＦｖの少なくとも１つがマスキングされている。いくつかの実施形態によれば、前記ＯＫＴ３　ｓｃＦｖ又はＯＫＴ３－由来のｓｃＦｖは、ＣＤ３εを結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングは、ＣＤ３εを結合するＡＢ１の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、前記標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含む、第２抗体又はそのフラグメントを含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングが前記第２標的を結合するＡＢ２の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、前記ＯＫＴ３　ｓｃＦｖ又はＯＫＴ３－由来のｓｃＦｖは、ＣＤ３εを結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングは、ＣＤ３εを結合するＡＢ１の能力を低め、そして前記標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含む、第２抗体又はそのフラグメントを含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングが前記第２標的を結合するＡＢ２の能力を低める。
【０４０９】
いくつかの実施形態によれば、Ｔ－細胞係合多重特異的活性化可能抗体は、ＯＫＴ３ｓｃＦｖ又はＯＫＴ３－由来のｓｃＦｖ及び癌標的化抗体又はその抗原結合フラグメントを含み、ここでＯＫＴ３　ｓｃＦｖ又はＯＫＴ３－由来のｓｃＦｖ及び／又は癌標的化抗体又はその抗原結合フラグメントの少なくとも１つはマスキングされている。いくつかの実施形態によれば、前記ＯＫＴ３　ｓｃＦｖ又はＯＫＴ３－由来のｓｃＦｖは、ＣＤ３εを結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングは、ＣＤ３εを結合するＡＢ１の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、前記癌標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２の癌関連標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含む、第２抗体又はそのフラグメントを含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングが前記第２癌関連標的を結合するＡＢ２の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、前記ＯＫＴ３　ｓｃＦｖ又はＯＫＴ３－由来のｓｃＦｖは、ＣＤ３εを結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングは、ＣＤ３εを結合するＡＢ１の能力を低め、そして前記癌標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２癌関連標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含む、第２抗体又はそのフラグメントを含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングが前記第２癌関連標的を結合するＡＢ２の能力を低める。
【０４１０】
いくつかの実施形態によれば、Ｔ－細胞係合多重特異的活性化可能抗体は、ＯＫＴ３ｓｃＦｖ又はＯＫＴ３－由来のｓｃＦｖ及び癌標的化ＩｇＧ抗体又はその抗原結合フラグメントを含み、ここでＯＫＴ３　ｓｃＦｖ又はＯＫＴ３－由来のｓｃＦｖ及び／又は癌標的化ＩｇＧ抗体又はその抗原結合フラグメントの少なくとも１つはマスキングされている。いくつかの実施形態によれば、前記ＯＫＴ３　ｓｃＦｖ又はＯＫＴ３－由来のｓｃＦｖは、ＣＤ３εを結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングは、ＣＤ３εを結合するＡＢ１の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、前記癌標的化ＩｇＧ抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２の癌関連標的を結合する、第２

抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含む、第２抗体又はそのフラグメントを含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングが前記第２癌関連標的を結合するＡＢ２の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、前記ＯＫＴ３　ｓｃＦｖ又はＯＫＴ３－由来のｓｃＦｖは、ＣＤ３εを結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングは、ＣＤ３εを結合するＡＢ１の能力を低め、そして前記癌標的化ＩｇＧ抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２癌関連標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含む、第２抗体又はそのフラグメントを含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングが前記第２癌関連標的を結合するＡＢ２の能力を低める。

【０４１１】

いくつかの実施形態によればＴ－細胞係合多重特異的活性化可能抗体は、抗－ＣＴＬＡ－４　ｓｃＦｖを含み、ここで標的抗体又はその抗原結合フラグメント及び／又は抗－ＣＴＬＡ－４　ｓｃＦｖの少なくとも１つがマスキングされている。いくつかの実施形態によれば、前記抗－ＣＴＬＡ－４　ｓｃＦｖは、ＣＴＬＡ－４を結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングは、ＣＴＬＡ－４を結合するＡＢ１の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、前記標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含む、第２抗体又はそのフラグメントを含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングが前記第２標的を結合するＡＢ２の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、前記抗－ＣＴＬＡ－４　ｓｃＦｖは、ＣＴＬＡ－４を結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングは、ＣＴＬＡ－４を結合するＡＢ１の能力を低め、そして前記標的化抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含む、第２抗体又はそのフラグメントを含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングが前記第２標的を結合するＡＢ２の能力を低める。

【０４１２】

いくつかの実施形態によれば、Ｔ－細胞係合多重特異的活性化可能抗体は、抗－ＣＴＬＡ－４　ｓｃＦｖ、及び標的化ＩｇＧ抗体又はその抗原結合フラグメントを含み、ここで抗－ＣＴＬＡ－４　ｓｃＦｖ及び／又は標的ＩｇＧ抗体又はその抗原結合部分の少なく１つはマスキングされている。いくつかの実施形態によれば、前記抗－ＣＴＬＡ－４　ｓｃＦｖは、ＣＴＬＡ－４を結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングは、ＣＴＬＡ－４を結合するＡＢ１の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、前記標的化ＩｇＧ抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含む、第２抗体又はそのフラグメントを含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングが前記第２標的を結合するＡＢ２の能力を低める。いくつかの実施形態によれば、前記抗－ＣＴＬＡ－４　ｓｃＦｖは、ＣＴＬＡ－４を結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここで前記ＡＢ１はマスキング部分（ＭＭ１）に結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングは、ＣＴＬＡ－４を結合するＡＢ１の能力を低め、そして前記標的化ＩｇＧ抗体又はその抗原結合フラグメントは、第２標的を結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を含む、第２抗体又はそのフラグメントを含み、ここで前記ＡＢ２はマスキング部分（ＭＭ２）に結合され、結果的に、ＭＭ２のカップリングが前記第２標的を結合するＡＢ２の能力を低める。

【０４１３】

いくつかの実施形態によれば、多重抗原標的化抗体及び／又は多重抗原標的化活性化可能抗体は、第１標的及び／又は第１エピトープを結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント、及び第２標的及び／又は第２エピトープを結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメントを少なくとも含む。いくつかの実施形態によれば、多重抗原標的化抗体及び／又は多重抗原標的化活性化可能抗体は、複数の異なった標的を結合する。いくつかの実施形態によれば、多重抗原標的化抗体及び／又は多重抗原標的化活性化可能抗体は、同じ標的上の複数の異なったエピトープを結合する。いくつかの実施形態によれば、多重抗原標的化抗体及び／又は多重抗原標的化活性化可能抗体は、複数の異なった標的及び同じ標的上の複数の異なったエピトープの組合せを結合する。

【０４１４】

いくつかの実施形態によれば、ＩｇＧを含む多重特異的活性化可能抗体は、マスキングされたＩｇＧ可能ドメインを有する。いくつかの実施形態によれば、ｓｃＦｖを含む多重特異的活性化可能抗体は、マスキングされたｓｃＦｖドメインを有する。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、ＩｇＧ可変ドメイン及びｓｃＦｖドメインの両者を有し、ここでＩｇＧ可変ドメインの少なくとも１つは、マスキングのブ部にカップリングされる。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、ＩｇＧ可変ドメイン及びｓｃＦｖドメインの両者を有し、ここでｓｃＦｖドメインの少なくとも１つはマスキング部分にカップリングされる。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、ＩｇＧ可変ドメイン及びｓｃＦｖドメインの両者を有し、ここでＩｇＧ可変ドメインの少なくとも１つは、マスキング部分にカップリングされ、そしてｓｃＦｖドメインの少なくとも１つはマスキング部分にカップリングされる。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、ＩｇＧ可変ドメイン及びｓｃＦｖドメインの両者を有し、ここでＩｇＧ可変ドメイン及びｓｃＦｖドメインの個々は、それ自体のマスキング部分にカップリングされる。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体の１つの抗体ドメインは、標的抗原に対する特異性を有し、そして別の抗体ドメインは、Ｔ－細胞表面抗原に対する特異性を有する。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体の１つの抗体ドメインは、標的抗原に対する特異性を有し、そして別の抗体ドメインは、別の標的抗原に対する特異性を有する。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体の１つの抗体ドメインは、標的抗原のエピトープに対する特異性を有し、そして別の抗体ドメインは、標的抗原の別のエピトープに対する特異性を有する。

【０４１５】

多重特異的活性化可能抗体においては、ｓｃＦｖは、ＩｇＧ活性可能抗体のＨ鎖のカルボキシル末端に、ＩｇＧ活性化可能抗体のＬ鎖のカルボキシル末端、又はＩｇＧ活性化可能抗体のＨ鎖及びＬ鎖の両鎖のカルボキシル末端に融合され得る。多重特異的活性化可能抗体においては、ｓｃＦｖは、ＩｇＧ活性化可能抗体のＨ鎖のアミノ末端に、ＩｇＧ活性化可能抗体のＬ鎖のアミノ末端に、又はＩｇＧ活性化可能抗体のＨ鎖及びＬ鎖の両鎖のアミノ末端に融合され得る。多重特異的活性化可能抗体においては、ｓｃＦｖは、ＩｇＧ活性可能性抗体の１又は２以上のカルボキシル末端及び１又は２以上のアミノ末端の何れかの組合せに融合され得る。いくつかの実施形態によれば、切断可能胃部分（ＣＭ）に連結されるマスキング部分（ＭＭ）は、ＩｇＧの抗原結合ドメインに結合され、そしてそのドメインをマスキングする。いくつかの実施形態によれば、切断可能部分（ＣＭ）に連結されるマスキング部分（ＭＭ）は、少なくとも１つのｓｃＦｖの抗原結合ドメインに結合され、そしてそのドメインをマスキングする。いくつかの実施形態によれば、切断可能部分（ＣＭ）に連結されるマスキング部分（ＭＭ）は、ＩｇＧの抗原結合ドメインに連結され、そしてそのドメインをマスキングし、そして切断可能部分（ＣＭ）に連結されるマスキング部分（ＭＭ）は、少なくとも１つのｓｃＦｖの抗原結合ドメインに結合され、そしてそのドメインをマスキングする。

【０４１６】

本開示は、以下のもの（但し、それらだけには限定されない）を含む多重特異的活性化

可能抗体構造の例を提供し：
（ＶＬ－ＣＬ）$_2$：（ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３－Ｌ４－ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*－Ｌ２－ＣＭ－Ｌ１－ＭＭ）$_2$；（ＶＬ－ＣＬ）$_2$:（ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３－Ｌ４－ＶＬ*－Ｌ３－ＶＨ*－Ｌ２－ＣＭ－Ｌ１－ＭＭ）$_2$；（ＭＭ－Ｌ１－ＣＭ－Ｌ２－ＶＬ－ＣＬ）$_2$:（ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３－Ｌ４－ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*）$_2$；（ＭＭ－Ｌ１－ＣＭ－Ｌ２－ＶＬ－ＣＬ）$_2$:（ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３－Ｌ４－ＶＬ*－Ｌ３－ＶＨ*）$_2$；（ＶＬ－ＣＬ）$_2$:（ＭＭ－Ｌ１－ＣＭ－Ｌ２－ＶＬ*－Ｌ３－ＶＨ*－Ｌ４－ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）$_2$；（ＶＬ－ＣＬ）$_2$:（ＭＭ－Ｌ１－ＣＭ－Ｌ２－ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*－Ｌ４－ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）$_2$；（ＭＭ－Ｌ１－ＣＭ－Ｌ２－ＶＬ－ＣＬ）$_2$:（ＶＬ*－Ｌ３－ＶＨ*－Ｌ４－ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）$_2$；（ＭＭ－Ｌ１－ＣＭ－Ｌ２－ＶＬ－ＣＬ）$_2$:（ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*－Ｌ４－ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）$_2$；（ＶＬ－ＣＬ－Ｌ４－ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*－Ｌ２－ＣＭ－Ｌ１－ＭＭ）$_2$:（ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）$_2$；（ＶＬ－ＣＬ－Ｌ４－ＶＬ*－Ｌ３－ＶＨ*－Ｌ２－ＣＭ－Ｌ１－ＭＭ）$_2$:(ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３)$_2$；（ＭＭ－Ｌ１－ＣＭ－Ｌ２－ＶＬ*－Ｌ３－ＶＨ*－Ｌ４－ＶＬ－ＣＬ）$_2$:（ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）$_2$；（ＭＭ－Ｌ１－ＣＭ－Ｌ２－ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*－Ｌ４－ＶＬ－ＣＬ）$_2$:（ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）$_2$；（ＶＬ－ＣＬ－Ｌ４－ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*－Ｌ２－ＣＭ－Ｌ１－ＭＭ）$_2$:（ＭＭ－Ｌ１－ＣＭ－Ｌ２－ＶＬ*－Ｌ３－ＶＨ*－Ｌ４－ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）$_2$；（ＶＬ－ＣＬ－Ｌ４－ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*－Ｌ２－ＣＭ－Ｌ１－ＭＭ）$_2$:（ＭＭ－Ｌ１－ＣＭ－Ｌ２－ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*－Ｌ４－ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）$_2$；（ＶＬ－ＣＬ－Ｌ４－ＶＬ*－Ｌ３－ＶＨ*－Ｌ２－ＣＭ－Ｌ１－ＭＭ）$_2$:（ＭＭ－Ｌ１－ＣＭ－Ｌ２－ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*－Ｌ４－ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）$_2$；（ＶＬ－ＣＬ－Ｌ４－ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*）$_2$:（ＭＭ－Ｌ１－ＣＭ－Ｌ２－ＶＬ*－Ｌ３－ＶＨ*－Ｌ４－ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）$_2$；（ＶＬ－ＣＬ－Ｌ４－ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*）$_2$:（ＭＭ－Ｌ１－ＣＭ－Ｌ２－ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*－Ｌ４－ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）２；（ＶＬ－ＣＬ－Ｌ４－ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*－Ｌ２－ＣＭ－Ｌ１－ＭＭ）$_2$:（ＶＬ*－Ｌ３－ＶＨ*－Ｌ４－ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）$_2$；（ＶＬ－ＣＬ－Ｌ４－ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*－Ｌ２－ＣＭ－Ｌ１－ＭＭ）$_2$:（ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*－Ｌ４－ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）$_2$；（ＶＬ－ＣＬ－Ｌ４－ＶＬ*－Ｌ３－ＶＨ*－Ｌ２－ＣＭ－Ｌ１－ＭＭ）$_2$:（ＶＬ*－Ｌ３－ＶＨ*－Ｌ４－ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）$_2$;又は（ＶＬ－ＣＬ－Ｌ４－ＶＬ*－Ｌ３－ＶＨ*－Ｌ２－ＣＭ－Ｌ１－ＭＭ）$_2$:（ＶＨ*－Ｌ３－ＶＬ*－Ｌ４－ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）$_2$、ここでＶＬ及びＶＨは、ＩｇＧに含まれる、第１特異性のＬ及びＨ可変ドメインを表し；ＶＬ*及びＶＨ*は、ｓｃＦｖに含まれる、第２特異性の可変ドメインを表し；Ｌ１は、マスキング部分（ＭＭ）及び切断可能部分（ＣＭ）を連結するリンカーペプチドであり；Ｌ２は、切断可能部分（ＣＭ）及び抗体を連結するリンカーペプチドであり；Ｌ３は、ｓｃＦｖの可変ドメインを連結するリンカーペプチドであり；Ｌ４は、第２特異性の抗体に、第１特異性の抗体を有するリンカーペプチドであり；ＣＬは、Ｌ鎖不変ドメインであり；そしてＣＨ１、ＣＨ２、ＣＨ３は、Ｈ鎖不変ドメインである。前記第１及び第２特異性は、何れかの抗原又はエピトープに対して存在することができる。

【０４１７】

Ｔ－細胞係合多重特異的活性化可能抗体のいくつかの実施形態によれば、１つの抗原は典型的には、腫瘍細胞又は疾患に関連する他の細胞型の表面上に存在する抗原、例えば表１に列挙される何れかの標的（但し、それらだけには限定されない）、例えばＥＧＦＲ、ｅｒｂＢ２、ＥｐＣＡＭ、Ｊａｇｇｅｄ、ＰＤ－Ｌ１、Ｂ７Ｈ３又はＣＤ７１（トラン

スフェリン受容体）（但し、それらだけには制限されない）であり、そして別の抗原は典型的には、Ｔ－細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、骨髄単核細胞、マクロファージ及び／又は他の免疫エフェクター細胞の表面上に存在する刺激（また、本明細書においては、活性化として言及される）又は阻害受容体、たとえばＢ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ１６ａ、ＣＤ２５、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３２、ＣＤ５６、ＣＤ１３７（または、TNFRSF9としても言及される）、ＣＴＬＡ－４、ＧＩＴＲ、ＨＶＥＭ、ＩＣＯＳ、ＬＡＧ３、ＮＫＧ２Ｄ、ＯＸ４０、ＰＤ－１、ＴＩＧＩＴ、ＴＩＭ３、又はＶＩＳＴＡ（但し、それらだけには制限されない）である。Ｔ－細胞表面抗原に対して特異性を提供する抗体ドメインはまた、Ｔ－細胞受容体、ＮＫ－細胞受容体、マクロファージ受容体及び／又は他の免疫エフェクター細胞受容体、例えばＢ７－１、Ｂ７－２、Ｂ７Ｈ３、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２又はＴＮＦＳＦ９（但し、それらだけには制限されない）に結合するリガンド又はリガンドドメインにより置換され得る。多重抗原標的化活性化可能抗原のいくつかの実施形態によれば、１つの抗原は、表１に列挙される標的群から選択され、そして別の抗原は、表１に列挙される標的群から選択される。

【０４１８】

いくつかの実施形態によれば、標的化抗体は、抗－ＥＧＦＲ抗体である。いくつかの実施形態によれば、標的化抗体は、ＥＧＦＲへの結合に対して特異的であるＣ２２５ｖ５である。いくつかの実施形態によれば、標的化抗体は、ＥＧＦＲへの結合に対して特異的であるＣ２２５である。いくつかの実施形態によれば、標的化抗体は、ＥＧＦＲへの結合に対して特異的であるＣ２２５ｖ４である。いくつかの実施形態によれば、標的化抗体は、ＥＧＦＲへの結合に対して特異的であるＣ２２５ｖ６である。いくつかの実施形態によれば、標的化抗体は、抗－Ｊａｇｇｅｄ抗体である。いくつかの実施形態によれば、標的化抗体は、ヒト及びマウスＪａｇｇｅｄ１及びＪａｇｇｅｄ２への結合に対して特異的である４Ｄ１１である。いくつかの実施形態によれば、標的化抗体は、ヒト及びマウスＪａｇｇｅｄ１及びＪａｇｇｅｄ２への結合に対して特異的である４Ｄ１１ｖ２である。

【０４１９】

いくつかの実施形態によれば、標的化抗体は、活性化可能抗体の形で存在することができる。いくつかの実施形態によれば、ｓｃＦｖは、プロ－ｓｃＦｖの形で存在することができる（例えば、国際公開第２００９／０２５８４６号、国際公開第２０１０／０８１１７３号を参照のこと）。

【０４２０】

いくつかの実施形態によれば、ｓｃＦｖは、ＣＤ３εの結合に対して特異的であり、そしてＣＤ３ε、例えばＣＨ２５２７、ＦＮ１８、Ｈ２Ｃ、ＯＫＴ３、２Ｃ１１、ＵＣＨＴ１又はＶ９を結合する、抗体又はそのフラグメントであるか、又はそれに由来する。いくつかの実施形態によれば、ｓｃＦｖは、ＣＴＬＡ－４（また、本明細書においては、ＣＴＬＡ及びＣＴＬＡ４としても言及される）の結合に対して特異的である。

【０４２１】

いくつかの実施形態によれば、抗－ＣＴＬＡ－４ ｓｃＦｖは、下記アミノ酸配列を含む：

ＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＳＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＥＩＶＬＴＱＳＰＧＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫＰＧＱＡＰＲＬＬＩＹＧＡＳＳＲＡＴＧＩＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＲＬＥＰＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＹＧＳＳＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫＲＳＧＧＳＴＩＴＳＹＮＶＹＹＴＫＬＳＳＳＧＴＱＶＱＬＶＱＴＧＧＧＷＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＳＴＦＳＳＹＡＭＳＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＳＡＩＳＧＳＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＴＮＳＬＹＷＹＦＤＬＷＧＲＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳ（配列番号５１０）

【０４２２】

いくつかの実施形態によれば、抗－ＣＴＬＡ－４ ｓｃＦｖは、配列番号５１０のアミノ酸配列に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又はそれ以上、同一であるアミノ酸配列を含む。

【０４２３】
いくつかの実施形態によれば、抗－ＣＤ３ε　ｓｃＦｖは、下記アミノ酸配列を含む：ＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＳＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＱＶＱＬＱＱＳＧＡＥＬＡＲＰＧＡＳＶＫＭＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＲＹＴＭＨＷＶＫＱＲＰＧＱＧＬＥＷＩＧＹＩＮＰＳＲＧＹＴＮＹＮＱＫＦＫＤＫＡＴＬＴＴＤＫＳＳＳＴＡＹＭＱＬＳＳＬＴＳＥＤＳＡＶＹＹＣＡＲＹＹＤＤＨＹＣＬＤＹＷＧＱＧＴＴＬＴＶＳＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＱＩＶＬＴＱＳＰＡＩＭＳＡＳＰＧＥＫＶＴＭＴＣＳＡＳＳＳＶＳＹＭＮＷＹＱＱＫＳＧＴＳＰＫＲＷＩＹＤＴＳＫＬＡＳＧＶＰＡＨＦＲＧＳＧＳＧＴＳＹＳＬＴＩＳＧＭＥＡＥＤＡＡＴＹＹＣＱＱＷＳＳＮＰＦＴＦＧＳＧＴＫＬＥＩＮＲ（配列番号５１１）

【０４２４】
いくつかの実施形態によれば、抗－ＣＤ３ε　ｓｃＦｖは、配列番号５１１のアミノ酸配列に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又はそれ以上、同一であるアミノ酸配列を含む。

【０４２５】
いくつかの実施形態によれば、ｓｃＦｖは、１又は２以上のＴ－細胞、１又は２以上のＮＫ細胞及び／又は１又は２以上のマクロファージを結合することに対して特異的である。いくつかの実施形態によれば、ｓｃＦｖは、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ１６ａ、ＣＤ２５、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３２、ＣＤ５６、ＣＤ１３７、ＣＴＬＡ－４、ＧＩＴＲ、ＨＶＥＭ、ＩＣＯＳ、ＬＡＧ３、ＮＫＧ２Ｄ、ＯＸ４０、ＰＤ－１、ＴＩＧＩＴ、ＴＩＭ３、又は ＶＩＳＴＡから成る群から選択された標的を結合することに対して特異的である。

【０４２６】
いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体はまた、ＡＢに接合される剤も含む。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、抗腫瘍である。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、トキシン又はそのフラグメントである。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、リンカーを介して多重特異的活性化可能抗体に接合される。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、切断可能リンカーを介してＡＢに接合される。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、少なくとも１つのＭＭＰ－切断可能基質配列を含むリンカーを介してＡＢに接合される。いくつかの実施形態によれば、前記リンカーは、非切断性リンカーである。いくつかの実施形態によれば、前記剤は微小管阻害剤である。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、核酸損傷剤、例えばＤＮＡアルキル化剤、又はＤＮＡインターカレーター、又は他のＤＮＡ損傷剤である。いくつかの実施形態によれば、前記リンカーは、切断可能リンカーである。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、表４に列挙される群から選択される剤である。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、トラスタチンである。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、アウリスタチン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、アウリスタチンＥ又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、モノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）である。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、モノメチルアウリスタチンＤ（ＭＭＡＤ）である。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、メイタンシノイド又はマイタンシノイド誘導体である。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、ＤＭ１又はＤＭ４である。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、デュオカルマイシン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、前記剤は、カリケアマイシン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば前記剤は、ピロロベンゾジアゼピンである。

【０４２７】
いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体はまた、検出可能部分も含むことができる。いくつかの実施形態によれば、前記検出可能部分は、診断剤である。

【０４２８】
いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、天然において、１又は２以上のジスルフィド結合を含む。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、１又は２以上のジスルフィド結合を含むよう操作され得る。

【０４２９】
本開示はまた、本明細書に記載される多重特異的活性化可能抗体をコードする単離核酸分子、及びそれらの単離核酸配列を含むベクターを提供する。本開示は、活性化可能抗体の発現を導く条件下で、そのような核酸分子を含む細胞を培養することによる、多重特異的抗体の生成方法を提供する。いくつかの実施形態によれば、前記細胞は、そのようなベクターを含む。
【０４３０】
本開示はまた、（ａ）多重特異的活性化可能抗体をコードする核酸コンストラクトを含む細胞を、多重特異的活性化可能抗体の発現を導く条件下で培養し、そして（ｂ）多重特異的活性化可能抗体を回収することによる、本開示の多重特異的活性化可能抗体の製造方法も提供する。
【０４３１】
本開示はまた、第１標的又は第１エピトープを特異的に結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）、及び第２標的又は第２エピトープを結合する、第２抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ２）を少なくとも含む多重特異的抗体及び/又は多重特異的活性化可能抗体組成物も提供し、ここで少なくともＡＢ１がマスキング部分（ＭＭ１）にカップリングされるか、又は他方では、結合され、結果的に、ＭＭ１のカップリングが、ＡＢ１のその標的を結合する能力を低める。いくつかの実施形態によれば、ＭＭ１は、プロテアーゼ、例えば対象における治療部位又は診断部位でＡＢ１の標的と共局在されるプロテアーゼのための基質を含む第１切断可能部分（ＣＭ１）配列を介してＡＢ１にカップリングされる。本明細書において提供される多重特異的活性化可能抗体は、循環において安定し、治療及び／又は診断の意図される部位で活性化されるが、しかし正常、すなわち健康組織において活性化されず、そして活性化される場合、その対応する修飾されていない多重特異的抗体に少なくとも匹敵するＡＢ１の標的への結合を示す。
【０４３２】
いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、ＭＭ１とＣＭ１との間に連結ペプチドを含む。
【０４３３】
いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、ＣＭ１とＡＢ１との間に連結ペプチドを含む。
【０４３４】
いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、第１連結ペプチド（ＬＰ１）及び第２連結ペプチド（ＬＰ２）を含み、そして多重特異的活性化可能抗体の少なくとも一部が、切断されていない状態で次のようなＮ－末端からＣ－末端への構造配置を有する：ＭＭ１－ＬＰ１－ＣＭ１－ＬＰ２－ＡＢ１ 又はＡＢ１－ＬＰ２－ＣＭ１－ＬＰ１－ＭＭ１。いくつかの実施形態によれば、前記２つの連結ペプチドはお互い同一である必要はない。
【０４３５】
いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、$(GS)_n$、$(GGS)_n$、$(GSGGS)_n$（配列番号１）及び$(GGGS)_n$（配列番号２）（ｎは少なくとも１つの整数である）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態によれば、ＬＰ１又はＬＰ２の少なくとも１つは、ＧＧＳＧ（配列番号３）、ＧＧＳＧＧ（配列番号４）、ＧＳＧＳＧ（配列番号５）、ＧＳＧＧＧ（配列番号６）、ＧＧＧＳＧ（配列番号７）、 及び ＧＳＳＳＧ（配列番号８）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。
【０４３６】
いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、第１標的又は第１エピトープを特異的に結合する、第１抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ１）、及び第２標的又は第２エピトープを特異的に結合する、第２抗体又はその抗体結合フラグメント（ＡＢ２）を少なくとも含む。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における各ＡＢは、モノクローナル抗体、ドメイン、抗体、一本鎖、Ｆａｂフラグメント、

Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメント、ｓｃＦｖ、ｓｃＡｂ，ｄＡｂ、単一ドメインＨ鎖抗体、及び単一ドメインＬ鎖抗体から成る群から独立して選択される。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における各ＡＢは、齧歯類（例えば、マウス又はラット）、キメラ性、ヒト化又は完全ヒトモノクローナル抗体である。

【０４３７】

いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における各ＡＢは、その対応する標的又はエピトープに結合するために、約１００ｎＭ又はそれ以下の平衡解離定数を有する。

【０４３８】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭ１は、ＡＢのその対応する標的又はエピトープへの結合のための平衡解離定数よりも高い、その対応するＡＢへの結合のための平衡解離定数を有する。

【０４３９】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭ１は、ＡＢのその対応する標的又はエピトープへの結合のための平衡解離定数に過ぎない、その対応するＡＢへの結合のための平衡解離定数を有する。

【０４４０】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭ１は、多重特異的活性化可能抗体が切断された状態で存在する場合、その対応する標的又はエピトープに結合するために、その対応するＡＢを阻止しないか、又はそれと競争しない。

【０４４１】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭ１は、約２－４０個の長さのアミノ酸のポリペプチドである。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における各ＭＭは、４０個以下の長さのアミノ酸のポリペプチドである。

【０４４２】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭ１は、その対応するＡＢの標的の配列とは異なるポリペプチド配列を有する。

【０４４３】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭ１は、その対応するＡＢの任意の天然結合パートナーに対して５０％以下、同一であるポリペプチド配列を有する。いくつかの実施形態によれば、ＭＭ１は、その対応するＡＢの任意の天然結合パートナーに対して２５％以下、同一であるポリペプチド配列を有する。いくつかの実施形態によれば、ＭＭ１は、その対応するＡＢの任意の天然結合パートナーに対して１０％以下、同一であるポリペプチド配列を有する。

【０４４４】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭ１のカップリングは、その対応するＡＢのその標的又はエピトープへの結合の能力を低め、結果的に、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭ１にカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭ１にカップリングされない場合のＡＢのK_dよりも少なくとも２０倍、高い。

【０４４５】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭ１のカップリングは、その対応するＡＢのその標的又はエピトープへの結合の能力を低め、結果的に、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭ１にカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭ１にカップリングされない場合のＡＢのK_dよりも少なくとも４０倍、高い。

【０４４６】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭ１のカップリングは、その対応するＡＢのその標的又はエピトープへの結合の能力を低め、結果的に、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭ１にカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、その対応する標的

又はエピトープに向かってＭＭ１にカップリングされない場合のＡＢのＫ$_d$よりも少なくとも１００倍、高い。

【０４４７】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭ１のカップリングは、その対応するＡＢのその標的又はエピトープへの結合の能力を低め、結果的に、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭ１にカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（Ｋ$_d$）は、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭ１にカップリングされない場合のＡＢのＫ$_d$よりも少なくとも１０００倍、高い。

【０４４８】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭ１のカップリングは、その対応するＡＢのその標的又はエピトープへの結合の能力を低め、結果的に、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭ１にカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（Ｋ$_d$）は、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭ１にカップリングされない場合のＡＢのＫ$_d$よりも少なくとも１０，０００倍、高い。

【０４４９】

いくつかの実施形態によれば、ＭＭ１は、本明細書に提供される実施例に示されるＭＭから選択されるアミノ酸配列である。

【０４５０】

いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、その多重特異的活性化可能抗体が切断されていない状態にある場合、ＡＢ２のその標的への結合を阻害する、第２マスキング部分（ＭＭ２）、及び第２プロテアーゼのための基質として機能する、ＡＢ２にカップリングされる第２切断可能部分（ＣＭ２）を少なくとも含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ２は、１５個以下の長さのアミノ酸のポリペプチドである。いくつかの実施形態によれば、前記第２プロテアーゼは、組織において第２標的又はエピトープと共局在化され、そして第２プロテアーゼは、多重特異的活性化可能抗体が第２プロテアーゼに暴露される場合、多重特異的活性化可能抗体におけるＣＭ２を切断する。いくつかの実施形態によれば、第１プロテアーゼ及び第２プロテアーゼは、組織において、第１標的又はエピトープ及び第２標的又はエピトープと共局在化される。いくつかの実施形態によれば、第１プロテアーゼ及び第２プロテアーゼは、同じプロテアーゼである。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１及びＣＭ２は、同じプロテアーゼのための異なった基質である。いくつかの実施形態によれば、プロテアーゼは、表７に示されるそれらから成る群から選択される。いくつかの実施形態によれば、第１プロテアーゼ及び第２プロテアーゼは、異なったプロテアーゼである。いくつかの実施形態によれば、第１プロテアーゼ及び第２プロテアーゼは、表７に示されるそれらから成る群から選択される異なったプロテアーゼである。

【０４５１】

いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における各ＭＭ、例えばＭＭ１及び少なくともＭＭ２は、ＡＢのその対応する標的又はエピトープに結合するための平衡解離定数よりも高い、その対応するＡＢに結合するための平衡解離定数を有する。

【０４５２】

いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における各ＭＭ、例えばＭＭ１及び少なくともＭＭ２は、ＡＢのその対応する標的又はエピトープに結合するための平衡解離定数以下である、その対応するＡＢに結合するための平衡解離定数を有する。

【０４５３】

いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における各ＭＭは、多重特異的活性化可能抗体が切断された状態にある場合、対応する標的又はエピトープに結合するためにその対応するＡＢを妨げないか、又はそれと競争しない。

【０４５４】

いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における各ＭＭは、約２－４０個の長さのアミノ酸のポリペプチドである。いくつかの実施形態によれば、多重特異的

活性化可能抗体における各ＭＭは４０個以下の長さのアミノ酸のポリペプチドである。
【０４５５】
いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における各ＭＭは、対応するＡＢの標的の配列とは異なるポリペプチド配列を有する。
【０４５６】
いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における各ＭＭは、その対応するＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して５０％同一に過ぎないポリペプチド配列を有する。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における各ＭＭは、その対応するＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して２５％同一に過ぎないポリペプチド配列を有する。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における各ＭＭは、その対応するＡＢの任意の天然の結合パートナーに対して１０％同一に過ぎないポリペプチド配列を有する。
【０４５７】
いくつかの実施形態によれば、各ＭＭのカップリングは、その対応するＡＢのその標的又はエピトープを結合する能力を低め、結果的に、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭにカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭにカップされない場合のＡＢのK_dよりも少なくとも２０倍、高い。
【０４５８】
いくつかの実施形態によれば、各ＭＭのカップリングは、その対応するＡＢのその標的又はエピトープを結合する能力を低め、結果的に、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭにカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭにカップされない場合のＡＢのK_dよりも少なくとも４０倍、高い。
【０４５９】
いくつかの実施形態によれば、各ＭＭのカップリングは、その対応するＡＢのその標的又はエピトープを結合する能力を低め、結果的に、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭにカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭにカップされない場合のＡＢのK_dよりも少なくとも１００倍、高い。
【０４６０】
いくつかの実施形態によれば、各ＭＭのカップリングは、その対応するＡＢのその標的又はエピトープを結合する能力を低め、結果的に、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭにカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭにカップされない場合のＡＢのK_dよりも少なくとも１０００倍、高い。
【０４６１】
いくつかの実施形態によれば、各ＭＭのカップリングは、その対応するＡＢのその標的又はエピトープを結合する能力を低め、結果的に、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭにカップリングされる場合、ＡＢの解離定数（K_d）は、その対応する標的又はエピトープに向かってＭＭにカップされない場合のＡＢのK_dよりも少なくとも１０，０００倍、高い。
【０４６２】
いくつかの実施形態によれば、各ＭＭは、本明細書に開示されるＭＭから選択されるアミノ酸配列である。
【０４６３】
いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１及び/又はＣＭ２の少なくとも１つは、少なくとも１つのＭＭＰプロテアーゼにより切断される。ＣＭ１及び/又はＣＭ２の少なくとも１つは、配列ＩＳＳＧＬＬＳＳ（配列番号１４）；ＱＮＱＡＬＲＭＡ（配列番号１５）；ＡＱＮＬＬＧＭＶ（配列番号１６）；ＳＴＦＰＦＧＭＦ（配列番号１７）；ＰＶＧＹＴＳＳＬ

(配列番号１８)；ＤＷＬＹＷＰＧＩ（配列番号１９)；ＭＩＡＰＶＡＹＲ（配列番号２０)；ＲＰＳＰＭＷＡＹ（配列番号２１)；ＷＡＴＰＲＰＭＲ（配列番号２２)；ＦＲＬＬＤＷＱＷ（配列番号２３)；ＬＫＡＡＰＲＷＡ（配列番号２４)；ＧＰＳＨＬＶＬＴ（配列番号２５)；ＬＰＧＧＬＳＰＷ（配列番号２６)；ＭＧＬＦＳＥＡＧ（配列番号２７)；ＳＰＬＰＬＲＶＰ（配列番号２８)；ＲＭＨＬＲＳＬＧ（配列番号２９)；ＬＡＡＰＬＧＬＬ（配列番号３０)；ＡＶＧＬＬＡＰＰ（配列番号３１)；ＬＬＡＰＳＨＲＡ（配列番号３２)；ＰＡＧＬＷＬＤＰ（配列番号３３)；及び/又はＩＳＳＧＬＳＳ（配列番号１５９)から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【０４６４】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１及び/又はＣＭ２の少なくとも１つは、配列番号３６４－３７０、３７９－３９３、４０２－４０９、４２０－４２４、４３４、４３５、４５０－４５２、４５７、４７０－４７２、４７４及び４８３から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【０４６５】

いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１及び/又はＣＭ２の少なくとも１つは、配列番号３２８，３３６－３３９及び３４８－３５１から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【０４６６】

いくつかの実施形態によれば、第１切断可能部分（ＣＭ１）配列を切断するプロテアーゼは、組織において多重特異的活性化可能抗体におけるＡＢ１の標的と共局在し、そしてプロテアーゼは、多重特異的活性化可能抗体がそのプロテアーゼに暴露される場合、多重特異的活性化可能抗体におけるＣＭ１を切断する。

【０４６７】

いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、複数の切断可能部分配列を含み、そして少なくとも１つの切断可能部分配列を切断するプロテアーゼは、組織において多重特異的活性化可能抗体におけるＡＢ領域の少なくとも１つの領域の標的と共局在され、そしてプロテアーゼは、多重特異的活性化可能抗体がプロテアーゼに暴露される場合、多重特異的活性化可能抗体におけるＣＭを切断する。

【０４６８】

いくつかの実施形態によれば、各ＣＭ、例えばＣＭ１及び少なくともＣＭ２は、多重特異的活性化可能抗体に位置し、結果的に、切断されていない状態下で、ＡＢ領域中の１つの領域の標的への多重特異的活性化可能抗体の結合が、その標的に結合する修飾されていないＡＢの平衡解離定数よりも少なくとも２倍、高い平衡解離定数を伴って生じるよう低められ、そしてところが、切断された状態下で、ＡＢはその標的を結合する。

【０４６９】

いくつかの実施形態によれば、各ＣＭ、例えばＣＭ１及び少なくともＣＭ２は、多重特異的活性化可能抗体に位置し、結果的に、切断されていない状態下で、ＡＢ領域中の１つの領域の標的への多重特異的活性化可能抗体の結合が、その標的に結合する修飾されていないＡＢの平衡解離定数よりも少なくとも３倍、高い平衡解離定数を伴って生じるよう低められ、そしてところが、切断された状態下で、ＡＢはその標的を結合する。

【０４７０】

いくつかの実施形態によれば、各ＣＭ、例えばＣＭ１及び少なくともＣＭ２は、多重特異的活性化可能抗体に位置し、結果的に、切断されていない状態下で、ＡＢ領域中の１つの領域の標的への多重特異的活性化可能抗体の結合が、その標的に結合する修飾されていないＡＢの平衡解離定数よりも少なくとも４倍、高い平衡解離定数を伴って生じるよう低められ、そしてところが、切断された状態下で、ＡＢはその標的を結合する。

【０４７１】

いくつかの実施形態によれば、各ＣＭ、例えばＣＭ１及び少なくともＣＭ２は、多重特異的活性化可能抗体に位置し、結果的に、切断されていない状態下で、ＡＢ領域中の１つの領域の標的への多重特異的活性化可能抗体の結合が、その標的に結合する修飾されてい

ないＡＢの平衡解離定数よりも少なくとも５倍、高い平衡解離定数を伴って生じるよう低められ、そしてところが、切断された状態下で、ＡＢはその標的を結合する。

【０４７２】

いくつかの実施形態によれば、各ＣＭ、例えばＣＭ１及び少なくともＣＭ２は、多重特異的活性化可能抗体に位置し、結果的に、切断されていない状態下で、ＡＢ領域中の１つの領域の標的への多重特異的活性化可能抗体の結合が、その標的に結合する修飾されていないＡＢの平衡解離定数よりも少なくとも１０倍、高い平衡解離定数を伴って生じるよう低められ、そしてところが、切断された状態下で、ＡＢはその標的を結合する。

【０４７３】

いくつかの実施形態によれば、各ＣＭ、例えばＣＭ１及び少なくともＣＭ２は、多重特異的活性化可能抗体に位置し、結果的に、切断されていない状態下で、ＡＢ領域中の１つの領域の標的への多重特異的活性化可能抗体の結合が、その標的に結合する修飾されていないＡＢの平衡解離定数よりも少なくとも２０倍、高い平衡解離定数を伴って生じるよう低められ、そしてところが、切断された状態下で、ＡＢはその標的を結合する。

【０４７４】

いくつかの実施形態によれば、各ＣＭ、例えばＣＭ１及び少なくともＣＭ２は、多重特異的活性化可能抗体に位置し、結果的に、切断されていない状態下で、ＡＢ領域中の１つの領域の標的への多重特異的活性化可能抗体の結合が、その標的に結合する修飾されていないＡＢの平衡解離定数よりも少なくとも４０倍、高い平衡解離定数を伴って生じるよう低められ、そしてところが、切断された状態下で、ＡＢはその標的を結合する。

【０４７５】

いくつかの実施形態によれば、各ＣＭ、例えばＣＭ１及び少なくともＣＭ２は、多重特異的活性化可能抗体に位置し、結果的に、切断されていない状態下で、ＡＢ領域中の１つの領域の標的への多重特異的活性化可能抗体の結合が、その標的に結合する修飾されていないＡＢの平衡解離定数よりも少なくとも５０倍、高い平衡解離定数を伴って生じるよう低められ、そしてところが、切断された状態下で、ＡＢはその標的を結合する。

【０４７６】

いくつかの実施形態によれば、各ＣＭ、例えばＣＭ１及び少なくともＣＭ２は、多重特異的活性化可能抗体に位置し、結果的に、切断されていない状態下で、ＡＢ領域中の１つの領域の標的への多重特異的活性化可能抗体の結合が、その標的に結合する修飾されていないＡＢの平衡解離定数よりも少なくとも１００倍、高い平衡解離定数を伴って生じるよう低められ、そしてところが、切断された状態下で、ＡＢはその標的を結合する。

【０４７７】

いくつかの実施形態によれば、各ＣＭ、例えばＣＭ１及び少なくともＣＭ２は、多重特異的活性化可能抗体に位置し、結果的に、切断されていない状態下で、ＡＢ領域中の１つの領域の標的への多重特異的活性化可能抗体の結合が、その標的に結合する修飾されていないＡＢの平衡解離定数よりも少なくとも２００倍、高い平衡解離定数を伴って生じるよう低められ、そしてところが、切断された状態下で、ＡＢはその標的を結合する。

【０４７８】

いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における各ＣＭは、１５個までの長さのアミノ酸のポリペプチドである。

【０４７９】

いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における少なくとも１つのＣＭは、配列番号１４－３３及び１５９化らなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、そして他のＣＭは、アミノ酸配列ＬＳＧＲＳＤＮＨ（配列番号２６）を含む。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における少なくとも１つのＣＭは、アミノ酸配列ＬＳＧＲＳＤＮＨ（配列番号２６）を含む。いくつかの実施形態によれば、少なくとも１つの切断可能部分が、特定のプロテアーゼ、例えば多重特異的活性化可能抗体の少なくとも１つの標的と共局在化されることが知られているプロテアーゼとの使用のために選択される。例えば、本開示の多重特異的活性化可能抗体に使用するための適切な切断可能

部分は、少なくともプロテアーゼ、例えばウロキナーゼ、レグマイン及び／又はマトリプターゼ（また、ＭＴ－ＳＰ１又はＭＴＳＳＰ１として本明細書において言及される）により切断される。いくつかの実施形態によれば、適切な切断可能部分は、次の配列の少なくとも１つを含む：ＴＧＲＧＰＳＷＶ（配列番号３４）；ＳＡＲＧＰＳＲＷ（配列番号３５）；ＴＡＲＧＰＳＦＫ（配列番号３６）；ＬＳＧＲＳＤＮＨ（配列番号３７）；ＧＧＷＨＴＧＲＮ（配列番号３８）；ＨＴＧＲＳＧＡＬ（配列番号３９）；ＰＬＴＧＲＳＧＧ（配列番号４０）；ＡＡＲＧＰＡＩＨ（配列番号４１）；ＲＧＰＡＦＮＰＭ（配列番号４２）；ＳＳＲＧＰＡＹＬ（配列番号４３）；ＲＧＰＡＴＰＩＭ（配列番号４４）；ＲＧＰＡ（配列番号４５）；ＧＧＱＰＳＧＭＷＧＷ（配列番号４６）；ＦＰＲＰＬＧＩＴＧＬ（配列番号４７）；ＶＨＭＰＬＧＦＬＧＰ（配列番号４８）；ＳＰＬＴＧＲＳＧ（配列番号４９）；ＳＡＧＦＳＬＰＡ（配列番号１２６）；ＬＡＰＬＧＬＱＲＲ（配列番号５０）；ＳＧＧＰＬＧＶＲ（配列番号５１）；及び/又は ＰＬＧＬ（配列番号５２）。

【０４８０】

いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における１つのＣＭは、少なくとも１つのＭＭＰプロテアーゼのための基質であり、そして、多重特異的活性化可能抗体における他のＣＭは、表７に示されるそれらから成る群から選択されるプロテアーゼのための基質である。いくつかの実施形態によれば、プロテアーゼは、ｕＰＡ、レグマイン、マトリプターゼ、ＡＤＡＭ１７、ＢＭＰ－１、ＴＭＰＲＳＳ３、ＴＭＰＲＳＳ４、好中球エラスターゼ、ＭＭＰ－７、ＭＭＰ－９、ＭＭＰ－１２、ＭＭＰ－１３及びＭＭＰ－１４から成る群から選択される。いくつかの実施形態によれば、プロテアーゼは、カテプシン、例えば、カテプシンＳであるが、但しそれだけには限定されない。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体における各ＣＭは、ｕＰＡ（ウロキナーゼプラスミノーゲン活性化因子）、レグマイン及びマトリプターゼから成る群から選択されるプロテアーゼのための基質である。いくつかの実施形態によれば、プロテアーゼは、ｕＰＡを包含する。いくつかの実施形態によれば、プロテアーゼはレグマインを包含する。いくつかの実施形態によれば、プロテアーゼは、マトリプターゼを包含する。いくつかの実施形態によれば、プロテアーゼは、マトリックスメタロプロテイナーゼ（ＭＭＰ）を包含する。

【０４８１】

いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体中の少なくとも１つのＣＭは、少なくとも２つのプロテアーゼのための基質である。いくつかの実施形態によれば、各プロテアーゼは、表７に示されるそれらからなる群から選択される。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体中の少なくとも１つのＣＭは、少なくとも２つのプロテアーゼのための基質であり、ここでプロテアーゼの１つは、ｕＰＡ、レグマイン及びマトリプターゼから成る群から選択され、そして他のプロテアーゼは、表７に示されるそれらから成る群から選択される。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体中の少なくとも１つのＣＭは、ｕＰＡ、レグマイン及びマトリプターゼから成る群から選択され少なくとも２種のプロテアーゼのための基質である。

【０４８２】

いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、第１ＣＭ（ＣＭ１）及び第２ＣＭ（ＣＭ２）を少なくとも含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１及びＣＭ２は、ＭＭをＡＢに連結する単一の切断可能リンカーの一部である。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１は、ＭＭ１をＡＢ１に連結する切断可能リンカーの一部であり、そしてＣＭ２は、ＭＭ２をＡＢ２に連結する別の切断可能リンカーの一部である。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、２以上のＣＭを含む。いくつかの実施形態によれば、そのような多重特異的活性化可能抗体は、２つ以上のＣＭ及び２つ以上のＭＭを含む。いくつかの実施形態によれば、ＣＭ１及びＣＭ２は、それぞれ、１５個以下の長さのアミノ酸のポリペプチドである。いくつかの実施形態によれば、第１ＣＭ及び第２ＣＭの少なくとも１つは、表７に列挙されるそれらから成る群から選択されるプロテアーゼのための基質として機能するポリペプチドである。いくつかの実施形態によれば、第１Ｃ

ＭＭ及び第２ＣＭの少なくとも１つは、ｕＰＡ、レグマイン及びマトリプターゼから成る群から選択されるプロテアーゼのための基質としても機能するポリペプチドである。いくつかの実施形態によれば、第１ＣＭは、標的組織において、ｕＰＡ、レグマイン及びマトリプターゼから成る群から選択される第１切断剤により切断され、そして第２ＣＭは、標的組織において、第２切断剤により切断される。いくつかの実施形態によれば、他のプロテアーゼは、表７に示されるそれらから成る群から選択される。いくつかの実施形態によれば、第１切断剤及び第２切断剤は、表７に列挙されるそれらから成る群から選択される同じプロテアーゼであり、そして第１ＣＭ及び第２ＣＭは、酵素のための異なった基質である。いくつかの実施形態によれば、第１切断剤及び第２切断剤は、ｕＰＡ、レグマイン及びマトリプターゼから成る群から選択される同じプロテアーゼであり、そして第１ＣＭ及び第２ＣＭは、酵素のための異なった基質である。いくつかの実施形態によれば、第１切断剤及び第２切断剤は、表７に列挙される群から選択される同じプロテアーゼであり、そして第１ＣＭ及び第２ＣＭは同じ基質である。いくつかの実施形態によれば、第１切断剤及び第２切断剤は、異なったプロテアーゼである。いくつかの実施形態によれば、第１切断剤及び第２切断剤は、表７に示されるそれらから成る群から選択される異なったプロテアーゼである。いくつかの実施形態によれば、第１切断剤及び第２切断剤は、標的組織において共局在される。いくつかの実施形態によれば、第１ＣＭ及び第２ＣＭは、標的組織において少なくとも１つの切断剤により切断される。

【０４８３】

いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、プロテアーゼに暴露され、そして切断され、結果的に、活性化されたか又は切断された状態下で、活性化された多重特異的活性化可能抗体は、プロテアーゼがＣＭを切断した後、ＬＰ２及び／又はＣＭ配列の少なくとも１部を含むＬ鎖アミノ酸配列を含む。

【０４８４】

本開示はまた、標的を特異的に結合する第１抗体又はフラグメント（ＡＢ１）、及び第２抗体又はフラグメント（ＡＢ２）を少なくとも含む多重特異的活性化可能抗体を包含する組成物及び方法も提供し、ここで少なくとも多重特異的活性化可能抗体における第１ＡＢは、ＡＢ１のその標的を結合する能力を低めるマスキング部分（ＭＭ１）にカップリングされている。いくつかの実施形態によれば、各ＡＢは、その対応するＡＢの各標的を結合する能力を低めるＭＭにカップリングされる。例えば多重特異的活性化可能抗体の実施形態によれば、ＡＢ１は、ＡＢ１のその標的を結合する能力を低める第１マスキング部分（ＭＭ１）にカップリングされ、そしてＡＢ２は、ＡＢ２のその標的を結合する能力を低める第２マスキング部分（ＭＭ２）にカップリングされる。いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、２つ以上のＡＢ領域を含み；そのような実施形態によれば、ＡＢ１は、ＡＢ１のその標的を結合する能力を低める第１マスキング部分（ＭＭ１）にカップリングされ、ＡＢ２は、ＡＢ２のその標的を結合する能力を低める第２マスキング部分（ＭＭ２）にカップリングされ、ＡＢ３は、ＡＢ３のその標的を結合する能力を低める第３マスキング部分（ＭＭ３）にカップリングされそして多重特異的活性化可能抗体における各ＡＢについても同様である。

【０４８５】

いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、プロテアーゼのための基質である少なくとも１つの切断可能部分（ＣＭ）をさらに含み、ここでＣＭはＭＭをＡＢに連結する。例えば、いくつかの実施形態によれば、多重特異的活性化可能抗体は、標的を特異的に結合する第１抗体又は抗体フラグメント（ＡＢ１）及び第２抗体又は抗体フラグメント（ＡＢ２）を少なくとも含み、多重特異的活性化可能抗体における少なくとも第１ＡＢは、ＡＢ１のその標的を結合する能力を低めるマスキング部分（ＭＭ１）に、切断可能部分（ＣＭ１）を介してカップリングされる。いくつかの多重特異的活性化可能抗体の実施形態によれば、ＡＢ１はＣＭ１を介してＭＭ１にカップリングされ、そしてＡＢ２は、ＡＢ２のその標的を結合する能力を低める第２マスキング部分（ＭＭ２）に、第２切断可能部分（ＣＭ２）を介してカップリングされる。いくつかの実施形態によれば、多重

特異的活性化可能抗体は、２以上のＡＢ領域を含み；それらの実施形態のいくつかによれば、ＡＢ１はＣＭ１を介してＭＭ１にカップリングされ、ＡＢ２はＣＭ２を介してＭＭ２にカップリングされ、そしてＡＢ３は第３切断可能部分（ＣＭ３）を介して、ＡＢ３のその標的を結合する能力を低める第３マスキング部分（ＭＭ３）にカップリングされ、そして多重特異的活性化可能抗体における各ＡＢについても同様である。

【０４８６】

非結合立体部分又は非結合立体部分のための結合パートナーを有する活性化可能抗体

本開示はまた、非結合立体部分（ＮＢ）、又は非結合立体部分のための結合パートナー（ＢＰ）を含む活性化可能抗体を提供し、ここでＢＰは、活性化可能抗体にＮＢをリクルートするか、又は他方では、引き付ける。本明細書に提供される活性化可能抗体は例えば、非結合立体部分（ＮＢ）、切断可能リンカー（ＣＬ）及び標的を結合する抗体又は抗体フラグメント（ＡＢ）を含む活性化可能抗体；非結合立体部分（ＢＰ）のための結合パートナー、ＣＬ及びＡＢ１を含む活性化可能抗体；及びＮＢがリクルートされているＢＰ、ＣＬ、及び標的を結合するＡＢを含む活性化可能抗体を包含する。ＮＢが活性化可能抗体のＣＬ及びＡＢに共有結合されているか、又は活性化可能抗体のＣＬ及びＡＢに共有結合されるＢＰとの相互作用により会合される活性化可能抗体は、「ＮＢ－含有活性化可能抗体」として、本明細書において言及される。活性化可能又はスイッチング可能とは、活性化可能抗体が、阻害された、マスキングされた、又は切断されていない状態下にある場合、標的への結合の第１レベル（第１コンホメーション）、及び阻害されていない、マスキングされていない、及び／又は切断された状態下にある場合、標的への結合の第２レベル（すなわち、第２コンホメーション）を示し、ここで標的結合の第２レベルは、結合の第１レベルよりも大きいことを意味する。活性化可能抗体組成物は、従来の抗体療法に比べて、高められた生物学的利用能及びより良好な生体分布を示すことができる。

【０４８７】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、ＡＢがマスキングされていないか、又は他方では、そのような部位への結合から阻害されていない場合、非治療部位及び／又は非診断部位の結合に起因する、低められた毒性及び／又は有害な副作用を提供する。

【０４８８】

１つの実施形態によれば、活性化可能抗体は、非結合立体部分（ＮＢ）；切断可能リンカー（ＣＬ）；及び標的に対して特異的に結合する少なくとも抗体又は抗体フラグメント（ＡＢ）を含み、ここでＮＢは、ＡＢに対して特異的に結合しないポリペプチドであり；ＣＬは、酵素のための基質（Ｓ）を含むポリペプチドであり；ＣＬは、切断されていない状態で、ＮＢがその標的へのＡＢの結合を妨害し、そして切断された状態で、ＮＢがＡＢのその標的への結合を妨害しないよう位置決定され；そしてＮＢは、酵素によるＣＬの切断を阻害しない。本明細書及びそれを通して使用される場合、用語、ポリペプチドとは、少なくとも２つのアミノ酸残基を含む任意のポリペプチド、例えばより大きなポリペプチド、完全長タンパク質及びそれらのフラグメントを意味し、そして用語、ポリペプチドとは、単鎖ポリペプチドに制限されず、そして複数ユニット、例えば多鎖ポリペプチドを包含することができる。ポリペプチドが短い長さのもの、例えば合計５０個以下のアミノ酸のものである場合、用語、ペプチド及びポリペプチドは、本明細書においては、交換可能的に使用され、そしてポリペプチドがより長いもの、例えば５０個又はそれ以上のアミノ酸のものである場合、用語、ポリペプチド及びタンパク質は、本明細書においては、交換可能的に使用される。

【０４８９】

１つの実施形態によれば、活性化可能抗体は、非結合立体部分（ＮＢ）；切断可能リンカー（ＣＬ）；及び標的に対して特異的に結合する少なくとも抗体又は抗体フラグメント（ＡＢ）を含み、ここで（ｉ）ＮＢは、ＡＢに対して特異的に結合しないポリペプチドであり；（ｉｉ）ＣＬは、酵素のための基質（Ｓ）を含む、５０個までの長さのアミノ酸のポリペプチドであり；（ｉｉｉ）ＣＬは、切断されていない状態で、ＮＢがその標的へのＡＢの結合を妨害し、そして切断された状態で、ＮＢがＡＢのその標的への結合を妨害しない

よう位置決定され；そして（iv）ＮＢは、酵素によるＣＬの切断を阻害しない。例えば、ＣＬは、次の長さのアミノ酸を有する：１５個までの長さのアミノ酸、２０個までの長さのアミノ酸、２５個までの長さのアミノ酸、３０個までの長さのアミノ酸、３５個までの長さのアミノ酸、４０個までの長さのアミノ酸、４５個までの長さのアミノ酸、５０個までの長さのアミノ酸、１０－５０の範囲の長さのアミノ酸、、２０－５０の範囲の長さのアミノ酸、、２５－５０の範囲の長さのアミノ酸、、３０－５０の範囲の長さのアミノ酸、、３５－５０の範囲の長さのアミノ酸、、４０－５０の範囲の長さのアミノ酸、、４５－５０の範囲の長さのアミノ酸、、１０－４０の範囲の長さのアミノ酸、１５－４０の範囲の長さのアミノ酸、２０－４０の範囲の長さのアミノ酸、２５－４０の範囲の長さのアミノ酸、３０－４０の範囲の長さのアミノ酸、３５－４０の範囲の長さのアミノ酸、１０－３０の範囲の長さのアミノ酸、１５－３０の範囲の長さのアミノ酸、２０－３０の範囲の長さのアミノ酸、２５－３０の範囲の長さのアミノ酸、１０－２０の範囲の長さのアミノ酸、又は１０－１５の範囲の長さのアミノ酸。

【０４９０】

１つの実施形態によれば、活性化可能抗体は、非結合立体部分（ＮＢ）；切断可能リンカー（ＣＬ）；及び標的に対して特異的に結合する抗体又は抗体フラグメント（ＡＢ）を含み、ここで（i）ＮＢは、ＡＢに対して特異的に結合しないポリペプチドであり；（ii）ＣＬは、酵素のための基質（Ｓ）を含むポリペプチドであり；（iii）ＣＬは、切断されていない状態で、ＮＢがその標的へのＡＢの結合を妨害し、そして切断された状態で、ＮＢがＡＢのその標的への結合を妨害しないよう位置決定され；（iv）ＮＢは、酵素によるＣＬの切断を阻害せず；そして（ｖ）多重特異的活性化可能抗体の少なくとも一部が、切断されていない状態で、次の通りのＮ－末端からＣ－末端側に構造配置を有する：ＮＢ－ＣＬ－ＡＢ又はＡＢ－ＣＬ－ＮＢ。

【０４９１】

１つの実施形態によれば、活性化可能抗体は、非結合立体部分（ＮＢ）；切断可能リンカー（ＣＬ）；及び標的に対して特異的に結合する抗体又は抗体フラグメント（ＡＢ）を含み、ここで（i）ＮＢは、ＡＢに対して特異的に結合しないポリペプチドであり；（ii）ＣＬは、酵素のための基質（Ｓ）を含むポリペプチドであり；（iii）ＣＬは、切断されていない状態で、ＮＢがその標的へのＡＢの結合を妨害し、そして切断された状態で、ＮＢがＡＢのその標的への結合を妨害しないよう位置決定され；そして切断されていない活性化可能抗体におけるＮＢが、切断されたＡＢのその標的を結合する能力に比べて、ＡＢのその標的を結合する能力を、少なくとも５０％、例えば少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、少なくとも１００％、、低め；そして（iv）ＮＢは、酵素によるＣＬの切断を阻害しない。ＡＢのその標的を結合する能力の低下は、例えば、本明細書に記載されるようなアッセイ、又はインビトロ標的置換アッセイ、例えば国際公開第２００９／０２５８４６号及び第２０１０／０８１１７３号に記載されるアッセイを用いて、決定される。

【０４９２】

１つの実施形態によれば、活性化可能抗体は、非結合立体部分（ＮＢ）のための結合パートナー（ＢＰ）；切断可能リンカー（ＣＬ）；及び標的に対して特異的に結合する抗体又は抗体フラグメント（ＡＢ１）を含み、ここでＢＰは、ＮＢに暴露される場合、そのＮＢに結合するポリペプチドであり；ＮＢは、ＡＢに対して特異的に結合しないポリペプチドであり；ＣＬは、酵素のための基質（Ｓ）を含むポリペプチドであり；ＣＬは、ＮＢの存在下で、切断されていない状態で、ＮＢがその標的へのＡＢ１の結合を妨害し、そして切断された状態で、ＮＢがＡＢ１のその標的への結合を妨害せず、そしてＢＰがＡＢの標的への結合を妨害しないよう位置決定され；そしてＮＢ及びＢＰは、酵素によるＣＬの切断を阻害しない。この実施形態のいくつかの例によれば、活性化可能抗体のＢＰは、任意には、ＮＢに結合される。１つの実施形態によれば、ＮＢは、インビボで、活性化可能抗

体のＢＰによりリクルートされる。

【０４９３】

それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、活性化可能抗体は、組成物として製剤化される。それらの実施形態のいくつかによれば、組成物はまた、ＮＢも含み、ここでＮＢは、ＢＰ、ＣＬ及びＡＢを含む活性化可能抗体と同時製剤化される。この実施形態のいくつかの例によれば、ＢＰは、アルブミン結合ペプチド、フィブリノーゲン結合ペプチド、フィブロネクチン結合ペプチド、ヘモグロビン結合ペプチド、トランスフェリン結合ペプチド、免疫グロブリンドメイン結合ペプチド及び他の血清タンパク質結合ペプチドから成る群から選択される。

【０４９４】

それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、ＮＢは可溶性球状タンパク質である。それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、ＮＢは血流において循環するタンパク質である。それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、ＮＢは、アルブミン、フィブリノーゲン、フィブロネクチン、ヘモグロビン、トランスフェリン、免疫グロブリンドメイン及び他の血清タンパク質から成る群から選択される。

【０４９５】

それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、ＣＬは、プロテマーゼのための基質を含むポリペプチドである。それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、プロテアーゼは、組織において、その標的と共局在され、そしてプロテアーゼは、活性化可能抗体がプロテアーゼに暴露される場合、活性化可能抗体におけるＣＬを切断する。それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、ＣＬは、５０個までの長さのアミノ酸のポリペプチドである。それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、ＣＬは、１５個までの長さのアミノ酸、例えば３個の長さのアミノ酸、４個の長さのアミノ酸、５個の長さのアミノ酸、６個の長さのアミノ酸、７個の長さのアミノ酸、８個の長さのアミノ酸、９個の長さのアミノ酸、１０個の長さのアミノ酸、１１個の長さのアミノ酸、１２個の長さのアミノ酸、１３個の長さのアミノ酸、１４個の長さのアミノ酸、又は１５個の長さのアミノ酸を有する基質（Ｓ）を含むポリペプチドである。

【０４９６】

それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、活性化可能抗体は、切断されていない状態で次の通りのＮ－末端からＣ－末端側に構造配置を有する：ＮＢ－ＣＬ－ＡＢ、ＡＢ－ＣＬ－ＮＢ、ＢＰ－ＣＬ－ＡＢ又はＡＢ－ＣＬ－ＢＰ。活性化可能抗体がＢＰを含み、そして活性化可能抗体がその対応するＮＢの存在下にある実施形態によれば、活性化可能抗体は、切断されていない状態で次の通りのＮ－末端からＣ－末端側に構造配置を有する：ＮＢ：ＢＰ－ＣＭ－ＡＢ又は ＡＢ－ＣＭ－ＢＰ：ＮＢ、ここで「：」は、ＮＢとＢＰとの間の相互作用、例えば結合を表す。

【０４９７】

それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、活性化可能抗体は、所定の標的を特異的に結合し、そしてモノクローナル抗体、ドメイン抗体、単鎖、Ｆａｂフラグメント、Ｆ（ａｂ′）$_2$フラグメント、ｓｃＦｖ、ｓｃａｂ、ｄＡｂ、単一のドメインＨ鎖抗体、及び単一のドメインＬ鎖抗体である、抗体又はその抗原結合抗体を包含する。いくつかの実施形態によれば、その標的を結合する、そのような抗体又はその免疫学的活性フラグメントは、マウス、他のゲッシ動物、キメラ、ヒト化、又は完全ヒトモノクローナル抗体である。

【０４９８】

それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、活性化可能抗体は、本明細書に提供されるアミノ酸配列を含む可変Ｈ鎖領域及び本明細書に提供されるアミノ酸配列を含む可変Ｌ鎖領域の組合せを含む。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、本明細書に提供されるアミノ酸配列に対して、少なくとも９０％、９１％、９２

％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又はそれ以上、同一であるアミノ酸配列を含む可変Ｈ鎖領域及び本明細書に提供されるアミノ酸配列に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又はそれ以上、同一であるアミノ酸配列を含む可変Ｌ鎖領域の組合せを含む。

【０４９９】

それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、活性化可能抗体はまた、ＡＢに接合される剤も含む。いくつかの実施形態によれば、剤は治療剤である。いくつかの実施形態によれば、剤は抗腫瘍剤である。いくつかの実施形態によれば、剤は毒素又はそのフラグメントである。いくつかの実施形態によれば、剤は、リンカーを介してＡＢに接合される。いくつかの実施形態によれば、リンカーは切断可能リンカーである。いくつかの実施形態によれば、剤は、非切断可能リンカーを介してＡＢに接合される。いくつかの実施形態によれば、剤は、表３に列挙される群から選択された剤である。いくつかの実施形態によれば、剤は、微小管阻害剤である。いくつかの実施形態によれば、剤は、核酸損傷剤、例えばＤＮＡアルキル化剤又はインターカレーター、又は他のＤＮＡ損傷剤である。いくつかの実施形態によれば、剤はドラスタチンである。いくつかの実施形態によれば、剤はアウリスタチン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤は、アウリスタチンＥ又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤は、モノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）である。いくつかの実施形態によれば、剤は、モノメチルアウリスタチンＤ（ＭＭＡＤ）である。いくつかの実施形態によれば、剤は、メイタンシノイド又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤はＤＭ１又はＤＭ４である。いくつかの実施形態によれば、剤はデュオカルマイシン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤はカリケアマイシン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば剤はピロロベンゾジアゼピンである。

【０５００】

それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、活性化可能抗体はまた、検出可能部分も含む。いくつかの実施形態によれば、検出可能部分は、診断剤である。

【０５０１】

それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、活性化可能抗体はまた、スペーサーも含む。それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、活性化可能抗体はまた、シグナルペプチドも含む。いくつかの実施形態によれば、シグナルペプチドは、スペーサーを介して活性化可能抗体に接合される。それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、スペーサーは、活性化可能抗体のＭＭに直接、結合される。

【０５０２】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、その対応する抗体の半減期よりも長く；例えば、活性化可能抗体のｐＫは、その対応する抗体のｐＫよりも長い。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、その対応する多抗体の半減期に類似する。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１５日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１２日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１１日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも９日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも８日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも７日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも６日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも５日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗

体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも４日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも３日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも２日である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも２４時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも２０時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１８時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１６時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１４時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１２時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも１０時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも８時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも７時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも６時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも４時間である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体の血清半減期は、生物に投与される場合、少なくとも３時間である。

【０５０３】

本開示はまた、それらの活性化可能抗体の何れかをコードする単離された核酸分子、及びそれらの単離された核酸配列を含むベクターも提供する。本開示は、活性化可能抗体の発現を導く条件下で、そのような核酸配列を含む細胞を培養することによる、活性化可能抗体の生成方法を提供する。いくつかの実施形態によれば、前記細胞は、そのようなベクターを含む。

【０５０４】

標的に対するＮＢ－含有活性化可能抗体の解離例数（Ｋｄ）は、ＡＢがＮＢ又はＮＢ：ＢＰと関連しない場合、標的に対するＡＢのＫｄよりも高い。標的に対するＮＢ－含有活性化可能抗体の解離定数は、標的に対する親ＡＢのＫｄよりも高い。例えば、標的に対するＮＢ－含有活性化可能抗体のＫｄは、ＡＢがＮＢ又はＮＢ：ＢＰに関連しない場合、ＡＢのＫｄ、又は標的に対する親ＡＢのＫｄよりも、少なくとも１０、２０、２５、４０、５０、１００、２５０、５００、１，０００、２，５００、５，０００、１０，０００、５０，０００、１００，０００、５００，０００、１，０００，０００、５，０００，０００、１０，０００，０００、５０，０００，０００ 又はそれ以上，又は５－１０、１０－１００、１０－１，０００、１０－１０，０００、１０－１００，０００、１０－１，０００，０００、１０－１０，０００，０００、１００－１，０００、１００－１０，０００、１００－１００，０００、１００－１，０００，０００、１００－１０，０００，０００、１，０００－１０，０００、１，０００－１００，０００、１，０００－１，０００，０００、１０００－１０，０００，０００、１０，０００－１００，０００、１０，０００－１，０００，０００、１０，０００－１０，０００，０００、１００，０００－１，０００，０００又は１００，０００－１０，０００，０００倍、高い。逆に、標的に対するＮＢ－含有活性化可能抗体の結合親和性は、ＡＢがＮＢ又はＮＢ：ＢＰと関連しない場合、ＡＢの結合親和性よりも低く、又は標的に対する親ＡＢの結合親和性よりも低い。例えば、標的に対するＮＢ－含有活性化可能抗体の結合親和性は、ＡＢがＮＢ又はＮＢ：ＢＰに関連しない場合、ＡＢの結合親和性、又は標的に対する親ＡＢの結合親和性よりも、少なくとも１０、２０、２５、４０、５０、１００、２５０、５００、１，０００、２，５００、５，０００、１０，０００、５０，０００、１００，０００、５００，０００、１，０００，０００、５，０００，０００、１０，０００，０００、５０，０００，０００ 又はそれ以上，又は ５－１

０、１０－１００、１０－１，０００、１０－１０，０００、１０－１００，０００、１０－１，０００，０００、１０－１０，０００，０００、１００－１，０００、１００－１０，０００、１００－１００，０００、１００－１，０００，０００、１００－１０，０００，０００、１，０００－１０，０００、１，０００－１００，０００、１，０００－１，０００，０００、１０００－１０，０００，０００、１０，０００－１００，０００、１０，０００－１，０００，０００、１０，０００－１０，０００，０００、１００，０００－１，０００，０００又は１００，０００－１０，０００，０００倍、低い。

【０５０５】

ＮＢ－含有活性化可能抗体が、その標的の存在下にある場合、ＡＢのその標的に対する特異的結合は、ＡＢがＮＢ又はＮＢ：ＢＰに関連しない場合、ＡＢの特異的結合に比べて、低められるか、又は阻害される。ＮＢ－含有活性化可能抗体が、その標的の存在下にある場合、ＡＢのその標的に対する特異的結合は、親ＡＢのその標的への特異的結合に比べて、低められるか、又は阻害される。ＮＢ又はＮＢ：ＢＰに関連しないＡＢの結合、又は親ＡＢのその標的への結合に比較される場合、その標的を結合するＮＢ－含有活性化可能抗体の能力は、例えばインビトロ及び／又はインビボで測定される場合、その標的を結合するＮＢ－含有活性化可能抗体の能力は、インビボ又はインビトロアッセイで測定される場合、少なくとも２、４、６、８、１２、２８、２４、３０、３６、４８、６０、７２、８４又は９６時間、又は５、１０、１５、３０、４５、６０、９０、１２０、１５０又は１８０日、又は１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、又は１２か月又はそれ以上で、少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％及びさらに１００％、低められ得る。

【０５０６】

ＮＢ－含有活性化可能抗体が、その標的の存在下にあるが、しかし修飾剤（例えば、プロテアーゼ又は他の酵素）の存在下ではない場合、ＡＢのその標的に対する特異的結合は、ＡＢがＮＢ又はＮＢ：ＢＰに関連しない場合、ＡＢの特異的結合に比べて、低められるか、又は阻害される。ＮＢ－含有活性化可能抗体が、その標的の存在下にあるが、しかし修飾剤（例えば、プロテアーゼ、他の酵素、還元剤又は光）の存在下ではない場合、ＡＢのその標的に対する特異的結合は、親ＡＢのその標的への特異的結合に比べて、低められるか、又は阻害される。ＮＢ又はＮＢ：ＢＰに関連しないＡＢの結合、又は親ＡＢのその標的への結合に比較される場合、その標的を結合するＮＢ－含有活性化可能抗体の能力は、例えばインビトロ及び／又はインビボで測定される場合、その標的を結合するＮＢ－含有活性化可能抗体の能力は、インビボ又はインビトロアッセイで測定される場合、少なくとも２、４、６、８、１２、２８、２４、３０、３６、４８、６０、７２、８４又は９６時間、又は５、１０、１５、３０、４５、６０、９０、１２０、１５０又は１８０日、又は１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、又は１２か月又はそれ以上で、少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％及びさらに１００％、低められ得る。

【０５０７】

それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、活性化可能抗体はまた、活性化可能抗体接合体を生成するために、ＡＢに接合される剤も含む。活性化可能抗体接合体のいくつかの実施形態によれば、剤は治療剤である。いくつかの実施形態によれば、剤は診断剤である。いくつかの実施形態によれば、剤は検出可能マーカーである。活性化可能抗体接合体のいくつかの実施形態によれば、剤は抗腫瘍剤である。活性化可能抗体接合体のいくつかの実施形態によれば、剤は毒素又はそのフラグメントである。活性化可能抗体接合体のいくつかの実施形態によれば、剤は、リンカーを介してＡＢに接合される。活性化可能抗体接合体のいくつかの実施形態によれば、リンカーは切断可能リンカーである。いくつかの実施形態によれば、剤は、非切断可能リンカーを介してＡＢに接合

される。いくつかの実施形態によれば、剤は、微小管阻害剤である。いくつかの実施形態によれば、剤は、核酸損傷剤、例えばＤＮＡアルキル化剤又はインターカレーター、又は他のＤＮＡ損傷剤である。いくつかの実施形態によれば、剤は、表３に列挙される群から選択された剤である。いくつかの実施形態によれば、剤はドラスタチンである。いくつかの実施形態によれば、剤はアウリスタチン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤は、アウリスタチンＥ又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤は、モノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）である。いくつかの実施形態によれば、剤は、モノメチルアウリスタチンＤ（ＭＭＡＤ）である。いくつかの実施形態によれば、剤は、メイタンシノイド又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤はＤＭ１又はＤＭ４である。いくつかの実施形態によれば、剤はデュオカルマイシン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば、剤はカリケアマイシン又はその誘導体である。いくつかの実施形態によれば剤はピロロベンゾジアゼピンである。

【０５０８】

それらの活性化可能抗体実施形態の何れかのいくつかの例によれば、活性化可能抗体は、二重－標的結合活性化可能抗体である。そのような二重標的結合活性化可能抗体は、同じが又は異なった標的結合できる２個のＡｂを含む。特定の実施形態によれば、二重－標的化活性化可能抗体は、二重特特異的抗体又はそのフラグメントを含む。

【０５０９】

二重標的結合活性化可能抗体は、活性化可能抗体のＡＢに結合できる１つ又は両標的と共に標的組織において共局在される切断剤により切断できるＣＬを有するよう企画される。同じが又は異なった標的に対する複数のＡＢを有する二重標的結合活性化可能抗体は、複数のＣＬを有するよう企画され得、ここで第１ＣＬは第１標的組織において切断剤により切断でき、そして第２ＣＬは、第２標的組織において切断剤により切断でき、そして１又は２以上の標的が活性化可能抗体のＡＢに結合する。１つの実施形態によれば、第１及び第２標的組織は、例えば、生物における異なった部位で、空間的に分離されている。１つの実施形態によれば、第１及び第２標的組織は、一時的に分離された同じ組織であり、例えば２種の異なった時点で同じ組織であり、例えば第１時点は、組織が初期段階の腫瘍である場合であり、そして第２時点は、組織が後期段階の腫瘍である場合である。

【０５１０】

本開示はまた、本明細書に記載される活性化可能抗体をコードする核酸分子を提供する。本開示はまた、それらの核酸を含むベクターも提供する。本明細書に記載される活性化可能抗体は、活性化可能抗体の発現を導く条件下で、それらの核酸分子又はベクターを含む細胞を培養することにより生成され得る。

【０５１１】

本開示はまた、活性化可能抗体の製造方法も提供する。１つの実施形態によれば、前記方法は、（ａ）活性化可能抗体の発現を導く条件下で、活性化可能抗体をコードする核酸コンストラクトを含む細胞を培養し、ここで活性化可能抗体は、（ｉ）非結合立体部分（ＮＢ）；（ii）切断可能リンカー（ＣＬ）；及び（iii）標的を特異的に結合する抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ）を含み、ここで（１）ＮＢはＡＢに対して特異的に結合せず；（２）ＣＬは、酵素のための基質（Ｓ）を含むポリペプチドであり；（３）ＣＬは、切断されていない状態で、ＮＢがＡＢの標的への結合を妨害し、そして切断された状態で、ＮＢがＡＢの標的への結合を妨害しないよう、位置決定され；そして（４）ＮＢが酵素によるＣＬの切断を阻害しない；そして（ｂ）活性化可能抗体を回収する段階を包含する。

【０５１２】

別の実施形態によれば、前記方法は、（ａ）活性化可能抗体の発現を導く条件下で、活性化可能抗体をコードする核酸コンストラクトを含む細胞を培養し、ここで活性化可能抗体は、（ｉ）非結合立体部分（ＮＢ）のための結合パートナー（ＢＰ）；（ii）切断可能リンカー（ＣＬ）；及び（iii）標的を特異的に結合する抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ）を含み、ここで（１）ＮＢはＡＢに対して特異的に結合せず；（２）ＣＬは

、酵素のための基質（Ｓ）を含むポリペプチドであり；（３）ＣＬは、切断されていない状態で、及びＮＢの存在下で、ＮＢがＡＢの標的への結合を妨害し、そして切断された状態で、ＮＢがＡＢの標的への結合を妨害せず、そしてＢＰがＡＢの標的への結合を妨害しないよう、位置決定され；そして（４）ＮＢが酵素によるＣＬの切断を阻害しない；そして（ｂ）活性化可能抗体を回収する段階を包含する。この実施形態のいくつかの例によれば、活性化可能抗体のＢＰは、ＮＢに結合される。

【０５１３】

活性化可能抗体及び接合された活性化可能抗体の使用

本開示に従っての治療実態の投与が、改善された伝達、送達、耐性及び同様のものを提供するために製剤中に組込まれる、適切な担体、賦形剤及び他の剤と共に投与されるであろうことは理解されるであろう。多数の適切な製剤は、全ての薬剤師に知られている処方に見出される得る：Blaug, Seymour による、Remington’s Pharmaceutical Sciences (15th ed, Mack Publishing Company, Easton, PA (1975)), 特に 、Chapter 87。それらの製剤は例えば、粉末、ペースト、軟膏、ジェリー、ワックス、オイル、脂質、脂質（カチオン又はアニオン性）含有小胞（例えば、リポフェクチン（登録商標））、ＤＮＡ接合体、無水吸収性ペースト、水中油及び油中水エマルジョン、エマルジョンカーボワックス（種々の分子量のポリエチレングリコール）、半固体ゲル及び半固体混合物含有カーボワックスを包含する。前述の混合物の何れでも、本開示に従っての治療及び療法において適切であるが、但し、製剤中の活性成分は、製剤により不活性化されず、そして製剤は投与経路と生理学的に適合し、且つ許容できるべきである。また、薬剤師に良く知られている、製剤、賦形剤及び担体に関連する追加の情報については、またBaldrick P. “Pharmaceutical excipient development: the need for preclinical guidance.” Regul. Toxicol Pharmacol. 32(2):210-8 (2000), Wang W. “Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals.” Int. J. Pharm. 203(1-2):1-60 (2000), Charman WN “Lipids, lipophilic drugs, and oral drug delivery-some emerging concepts.” J Pharm Sci.89(8):967-78 (2000), Powell et al. “Compendium of excipients for parenteral formulations” PDA J Pharm Sci Technol. 52:238-311 (1998)及びこそこにおける引用文献を参照のこと。

【０５１４】

接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体を含む、本開示の治療製剤は、異常標的発現及び／又は活性に関連する疾患又は障害を予防し、治療し又は他方では、改善するために使用される。例えば、接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体を含む、本開示の治療製剤は、炎症、炎症性障害、自己免疫疾患及び／又は癌又は他の腫瘍状態を治療するか、又は他方では、改善するために使用される。いくつかの実施形態によれば、癌は、標的が発現される、固形腫瘍又は造血器悪性腫瘍である。いくつかの実施形態によれば、癌は、標的が発現される固形腫瘍である。いくつかの実施形態によれば、癌は、標的が発現される造血器悪性腫瘍である。いくつかの実施形態によれば、標的は、実質組織（例えば癌における、器官又は組織の機能を、しばしば担持する、器官又は組織の部分）上で発現される。いくつかの実施形態によれば、標的は、細胞、組織又は器官上で発現される。いくつかの実施形態によれば、標的は、間質（すなわち、細胞、組織又は器官の結合支持骨格）上で発現される。いくつかの実施形態によれば、標的は、骨芽細胞上で発現される。いくつかの実施形態によれば、標的は、内皮（血管系）上で発現される。いくつかの実施形態によれば、標的は、癌幹細胞上で発現される。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体が接合されている剤は、微小管阻害剤である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体が接合されている剤は、核酸損傷剤である。

【０５１５】

予防、改善又は治療の有効性は、標的発現及び／又は活性、例えば異常標的発現及び／又は活性に関連する疾患又は障害を診断するか又は治療するための任意の既知方法に関連

して決定される。対象の生存性の延長、又は他方では、対象における標的発現及び／又は活性、例えば異常標的発現及び／又は活性に関連する疾患又は障害の進行の遅延は、接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体が臨床的有益性を付与することを示唆する。

【０５１６】

接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、医薬組成物の形で接合され得る。そのような組成物の調製に関与する原理及び考慮事項、及び成分の選択の指針は例えば、次の文献に提供される：Remington : The Science And Practice Of Pharmacy 19th ed. (Alfonso R. Gennaro, et al, editors) Mack Pub. Co., Easton, Pa.: 1995; Drug Absorption Enhancement : Concepts, Possibilities, Limitations, And Trends, Harwood Academic Publishers, Langhorne, Pa., 1994; 及び Peptide And Protein Drug Delivery (Advances In Parenteral Sciences, Vol. 4), 1991, M. Dekker, New York。

【０５１７】

抗体フラグメントが使用されるいくつかの実施形態によれば、標的タンパク質の結合ドメインに対して特異的に結合する最も小さなフラグメントが選択される。例えば、抗体の可変領域配列に基づいて、標的タンパク質配列を結合する能力を保持するペプチド分子が企画され得る。そのようなペプチドは、化学的に合成され得、そして／又は組換えＤＮＡ技法により生成され得る。（例えば、Marasco et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7889-7893 (1993)を参照のこと）。製剤はまた、治療される特定の徴候のために必要な複数の活性化合物、例えば、いくつかの実施形態によれば、お互い悪影響を与えない相補的活性を有するそれらの化合物も含むことができる。いくつかの実施形態によれば、又はさらに、組成物は、その機能を増強する剤、例えば細胞毒性剤、サイトカイン、化学療法剤、又は成長阻害剤を含むことができる。そのような分子は適切には、意図される目的のために効果的である量で、組合して存在する。

【０５１８】

活性成分は、例えばコアセルベーション技法により、又は界面重合により調製されるマイクロカプセル、例えばそれぞれコロイド状薬物送達システム（例えば、リポソーム、アルブミンマイクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル）又はマイクロエマルジョン中、ヒドロキシメチルセルロース又はゼラチン－マイクロカプセル及びポリ－（メチルメタクリレート）マイクロカプセルに封入され得る。

【０５１９】

インビボ投与のために使用される製剤は、無菌でなければならない。これは、無菌濾過膜を通しての濾過により、容易に達成される。

【０５２０】

徐放性製剤が調製され得る。徐放性製剤の適切な例は、抗体を含む固体疎水性ポリマーの半透過性マトリックスを包含し、ここで前記マトリックスは成形品、例えばフィルム又はマイクロカプセルの形で存在する。徐放性マトリックスの例は、ポリエステル、ヒドロゲル（例えば、ポリ（２－ヒドロキシエチル－メタクリレート）又はポリ（ビニルアルコール））、ポリラクチド（米国特許第３，７７３，９１９号）、Ｌ－グルタミン酸及びγエチル－Ｌ－グルタノートのコポリマー、非分解性エチレン－酢酸ビニル、分解性乳酸－グリコール酸コポリマー、例えばLUPRON DEPOT（登録商標）（乳酸－グリコール酸コポリマー及び酢酸ロイプロリドから構成される注射可能マイクロスフェア）、及びポリ－Ｄ－（－）－３－ヒドロキシ酪酸を包含する。ポリマー、例えばエチレン－酢酸ビニル及び乳酸－グリコール酸は１００日間にわたって分子の放出を可能にするが、特定のヒドロゲルはより短い期間、タンパク質を放出する。

【０５２１】

いくつかの実施形態によれば、接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、検出可能標識を含む。損なわれていない抗体又はそのフラグメント（例えば、Ｆａｂ、ｓｃＦｖ、又はＦ（ａｂ）$_2$）が使用される。プローブ又は抗体に関し

ての用語「標識された」とは、プローブ又は抗体に検出可能物質をカップリングする（すなわち、物理的に連結する）ことによるプローブ又は抗体の直接的標識化、及び直接的に標識される別の試薬との反応性によるプローブ又は抗体の間接的標識化を包含することが意図される。関接的標識化の例は、蛍光標識された二次抗体を用いての一次抗体の検出、及び蛍光標識されたストレプタビジンにより検出され得るよう、ビオチンによるＤＮＡ抗体の末端標識化を包含する。用語「生物学的サンプル」とは、対象から単離された組織、細胞及び生物学的流体、並びに対象内に存在する組織、細胞及び流体を包含することが意図される。従って、血液、及び血液の画分又は成分、例えば血清、血漿又はリンパは、用語「生物学的サンプル」の使用法内に含まれる。すなわち、本開示の検出方法は、インビトロで及びインビボで生物学的サンプルにおける分析ｍＲＮＡ、タンパク質又はゲノムＤＮＡを検出するために使用され得る。例えば、分析ｍＲＮＡの検出のためのインビトロ技法は、ノザンハイブリダイゼーション及び現場ハイブリダイゼーションを包含する。分析タンパク質の検出のためのインビトロ技法は、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、ウエスターンプロット、免疫沈降、免疫化学染色及び免疫蛍光を包含する。分析ゲノムＤＮＡの検出のためのインビトロ技法は、サザンハイブリダイゼーションを包含する。イムノアッセイを行うための手順は、例えば“ELISA: Theory and Practice: Methods in Molecular Biology”, Vol. 42, J. R. Crowther (Ed.) Human Press, Totowa, NJ, 1995; “Immunoassay”, E. Diamandis and T. Christopoulus, Academic Press, Inc., San Diego, CA, 1996;及び“Practice and Theory of Enzyme Immunoassays”, P. Tijssen, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1985に記載される。さらに、分析タンパク質の検出のためのインビボ技法は、標識された抗－分析タンパク質抗体を、対象中に導入することを包含する。例えば、抗体は、対象におけるその存在及び位置が標準のイメージング技法により検出され得る放射性マーカーにより標識され得る。

【０５２２】

本開示の接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体はまた、種々の診断及び予防製剤において有用である。１つの実施形態によれば、接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体が、１又は２以上の前述の障害を発症する危険性がある患者に投与される。１又は２以上の障害に対する患者又は器官の素因は、遺伝子型、血清学的または生化学マーカーを用いて決定され得る。

【０５２３】

いくつかの実施形態によれば、接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、１又は２以上の前述の障害に関連する臨床学的徴候を有するものとして診断されたヒト個人に投与される。診断に基づいて、接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、臨床学的徴候の効果を軽減するか、又は逆転するために結合される。

【０５２４】

接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体はまた、患者サンプルにおける１又は２以上の標的の検出に有用であり、そして従って、診断剤としても有用である。例えば、前記抗体及び/又は活性化可能抗体、及びその接合されたバージョンは、患者サンプルにおける１又は２以上の標的レベルを検出するために、インビトロアッセイ、例えばＥＬＩＳＡに使用される。

【０５２５】

１つの実施形態によれば、本開示の接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、固体支持体（例えば、マイクロタイタープレートのウェル）上に固定される。固定された接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、試験サンプルに存在することができる任意の標的のための捕捉抗体として作用する。固定された抗体と患者サンプルとの接触の前、固体支持体は、分析物の非特異的吸着を妨げるために、ブロッキング剤、例えば乳タンパク質により洗浄され、そして処理される。

【０５２６】
続いて、ウェルが、抗原を含む疑いのある試験サンプルにより、又は標準量の抗原を含む溶液により処理される。そのようなサンプルは、例えば病理診断であると思われる循環抗原のレベルを有する疑いのある対象からの血清サンプルである。試験サンプル又は標準を洗い流した後、固体支持体が、検出的に標識される二次抗体により処理される。標識された二次抗体は、検出抗体として作用する。検出可能標識のレベルが測定され、そして試験サンプル中の標的抗原の濃度が、標準サンプルから開発される標準曲線との比較により決定される。
【０５２７】
インビトロ診断アッセイにおいて本開示の抗体及びその接合されたバージョンを用いて得られる結果に基づいて、標的抗原の発現レベルに基づいて患者における疾患を分類することが可能であることが理解されるであろう。所定の疾患に関して、血液サンプルが、疾患の進行での種々の段階で、及び／又は、疾患の治療処理における種々の点で、診断される対象から採取される。進行又は治療の各段階のために統計学的に有意な結果を提供するサンプル集団を用いて、各段階で特徴的であると思われる抗原の濃度範囲が指定される。
【０５２８】
接合された抗体、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体はまた、診断及び／又はイメージング方法に使用され得る。いくつかの実施形態によれば、そのような方法は、インビトロ方法である。いくつかの実施形態によれば、そのような方法は、インビボ方法である。いくつかの実施形態によれば、そのような方法は、現場方法である。いくつかの実施形態によれば、そのような方法は、エクスビボ方法である。例えば、酵素的に切断可能なＣＭを有する活性化可能抗体は、ＣＭを切断できる酵素の存在又は不在を検出するために使用され得る。そのような活性化可能抗体は、所定の宿主生物の所定の細胞又は組織における活性化された抗体（すなわち、活性化可能抗体の切断に起因する抗体）の測定される蓄積を通して、酵素活性（又は、いくつかの実施形態によれば、高められた還元電位の環境、例えばジスルフィド結合の還元を提供できる環境）のインビボ検出（例えば、定性的又は定量的）を包含する診断に使用される。活性化された抗体のそのような蓄積は、組織が酵素活性（又はＣＭの性質に依存して、高められた還元電位）を発現するのみならず、また組織が、活性化された抗体が結合する少なくとも１つの標的を発現することを示唆する。
【０５２９】
例えば、ＣＭは、腫瘍の部位で、ウィルス又は細菌感染の部位で、生物学的に限られた部位（例えば、膿瘍、器官等において）で、及び同様の部位で見出されるマトリックス・メタロプロテアーゼのための基質であるよう選択され得る。ＡＢは、標的抗原を結合するものである。本明細書に開示されるような方法を用いて、又は適切な場合、当業者に知られている方法を用いて、検出可能標識（例えば、蛍光標識又は放射性標識又は放射性トレーサー）が、抗体及び/又は活性化可能抗体のＡＢ又は他の領域に接合され得る。適切な検出可能標識は、上記スクリーニング方法に論じられており、そして追加の特定の例が下記に提供される。その活性が目的の疾患組織において高められているＭＭＰと共に、疾患状態のタンパク質又はペプチドに対して特異的なＡＢを用いて、活性化可能抗体は、組織への疾患組織の高められた相対的結合速度を示し、ここでＣＭ特異的抗体は、検出レベルで存在しないか、又は疾患組織においてよりも低いレベルで存在するか、又は不活性である（例えば、チモーゲン形で、又は阻害剤との複合体形で）。小タンパク質及びペプチドは腎濾過システムにより血液から急速にクリアランスされるので、ＣＭに対して特異的な酵素は検出レベルで存在しない（又は非疾患組織においては低レベルで存在するか、又は不活性コンホメーションで存在する）ので、疾患組織における活性化された活性化可能抗体の蓄積が、非疾患組織と比較して増強される。
【０５３０】
別の例によれば、活性化可能抗体は、サンプルにおける切断剤の存在又は不在を検出するために使用され得る。例えば、活性化可能抗体が酵素による切断に対して敏感なＣＭを

含む場合、活性化可能抗体は、サンプルにおける還元状態の存在を検出するために（定性的に又は定量的に）、使用され得る。それらの方法での分析を促進するために、活性化可能抗体が、検出可能に標識され得、そして支持体（例えば、固体支持体、例えばスライド又はビーズ）に結合され得る。検出可能標識は、切断に続いて放出されない活性化可能抗体の一部を位置決定し、例えば検出可能標識は、急冷蛍光標識、又は切断が生じるまで、検出できない他の標識であり得る。アッセイは例えば、固定された、検出可能的に標識された活性化可能抗体と、酵素及び／又は還元剤を含むことが疑われるサンプルとを、切断が生じるのに十分な時間、接触し、次に、過剰のサンプル及び汚染物を除去するために洗浄することにより実施され得る。次に、サンプルにおける切断（例えば、酵素又は還元剤）の存在又は不在が、サンプルとの接触の前、活性化可能抗体の検出可能シグナルの変化、例えばサンプルにおける切断剤による活性化可能抗体の切断のために検出可能シグナルの存在及び／又は上昇により評価される。

【０５３１】

そのような検出方法は、切断される場合、活性化可能抗体の少なくとも１つのＡＢを結合できる標的の存在又は不在の検出を提供するよう適合され得る。従って、アッセイは、切断剤の存在又は不在、及び目的の標的の存在又は不在を評価するよう適合され得る。接断剤の存在又は不在は、上記のような活性化可能抗体の検出可能レベルの存在及び／又は不在により検出され得、そして標的の存在又は不在は、標的－ＡＢ複合体の検出により、例えば検出可能に標識された抗－標的抗体の使用により検出され得る。

【０５３２】

活性化可能抗体はまた、例えばプロテアーゼ切断による活性化可能抗体の活性化の検証のために現場イメージング、及び特定の標的への結合においても有用である。現場イメージングは、生物学的サンプル、例えば細胞培養物又は組織切片におけるタンパク質分解活性及び標的の局在化を可能にする技法である。この技法を用いて、検出可能標識（例えば、蛍光標識）の存在に基づいて、所定の標的への結合及びタンパク質分解活性の両者を認識することが可能である。

【０５３３】

それらの技法は、疾患部位（例えば、腫瘍組織）又は健康組織に由来する何れかの凍結された細胞又は組織において有用である。それらの技法はまた、新鮮な細胞又は組織サンプルにおいても有用である。

【０５３４】

それらの技法によれば、検出可能抗体は、検出可能標識により標識される。検出可能標識は、蛍光色素（例えば、蛍光団、フルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）、ローダミンイソチオシアネート（ＴＲＩＴＣ）、Alexa Fluor（登録商標））、近赤外（ＮＩＲ）色素（例えば、Qdot（登録商標）ナノクリスタル）、コロイド金属、ハプテン、放射性マーカー、ビオチン、及び増幅試薬、例えばストレプトアビジン、又は酵素（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ及びアルカリホスファターゼ）であり得る。

【０５３５】

標識された活性化可能抗体と共にインキュベートされたサンプルにおける標識の検出は、サンプルが標的を含み、そして活性化可能抗体のＣＭに対して特異的であるマトリックス・メタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）を含むことを示唆する。いくつかの実施形態によれば、ＭＭＰの存在は、広範囲のプロテアーゼ阻害剤、例えば本明細書に記載されるそれらを用いて、及び／又はプロテアーゼに対して特異的である剤、例えばプロテアーゼマトリプターゼ（ＭＴ－ＳＰ１）に対して特異的であり、そしてマトリプターゼのタンパク質分解活性を阻害する、抗体、例えばＡ１１を用いて、確認され得る；例えば、２０１０年１１月に公開された国際公開第２０１０／１２９６０９号を参照のこと。広範囲のプロテアーゼ阻害剤、例えば本明細書に記載されるそれらを使用することの、及び／又はより選択的阻害剤を用いることによる同じアプローチが、プロテアーゼ、又は活性化可能抗体のＣＭに対して特異的なＭＭＰを同定するために使用され得る。いくつかの実施形態によれば、標的の存在は、標的、例えば別の抗体に対して特異的である剤を用いて確かめられ得るか

、又は検出可能標識が標識されていない標的と競争され得る。いくつかの実施形態によれば、標識されていない活性化可能抗体が、標識された二次抗体又はより複雑な検出システムによる検出と共に使用され得る。

【０５３６】

類似する技法がまた、インビボイメージングのためにも有用であり、ここで対象、例えば哺乳類、例えばヒトにおける蛍光シグナルの検出は、疾患部位が標的を含み、そして活性化可能抗体のＣＭに対して特異的であるＭＭＰを含むことを示唆する。

【０５３７】

それらの技法はまた、活性化可能抗体におけるプロテアーゼ特異的ＣＭに基づいて、種々の細胞、組織及び生物におけるプロテアーゼ活性の検出、同定又は特徴づけのために、キットに、及び／又は試薬としても有用である。

【０５３８】

本開示は、種々の診断的及び／又は予防的適用のための抗体及び／又は活性化可能抗体の使用方法を提供する。例えば、本開示は、（ｉ）対象又はサンプルと、活性化可能抗体とを接触し、ここで活性化可能抗体は、マスキング部分（ＭＭ）、切断剤により切断される切断部分（ＣＭ）、及び目的の標的を特異的に結合する抗原結合ドメイン又はそのフラグメント（ＡＢ）を含み、ここで活性化可能抗体は、未切断、非活性化状態で、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有し；ＭＭ－ＣＭ－ＡＢ又はＡＢ－ＣＭ－ＭＭ；ここで、（ａ）ＭＭは、標的へのＡＢの結合を阻害するペプチドであり、そしてＭＭは、ＡＢの天然に存在する結合パートナーのアミノ酸配列を有さず、そしてＡＢの天然の結合パートナーの変性形ではなく；そして（ｂ）未切断、非活性化状態で、ＭＭは標的へのＡＢの特異的結合を妨害し、そして切断された、活性化された状態で、ＭＭは、標的へのＡＢの特異的結合を妨害せず、又はそれと競争せず；そして（ｉｉ）対象又はサンプルにおける活性化された活性化可能抗体のレベルを測定することにより、対象又はサンプルにおける切断剤及び目的の標的の存在又は非存在を検出するための方法を提供し、ここで対象又はサンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出レベルが、切断剤及び標的が対象又はサンプルに存在することを示唆し、そして対象又はサンプルにおける活性化された、活性化可能抗体の検出レベルの不在は、切断剤、標的又は切断剤及び標的の両者が対象又はサンプルに存在せず、そして/又は十分には存在しないことを示唆する。いくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、治療剤が接合される活性化できる活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、剤に接合されない。いくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、検出できる標識を含む。いくつかの実施形態によれば、検出できる標識は、ＡＢ上に位置決定される。いくつかの実施形態によれば、対象又はサンプル中の活性化できる活性化可能抗体のレベルの測定は、活性化された活性化可能抗体に対して特異的に結合する、検出可能標識を含む二次試薬を用いて達成される。いくつかの実施形態によれば、前記二次試薬は、検出できる標識を含む抗体である。

【０５３９】

本開示は、（ｉ）対象又はサンプルと、活性化可能抗体とを、目的の標的、例えば前記標的の存在下で、接触し、ここで活性化可能抗体は、マスキング部分（ＭＭ）、切断剤により切断される切断部分（ＣＭ）、及び目的の標的を特異的に結合する抗原結合ドメイン又はそのフラグメント（ＡＢ）を含み、ここで活性化可能抗体は、未切断、非活性化状態で、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有し；ＭＭ－ＣＭ－ＡＢ又はＡＢ－ＣＭ－ＭＭ；ここで、（ａ）ＭＭは、標的へのＡＢの結合を阻害するペプチドであり、そしてＭＭは、ＡＢの天然に存在する結合パートナーのアミノ酸配列を有さず、そしてＡＢの天然の結合パートナーの変性形ではなく；そして（ｂ）未切断、非活性化状態で、ＭＭは標的へのＡＢの特異的結合を妨害し、そして切断された、活性化された状態で、ＭＭは、標的へのＡＢの特異的結合を妨害せず、又はそれと競争せず；そして（ｉｉ）対象又はサンプルにおける活性化された活性化可能抗体のレベルを測定することにより、対象又はサンプルにおける切断剤及び目的の標的の存在又は非存在を検出するための方法を提供

し、ここで対象又はサンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出レベルが、切断剤が対象又はサンプルに存在することを示唆し、そして対象又はサンプルにおける活性化された、活性化可能抗体の検出レベルの不在は、切断剤が対象又はサンプルに存在せず、そして/又は十分には存在しないことを示唆する。いくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、治療剤が接合される活性化できる活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、剤に接合されない。いくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、検出できる標識を含む。いくつかの実施形態によれば、検出できる標識は、ＡＢ上に位置決定される。いくつかの実施形態によれば、対象又はサンプル中の活性化できる活性化可能抗体のレベルの測定は、活性化された活性化可能抗体に対して特異的に結合する、検出可能標識を含む二次試薬を用いて達成される。いくつかの実施形態によれば、前記二次試薬は、検出できる標識を含む抗体である。

【０５４０】

本開示はまた、対象又はサンプルにおける切断剤及び標的の存在又は非存在の検出方法への使用のためのキットを提供し、（ｉ）対象又はサンプルと、活性化可能抗体とを接触し；そして（ｉｉ）対象又はサンプルにおける活性化された活性化可能抗体のレベルを測定することにより、対象又はサンプルにおける切断剤及び標的の存在又は非存在を検出するためのキットを提供し、ここで前記キットは、マスキング部分（ＭＭ）、切断剤により切断される切断部分（ＣＭ）、及び目的の標的を特異的に結合する抗原結合ドメイン又はそのフラグメント（ＡＢ）を含む活性化可能抗体を、少なくとも含み、ここで活性化可能抗体は、未切断、非活性化状態で、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有し；ＭＭ－ＣＭ－ＡＢ又はＡＢ－ＣＭ－ＭＭ；ここで、（ａ）ＭＭは、標的へのＡＢの結合を阻害するペプチドであり、そしてＭＭは、ＡＢの天然に存在する結合パートナーのアミノ酸配列を有さず、そしてＡＢの天然の結合パートナーの変性形ではなく；そして（ｂ）未切断、非活性化状態で、ＭＭは標的へのＡＢの特異的結合を妨害し、そして切断された、活性化された状態で、ＭＭは、標的へのＡＢの特異的結合を妨害せず、又はそれと競争せず、ここで対象又はサンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出レベルが、切断剤が対象又はサンプルに存在することを示唆し、そして対象又はサンプルにおける活性化された、活性化可能抗体の検出レベルの不在は、切断剤が対象又はサンプルに存在せず、そして/又は十分には存在しないことを示唆する。いくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、治療剤が接合される活性化できる活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、剤に接合されない。いくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、検出できる標識を含む。いくつかの実施形態によれば、検出できる標識は、ＡＢ上に位置決定される。いくつかの実施形態によれば、対象又はサンプル中の活性化できる活性化可能抗体のレベルの測定は、活性化された活性化可能抗体に対して特異的に結合する、検出可能標識を含む二次試薬を用いて達成される。いくつかの実施形態によれば、前記二次試薬は、検出できる標識を含む抗体である。

【０５４１】

本開示は、（ｉ）対象又はサンプルと、活性化可能抗体とを接触し、ここで活性化可能抗体は、マスキング部分（ＭＭ）、切断剤により切断される切断部分（ＣＭ）、及び標的及び検出可能標識を特異的に結合する抗原結合ドメイン又はそのフラグメント（ＡＢ）を含み、ここで活性化可能抗体は、未切断、非活性化状態で、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有し；ＭＭ－ＣＭ－ＡＢ又はＡＢ－ＣＭ－ＭＭ；ここで、ＭＭは、標的へのＡＢの結合を阻害するペプチドであり、そしてＭＭは、ＡＢの天然に存在する結合パートナーのアミノ酸配列を有さず、そしてＡＢの天然の結合パートナーの変性形ではなく；そして未切断、非活性化状態で、ＭＭは標的へのＡＢの特異的結合を妨害し、そして切断された、活性化された状態で、ＭＭは、標的へのＡＢの特異的結合を妨害せず、又はそれと競争せず；そして検出可能標識が、ＣＭの切断に続いて放出される活性化可能抗体の部分上に位置し；そして（ｉｉ）対象又はサンプルにおける活性化された活性化可能

抗体のレベルを測定することにより、対象又はサンプルにおける切断剤及び目的の標的の存在又は非存在を検出するための方法を提供し、ここで対象又はサンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出レベルが、切断剤及び標的が対象又はサンプルに存在することを示唆し、そして対象又はサンプルにおける検出可能標識の検出レベルの不在は、切断剤が対象又はサンプルに存在しないことを示唆する。いくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、治療剤が接合される活性化できる活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、剤に接合されない。いくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、検出できる標識を含む。いくつかの実施形態によれば、検出できる標識は、ＡＢ上に位置決定される。いくつかの実施形態によれば、対象又はサンプル中の活性化できる活性化可能抗体のレベルの測定は、活性化された活性化可能抗体に対して特異的に結合する、検出可能標識を含む二次試薬を用いて達成される。いくつかの実施形態によれば、前記二次試薬は、検出できる標識を含む抗体である。

【０５４２】

本開示はまた、対象又はサンプルにおける切断剤及び標的の存在又は非存在の検出方法への使用のためのキットを提供し、ここで、前記キットは、対象又は生物学的サンプルとの接触への使用のための、本明細書に記載される活性化可能抗体及び/又は接合された活性化可能抗体（例えば、治療剤が接合されている活性化可能抗体）、及び対象又は生物学的サンプルにおける活性化された活性化可能抗体及び/又は接合された活性化可能抗体のレベルを検出するための手段を少なくとも含み、ここで対象又は生物学的サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出レベルが、切断剤及び標的が対象又は生物学的サンプルに存在することを示唆し、そして対象又は生物学的サンプルにおける活性化された、活性化可能抗体の検出レベルの不在は、切断剤、標的又は切断剤及び標的の両者が対象又は生物学的サンプルに存在せず、そして/又は十分には存在せず、結果的に、活性化可能抗体の標的結合及び/又はプロテアーゼ切断が対象又は生物学的サンプルにおいて検出され得ないことを示唆する。

【０５４３】

本開示は、（ｉ）対象又は生物学的サンプルと、活性化可能抗体とを、標的の存在下で接触し、そして（ｉｉ）対象又は生物学的サンプルにおける活性化された活性化可能抗体のレベルを測定することにより、対象又はサンプルにおける切断剤の存在又は非存在を検出するための方法を提供し、ここで対象又は生物学的サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出レベルが、切断剤が対象又は生物学的サンプルに存在することを示唆し、そして対象又は生物学的サンプルにおける検出可能標識の検出レベルの不在は、切断剤が対象又は生物学的サンプルに検出できるレベルで存在せず、結果的に、活性化可能抗体のプロテアーゼ切断が対象又は生物学的サンプルに検出され得ないことを示唆する。そのような活性化可能抗体は、マスキング部分（ＭＭ）、切断剤により切断される切断部分（ＣＭ）、及び標的を特異的に結合する抗原結合ドメイン又はそのフラグメント（ＡＢ）を含み、ここで活性化可能抗体は、未切断（すなわち、非活性化）状態で、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有し；ＭＭ－ＣＭ－ＡＢ又はＡＢ－ＣＭ－ＭＭ；ここで、（ａ）ＭＭは、標的へのＡＢの結合を阻害するペプチドであり、そしてＭＭは、ＡＢの天然に存在する結合パートナーのアミノ酸配列を有さず、そして（ｂ）未切断状態で、活性化可能抗体のＭＭは、標的へのＡＢの特異的結合を妨害せず、そして、ここで切断（すなわち、活性化）状態で、活性化可能抗体のＭは、標的へのＡＢの特異的結合を妨害せず、又はそれと競争しない。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、治療剤が接合される活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、剤に接合されない。いくつかの実施形態によれば、検出できる標識は、マスキング部分に結合される。いくつかの実施形態によれば、検出できる標識は、プロテアーゼ切断部位のＮ－末端側の切断可能部分に結合される。いくつかの実施形態によれば、ＡＢの単一の抗原結合部位がマスキングされる。本開示の抗体が少なくとも２つの抗原結合部位を有するいくつかの実施形態によれば、少なくとも１つの抗原結合部位がマスキングされ、そして少

なくとも１つの抗原結合部位がマスキングされていない。いくつかの実施形態によれば、すべての抗原結合部位がマスキングされている。いくつかの実施形態によれば、測定段階は検出できる標識を含む二次試薬の使用を包含する。

【０５４４】

本開示はまた、対象又はサンプルにおける切断剤及び標的の存在又は非存在の検出方法への使用のためのキットを提供し、ここで前記キットは、対象又は生物学的サンプルと、活性化可能抗体とを、標的の存在下で接触し、そして対象又はサンプルにおける活性化された活性化可能抗体レベルを測定することへの使用のために、本明細書に記載される活性化可能抗体及び/又は接合された活性化可能抗体を少なくとも含み、ここで対象又は生物学的サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出レベルが、切断剤が対象又は生物学的サンプルに存在することを示唆し、そして対象又は生物学的サンプルにおける検出可能標識の検出レベルの不在は、切断剤が対象又は生物学的サンプルに検出できるレベルで存在せず、結果的に、活性化可能抗体のプロテアーゼ切断が対象又は生物学的サンプルに検出され得ないことを示唆する。そのような活性化可能抗体は、マスキング部分（ＭＭ）、切断剤により切断される切断部分（ＣＭ）、及び標的を特異的に結合する抗原結合ドメイン又はそのフラグメント（ＡＢ）を含み、ここで活性化可能抗体は、未切断（すなわち、非活性化）状態で、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有し；ＭＭ－ＣＭ－ＡＢ又はＡＢ－ＣＭ－ＭＭ；ここで、（ａ）ＭＭは、標的へのＡＢの結合を阻害するペプチドであり、そしてＭＭは、ＡＢの天然に存在する結合パートナーのアミノ酸配列を有さず、そして（ｂ）未切断状態で、活性化可能抗体のＭＭは、標的へのＡＢの特異的結合を妨害せず、そして、ここで、切断（すなわち、活性化）状態で、活性化可能抗体のＭＭは、標的へのＡＢの特異的結合を妨害せず、又はそれと競争しない。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、治療剤が接合される活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、剤に接合されない。いくつかの実施形態によれば、検出できる標識は、マスキング部分に結合される。いくつかの実施形態によれば、検出できる標識は、プロテアーゼ切断部位のＮ－末端側の切断可能部分に結合される。いくつかの実施形態によれば、ＡＢの単一の抗原結合部位がマスキングされる。本開示の抗体が少なくとも２つの抗原結合部位を有するいくつかの実施形態によれば、少なくとも１つの抗原結合部位がマスキングされ、そして少なくとも１つの抗原結合部位がマスキングされていない。いくつかの実施形態によれば、すべての抗原結合部位がマスキングされている。いくつかの実施形態によれば、測定段階は検出できる標識を含む二次試薬の使用を包含する。

【０５４５】

本開示はまた、対象又はサンプルにおける切断剤の存在又は非存在の検出方法への使用のためのキットを提供し、ここで、前記キットは、対象又は生物学的サンプルとの接触への使用のための、本明細書に記載される活性化可能抗体及び/又は接合された活性化可能抗体、及び対象又は生物学的サンプルにおける活性化された活性化可能抗体及び/又は接合された活性化可能抗体のレベルを検出するための手段を少なくとも含み、ここで活性化可能抗体は、ＣＭの切断に続いて放出される活性化可能抗体の部分上に位置する検出可能標識を含み、対象又は生物学的サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出できるレベルは、切断剤が対象又は生物学的サンプルに存在せず、そして/又は十分に存在せず、結果的に、活性化可能抗体の標的結合及び/又はプロテアーゼ切断が対象又は生物学的サンプルに検出され得ないことを示唆し、そして対象又は生物学的サンプルにおける活性化された活性化可能抗体の検出レベルの不在が、切断剤が検出できるレベルで、対象又は生物学的サンプルに存在しないことを示唆する。

【０５４６】

本開示は、（ｉ）対象又は生物学的サンプルと、活性化可能抗体とを接触し、ここで活性化可能抗体は、ＣＭの切断に続いて放出される活性化可能抗体の部分上に位置する検出可能標識を含み、そして（ｉｉ）対象又は生物学的サンプルにおける活性化された、活性化可能抗体のレベルを測定することにより、対象又はサンプルにおける切断剤及び標的の

存在又は非存在を検出する方法を提供し、ここで対象又は生物学的サンプルにおける活性化された、活性化可能抗体の検出可能レベルは、切断剤、標的、又は切断剤及び標的の両者が対象又は生物学的サンプルに存在せず、及び／又は十分には存在せず、結果的に、活性化可能抗体の標的結合及び／又はプロテアーゼ切断が対象又は生物学的サンプルに検出され得ないことを示唆し、そして対象又は生物学的サンプルにおける活性化された、活性化可能抗体の低められた検出可能レベルが、接断剤及び標的が対象又は生物学的サンプルに存在することを示唆する。検出可能標識の低められたレベルは、例えば約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、 約９０％、約９５％及び/又は 約 １００％の低減率である。そのような活性化可能抗体は、マスキング部分（ＭＭ）、切断剤により切断される切断部分（ＣＭ）、及び標的を特異的に結合する抗原結合ドメイン又はそのフラグメント（ＡＢ）を含み、ここで活性化可能抗体は、未切断（すなわち、非活性化）状態で、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有し；ＭＭ－ＣＭ－ＡＢ又はＡＢ－ＣＭ－ＭＭ；ここで、（ａ）ＭＭは、標的へのＡＢの結合を阻害するペプチドであり、そしてＭＭは、ＡＢの天然に存在する結合パートナーのアミノ酸配列を有さず、そして（ｂ）未切断状態で、活性化可能抗体のＭは、標的へのＡＢの特異的結合を妨害せず、そして、ここで、切断（すなわち、活性化）状態で、活性化可能抗体のＭＭは、標的へのＡＢの特異的結合を妨害せず、又はそれと競争しない。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、治療剤が接合されている活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、剤に接合されない。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、検出可能標識を含む。いくつかの実施形態によれば、検出可能標識は、ＡＢ上に位置する。いくつかの実施形態によれば、対象又はサンプルにおける活性化可能抗体のレベルの測定は、活性化された抗体に対して特異的に結合する二次試薬を用いて達成され、ここで試薬は検出可能標識を含む。いくつかの実施形態によれば、二次試薬は、検出可能標識を含む抗体である。

【０５４７】

本開示はまた、対象又はサンプルにおける切断剤及び標的の存在又は非存在の検出方法への使用のためのキットを提供し、ここで、前記キットは、対象又は生物学的サンプルとの接触への使用のための、本明細書に記載される活性化可能抗体及び/又は接合された活性化可能抗体、及び対象又は生物学的サンプルにおける活性化された活性化可能抗体及び/又は接合された活性化可能抗体のレベルを検出するための手段を少なくとも含み、ここで対象又は生物学的サンプルにおける活性化された、活性化可能抗体の検出可能レベルは、切断剤、標的、又は切断剤及び標的の両者が対象又は生物学的サンプルに存在せず、及び／又は十分には存在せず、結果的に、活性化可能抗体の標的結合及び／又はプロテアーゼ切断が対象又は生物学的サンプルに検出され得ないことを示唆し、そして対象又は生物学的サンプルにおける活性化された、活性化可能抗体の低められた検出可能レベルが、接断剤及び標的が対象又は生物学的サンプルに存在することを示唆する。検出可能標識の低められたレベルは、例えば約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、 約９０％、約９５％及び/又は 約 １００％の低減率である。

【０５４８】

本開示は、（ｉ）対象又は生物学的サンプルと、活性化可能抗体とを接触し、ここで活性化可能抗体は、ＣＭの切断に続いて放出される活性化可能抗体の部分上に位置する検出可能標識を含み、そして（ｉｉ）対象又は生物学的サンプルにおける検出可能抗体のレベルを測定することにより、対象又はサンプルにおける切断剤の存在又は非存在を検出する方法を提供し、ここで対象又は生物学的サンプルにおける検出可能抗体の検出可能レベルは、切断剤が対象又は生物学的サンプルに存在せず、及び／又は十分には存在せず、結果的に、活性化可能抗体のプロテアーゼ切断が対象又は生物学的サンプルに検出され得ないことを示唆し、そして対象又は生物学的サンプルにおける検出可能抗体の低められた検出

可能レベルが、接断剤が対象又は生物学的サンプルに存在することを示唆する。検出可能標識の低められたレベルは、例えば約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、 約９０％、約９５％及び/又は 約 １００％の低減率である。そのような活性化可能抗体は、マスキング部分（ＭＭ）、切断剤により切断される切断部分（ＣＭ）、及び標的を特異的に結合する抗原結合ドメイン又はそのフラグメント（ＡＢ）を含み、ここで活性化可能抗体は、未切断（すなわち、非活性化）状態で、次のような、Ｎ－末端からＣ－末端への構造配置を有し；ＭＭ－ＣＭ－ＡＢ又はＡＢ－ＣＭ－ＭＭ；ここで、（ａ）ＭＭは、標的へのＡＢの結合を阻害するペプチドであり、そしてＭＭは、ＡＢの天然に存在する結合パートナーのアミノ酸配列を有さず、そして（ｂ）未切断状態で、活性化可能抗体のＭは、標的へのＡＢの特異的結合を妨害せず、そして、ここで、切断（すなわち、活性化）状態で、活性化可能抗体のＭＭは、標的へのＡＢの特異的結合を妨害せず、又はそれと競争しない。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、治療剤が接合されている活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、剤に接合されない。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、検出可能標識を含む。いくつかの実施形態によれば、検出可能標識は、ＡＢ上に位置する。いくつかの実施形態によれば、対象又はサンプルにおける活性化可能抗体のレベルの測定は、活性化された抗体に対して特異的に結合する二次試薬を用いて達成され、ここで試薬は検出可能標識を含む。いくつかの実施形態によれば、二次試薬は、検出可能標識を含む抗体である。

【０５４９】

本開示はまた、対象又はサンプルにおける目的の切断の存在又は非存在の検出方法への使用のためのキットを提供し、ここで、前記キットは、対象又は生物学的サンプルとの接触への使用のための、本明細書に記載される活性化可能抗体及び/又は接合された活性化可能抗体、及び対象又は生物学的サンプルにおける活性化された活性化可能抗体及び/又は接合された活性化可能抗体のレベルを検出するための手段を少なくとも含み、ここで活性化可能抗体は、ＣＭの切断に続いて放出される活性化可能抗体の部分上に位置する検出可能標識を含み、ここで対象又は生物学的サンプルにおける検出可能抗体の検出可能レベルは、切断剤、標的、又は切断剤及び標的の両者が対象又は生物学的サンプルに存在せず、及び／又は十分には存在せず、結果的に、活性化可能抗体の標的結合及び／又はプロテアーゼ切断が対象又は生物学的サンプルに検出され得ないことを示唆し、そして対象又は生物学的サンプルにおける活性化された、活性化可能抗体の低められた検出可能レベルが、接断剤及び標的が対象又は生物学的サンプルに存在することを示唆する。検出可能標識の低められたレベルは、例えば約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、 約９０％、約９５％及び/又は 約 １００％の低減率である。

【０５５０】

それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、活性化できる活性化可能抗体は、検出できる標識を含む。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、検出できる標識は、イメージング剤、造影剤、酵素、蛍光標識、発色団、色素、１又は２以上の金属イオン、又はリガンドベースの標識を含む。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、イメージング剤は、放射性同位体を含む。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、放射性同位体は、インジウム又はテクネチウムである。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、造影剤は、ヨウ素、ガドリニウム又は酸化鉄を含む。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、酵素は、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ又はβ－ガラクトシダーゼを含む。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、蛍光標識は、黄色蛍光タンパク質（ＹＦＰ）、シアン蛍光タンパク質（ＣＦＰ）、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）、修飾された赤色蛍光タンパク質（ＭＲＦＰ）、赤色蛍光タンパク質ｔダイマー２（ＲＦＰ

ｔダイマー２）、ＨＣＲＥＤ、又はユーロピウム誘導体を含む。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、発光標識は、Ｎ－メチルアクリジウム誘導体を含む。それらの方法のいくつかの実施形態によれば、標識は、Alexa Fluor（登録商標）標識，例えばAlex Fluor（登録商標）680 又はAlexa Fluor（登録商標）750を含む。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、リガンドベースの標識は、ビオチン、アビジン、ストレプタビジン又は１又は２以上のハプテンを含む。

【０５５１】

それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、対象は哺乳類である。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、対象はヒトである。いくつかの実施形態によれば、対象は、非ヒト哺乳類、例えば非ヒト霊長類、愛玩動物（例えば、ネコ、イヌ、ウマ）、農業用動物、作業用動物又は動物園の動物である。いくつかの実施形態によれば、対象は齧歯動物である。いくつかの実施形態によれば、対象はヒトである。いくつかの実施形態によれば、対象は愛玩動物である。いくつかの実施形態によれば、対象は、獣医師のケア動物である。

【０５５２】

それらの方法のいくつかの実施形態によれば、前記方法は、インビボ方法である。それらの方法のいくつかの実施形態によれば、前記方法は、現場方法である。それらの方法のいくつかの実施形態によれば、前記方法は、エキソビボ方法である。それらの方法のいくつかの実施形態によれば、前記方法は、インビトロ方法である。

【０５５３】

いくつかの実施形態によれば、現場イメージング及び／又はインビボイメージングは、治療する患者を同定する方法において有用である。例えば、現場イメージングにおいては、活性化可能抗体が、適切な位置で、例えば腫瘍部位で、適切なプロテアーゼ及び標的を有するそれらの患者を同定するために患者サンプルをスクリーンするために使用される。

【０５５４】

いくつかの実施形態によれば、現場イメージングは、本開示の活性化可能抗体による治療のために適切な患者集団を同定するか、又は他方では、さらに絞り込むために使用される。例えば、標的、及び試験される活性化可能抗体中の切断可能部分（ＣＭ）において基質を切断するプロテアーゼの両者について陽性である患者（例えば、疾患部位で、活性化された抗体を蓄積する）は、そのようなＣＭを含む活性化可能抗体による治療のための適切な候補体として同定される。同様に、それらの方法を用いて試験される、標的、及び活性化可能抗体中のＣＭにおいて基質を切断するプロテアーゼの両者について陰性である患者は、別の形の治療のための適切な候補体として同定され得る。いくつかの実施形態によれば、第１活性化可能抗体に関して陰性であるそのような患者は、治療のための適切な活性化可能抗体（例えば、疾患の部位で患者により切断されるＣＭを含む活性化可能抗体）が同定されるまで、異なったＣＭを含む他の活性化可能抗体により試験され得る。いくつかの実施形態によれば、次に、患者は、陽性である患者のための治療的有効量の接合された活性化可能抗体が投与される。

【０５５５】

いくつかの実施形態によれば、インビボイメージングは、本開示の活性化可能抗体による治療のために適切な患者集団を同定するか、又は他方では、さらに絞り込むために使用される。例えば、標的、及び試験される活性化可能抗体中の切断可能部分（ＣＭ）において基質を切断するプロテアーゼの両者について陽性である患者（例えば、疾患部位で、活性化された抗体を蓄積する）は、そのようなＣＭを含む活性化可能抗体による治療のための適切な候補体として同定される。同様に、陰性である患者は、別の形の治療のための適切な候補体として同定され得る。いくつかの実施形態によれば、第１活性化可能抗体に関して陰性であるそのような患者は、治療のための適切な活性化可能抗体（例えば、疾患の部位で患者により切断されるＣＭを含む活性化可能抗体）が同定されるまで、異なったＣＭを含む他の活性化可能抗体により試験され得る。いくつかの実施形態によれば、次に、患者は、陽性である患者のための治療的有効量の接合された活性化可能抗体が投与される

。

【０５５６】

方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、前記方法又はキットは、本開示の活性化可能抗体による治療のために適切な患者集団を同定するか、又は他方では、さらに絞り込むために使用される。例えば、標的、及びそれらの方法により試験される活性化可能抗体中の切断可能部分（ＣＭ）において基質を切断するプロテアーゼの両者について陽性である患者は、そのようなＣＭを含む活性化可能抗体による治療のための適切な候補体として同定される。同様に、それらの方法を用いて試験される、標的、及び活性化可能抗体中のＣＭにおいて基質を切断するプロテアーゼの両者について陰性である患者は、別の形の治療のための適切な候補体として同定され得る。いくつかの実施形態によれば、そのような患者は、治療のための適切な活性化可能抗体（例えば、疾患の部位で患者により切断されるＣＭを含む活性化可能抗体）が同定されるまで、他の活性化可能抗体により試験され得る。いくつかの実施形態によれば、標的の何れかについて陰性である患者は、そのようなＣＭを含むそのような活性化可能抗体による治療のための適切な候補体として同定される。いくつかの実施形態によれば、標的の何れかについて陰性である患者は、そのようなＣＭを含む活性化可能抗体による治療のための適切な候補体ではない。いくつかの実施形態によれば、そのような患者は、治療のための適切な活性化可能抗体（例えば、疾患の部位で患者により切断されるＣＭを含む活性化可能抗体）が同定されるまで、他の活性化可能抗体により試験され得る。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、治療剤が接合されている活性化可能抗体である。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、剤に接合されない。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、検出可能標識である。いくつかの実施形態によれば、検出可能標識は、ＡＢ上に位置する。いくつかの実施形態によれば、対象又はサンプル中の活性化可能抗体のレベルの測定は、活性化された抗体に対して特異的に結合する二次試薬を用いて達成され、ここで前記試薬は検出可能標識を含む。いくつかの実施形態によれば、前記二次試薬は、検出可能標識を含む抗体である。

【０５５７】

いくつかの実施形態によれば、方法又はキットは、本開示の抗－標的活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体（例えば、治療剤が接合されている活性化可能抗体）による治療、続いて、前記活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体を、その必要な対象に投与することによる治療のために適切な患者集団を同定するか、又は他方では、絞り込むために使用される。例えば、標的、及びそれらの方法により試験される活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体の切断可能部分（ＣＭ）において基質を切断するプロテアーゼの両者について陽性である患者は、そのようなＣＭを含む、そのような抗体及び／又はそのような接合された活性化可能抗体による治療のための適切な候補体として同定され、そして次に、治療的有効量の試験された活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体を投与される。同様に、それらの方法を用いて試験される、標的、及び活性化可能抗体中のＣＭにおいて基質を切断するプロテアーゼの何れか又は両者について陰性である患者は、別の形の治療のための適切な候補体として同定され得る。いくつかの実施形態によれば、そのような患者は、治療のための適切な抗体及び／又は接合された活性化可能抗体（例えば、患者の部位で患者により切断されるＣＭを含む活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体）が固定されるまで、他の抗体及び／又は接合された活性化可能抗体により試験され得る。いくつかの実施形態によれば、次に、患者は、患者が陽性であると試験された、治療的有効量の活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体が投与される。

【０５５８】

それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、ＭＭは、約４－４０個の長さのアミノ酸を有するペプチドである。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、リンカーペプチドを含み、ここで前記リンカーペプチドはＭＭとＣＭとの間に位置する。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、活性

化可能抗体はリンカーペプチドを含み、ここで前記リンカーペプチドは、ＡＢとＣＭとの間に位置する、それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、第１リンカーペプチド（Ｌ１）及び第２リンカーペプチド（Ｌ２）を含み、ここで前記第１リンカーペプチドはＭＭとＣＭの間に位置し、そして第２リンカーペプチドは、ＡＢとＣＭとの間に位置する。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、Ｌ１及びＬ２の個々は、約１－２０個の長さのアミノ酸のペプチドであり、そしてＬ１及びＬ２の個々は同じリンカーである必要はない。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、Ｌ１及びＬ２の１つ又は両者は、グリシン－セリンポリマーを含む。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、Ｌ１及びＬ２の少なくとも１つは、（Ｇ）ｎ、グリシン－セリンポリマー(例えば、（ＧＳ）ｎ、（ＧＳＧＧＳ）ｎ（配列番号１）及び（ＧＧＧＳ）ｎ（配列番号２)から成る群から選択されたアミノ酸配列を含み、ここでｎは少なくとも１つの整数である。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、Ｌ１及びＬ２の少なくとも１つは、式（ＧＧＳ）ｎ（ここで、ｎは少なくとも１つの整数である）を有するアミノ酸配列を含む。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、Ｌ１及びＬ２の少なくとも１つは、Gly-Gly-Ser-Gly(配列番号３)、Gly-Gly-Ser-Gly-Gly(配列番号４)、 Gly-Ser-Gly-Ser-Gly(配列番号５)、Gly-Ser-Gly-Gly-Gly(配列番号６)、 Gly-Gly-Gly-Ser-Gly (配列番号７)及び Gly-Ser-Ser-Ser-Gly (配列番号８)から成る群から選択されたアミノ酸配列を含む。

【０５５９】

それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、ＡＢは、本明細書に提供される交差反応性抗体配列が選択される抗体又は抗体フラグメント配列を含む。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、ＡＢは、Ｆａｂフラグメント、ｓｃＦｖ又は一本鎖抗体（ｓｃＡｂ）を含む。

【０５６０】

それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、切断剤は、標的と共に、対象又はサンプルにおいて共局在化されるプロテアーゼであり、そしてＣＭは、プロテアーゼのための基質として機能するペプチドであり、ここで、プロテアーゼは、活性化可能抗体がそのプロテアーゼに暴露される場合、活性化可能抗体におけるＣＭを切断する。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、ＣＭは、１５個までの長さのアミノ酸のポリペプチドである。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、ＣＭは、ＡＢのＮ－末端にカップリングされる。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、ＣＭは、ＡＢのＣ－末端にカップリングされる。それらの方法及びキットのいくつかの実施形態によれば、ＣＭは、ＡＢのＶＬ鎖のＮ－末端にカップリングされる。

【０５６１】

本開示の活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、診断用及び予防用製剤に使用される。いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体は、１又は２以上の前述の炎症、炎症性障害、癌又は他の障害の発症の危険性である患者に投与される。

【０５６２】

１又は２以上の前述の障害に対する患者の又は器官の素因は、遺伝子型、血清学的又は生物学的マーカーを用いて決定され得る。

【０５６３】

いくつかの実施形態によれば、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、１又は２以上の前述の障害に関連する臨床学的徴候を有するとして診断されたヒト個体に投与される。診断に基づいて、活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、臨床学的徴候の効果を軽減するか又は逆にするために投与される。

【０５６４】

本開示の活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体はまた、患者サンプルにおける標的の検出においても有用であり、そして従って、診断剤として有用である。例えば、本開示の活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体は、患者サンプルにおける標的レベルを検出するために、インビトロアッセイ、例えばＥＬＩＳＡにおいて使用

される。
【０５６５】
１つの実施形態によれば、本開示の活性化可能抗体は、固体支持体（例えば、マイクロタイタープレートのウェル）上に固定される。固定された活性化可能抗体は、試験サンプルに存在することができる任意の標的のための捕捉抗体として作用する。固定された抗体と患者サンプルとの接触の前、固体支持体は、分析物の非特異的吸着を妨げるために、ブロッキング剤、例えば乳タンパク質により洗浄され、そして処理される。
【０５６６】
続いて、ウェルが、抗原を含む疑いのある試験サンプルにより、又は標準量の抗原を含む溶液により処理される。そのようなサンプルは、例えば病理診断であると思われる循環抗原のレベルを有する疑いのある対象からの血清サンプルである。試験サンプル又は標準を洗い流した後、固体支持体が、検出的に標識される二次抗体により処理される。標識された二次抗体は、検出抗体として作用する。検出可能標識のレベルが測定され、そして試験サンプル中の標的抗原の濃度が、標準サンプルから開発される標準曲線との比較により決定される。
【０５６７】
インビトロ診断アッセイにおいて本開示の抗体を用いて得られる結果に基づいて、標的抗原の発現レベルに基づいて患者における疾患を分類することが可能であることが理解されるであろう。所定の疾患に関して、血液サンプルが、疾患の進行での種々の段階で、及び／又は、疾患の治療処理における種々の点で、診断される対象から採取される。進行又は治療の各段階のために統計学的に有意な結果を提供するサンプル集団を用いて、各段階で特徴的であると思われる抗原の濃度範囲が指定される。
【０５６８】
活性化可能抗体及び／又は接合された活性化可能抗体はまた、診断及び／又はイメージング方法に使用され得る。いくつかの実施形態によれば、そのような方法は、インビトロ方法である。いくつかの実施形態によれば、そのような方法は、インビボ方法である。いくつかの実施形態によれば、そのような方法は、現場方法である。いくつかの実施形態によれば、そのような方法は、エクスビボ方法である。例えば、酵素的に切断可能なＣＭを有する活性化可能抗体は、ＣＭを切断できる酵素の存在又は不在を検出するために使用され得る。そのような性化可能抗体は、所定の宿主生物の所定の細胞又は組織における活性化された抗体（すなわち、活性化可能抗体の切断に起因する抗体）の測定される蓄積を通して、酵素活性（又は、いくつかの実施形態によれば、高められた還元電位の環境、例えばジスルフィド結合の還元を提供できる環境）のインビボ検出（例えば、定性的又は定量的）を包含する診断に使用される。活性化された抗体のそのような蓄積は、組織が酵素活性（又はＣＭの性質に依存して、高められた還元電位）を発現するのみならず、また組織が、活性化された抗体が結合する少なくとも１つの標的を発現することを示唆する。
【０５６９】
例えば、ＣＭは、腫瘍の部位で、ウィルス又は細菌感染の部位で、生物学的に限られた部位（例えば、膿瘍、器官等において）で、及び同様の部位で見出されるプロテアーゼのためのプロテアーゼ基質であるよう選択され得る。ＡＢの少なくとも１つは、標的抗原を結合するものである。当業者に知られている方法を用いて、検出可能標識（例えば、蛍光標識又は放射性標識又は放射性トレーサー）が、活性化可能抗体のＡＢ又は他の領域に接合され得る。適切な検出可能標識は、上記スクリーニング方法に論じられており、そして追加の特定の例が下記に提供される。その活性が目的の疾患組織において高められているプロテアーゼと共に、疾患状態のタンパク質又はペプチドに対して特異的なＡＢを用いて、活性化可能抗体は、組織への疾患組織の高められた相対的結合速度を示し、ここでＣＭ特異的抗体は、検出レベルで存在しないか、又は疾患組織においてよりも低いレベルで存在するか、又は不活性である（例えば、チモーゲン形で、又は阻害剤との複合体形で）。小タンパク質及びペプチドは腎濾過システムにより血液から急速にクリアランスされるので、ＣＭに対して特異的な酵素は検出レベルで存在しない（又は非疾患組織においては低

レベルで存在するか、又は不活性コンホメーションで存在する）ので、疾患組織における活性化された活性化された抗体の蓄積が、非疾患組織と比較して増強される。

【０５７０】

別の例によれば、活性化可能抗体は、サンプルにおける切断剤の存在又は不在を検出するために使用され得る。例えば、活性化可能抗体が酵素による切断に対して敏感なＣＭを含む場合、活性化可能抗体は、サンプルにおける還元状態の存在を検出するために（定性的に又は定量的に）、使用され得る。それらの方法での分析を促進するために、活性化可能抗体が、検出可能に標識され得、そして支持体（例えば、固体支持体、例えばスライド又はビーズ）に結合され得る。検出可能標識は、切断に続いて放出されない活性化可能抗体の一部を位置決定し、例えば検出可能標識は、急冷蛍光標識、又は切断が生じるまで、検出できない他の標識であり得る。アッセイは例えば、固定された、検出可能的に標識された活性化可能抗体と、酵素及び／又は還元剤を含むことが疑われるサンプルとを、切断が生じるのに十分な時間、接触し、次に、過剰のサンプル及び汚染物を除去するために洗浄することにより実施され得る。次に、サンプルにおける切断（例えば、酵素又は還元剤）の存在又は不在が、サンプルとの接触の前、活性化可能抗体の検出可能シグナルの変化、例えばサンプルにおける切断剤による活性化可能抗体の切断のために検出可能シグナルの存在及び／又は上昇により評価される。

【０５７１】

そのような検出方法は、切断される場合、活性化可能抗体の少なくとも１つのＡＢを結合できる標的の存在又は不在の検出を提供するよう適合され得る。従って、アッセイは、切断剤の存在又は不在、及び目的の標的の存在又は不在を評価するよう適合され得る。接断剤の存在又は不在は、上記のような活性化可能抗体の検出可能レベルの存在及び／又は不在により検出され得、そして標的の存在又は不在は、標的－ＡＢ複合体の検出により、例えば検出可能に標識された抗－標的抗体の使用により検出され得る。

【０５７２】

活性化可能抗体はまた、例えばプロテアーゼ切断による活性化可能抗体の活性化の検証のために現場イメージング、及び特定の標的への結合においても有用である。現場イメージングは、生物学的サンプル、例えば細胞培養物又は組織切片におけるタンパク質分解活性及び標的の局在化を可能にする技法である。この技法を用いて、検出可能標識（例えば、蛍光標識）の存在に基づいて、所定の標的への結合及びタンパク質分解活性の両者を認識することが可能である。

【０５７３】

それらの技法は、疾患部位（例えば、腫瘍組織）又は健康組織に由来する何れかの凍結された細胞又は組織において有用である。それらの技法はまた、新鮮な細胞又は組織サンプルにおいても有用である。

【０５７４】

それらの技法によれば、検出可能抗体は、検出可能標識により標識される。検出可能標識は、蛍光色素（例えば、蛍光団、フルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）、ローダミンイソチオシアネート（ＴＲＩＴＣ）、、近赤外（ＮＩＲ）色素（例えば、Ｑｄｏｔ（登録商標）ナノクリスタル）、コロイド金属、ハプテン、放射性マーカー、ビオチン、及び増幅試薬、例えばストレプトアビジン、又は酵素（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ及びアルカリホスファターゼ）であり得る。

【０５７５】

標識された活性化可能抗体と共にインキュベートされたサンプルにおける標識の検出は、サンプルが標的を含み、そして活性化可能抗体のＣＭに対して特異的であるプロテアーゼを含むことを示唆する。いくつかの実施形態によれば、プロテアーゼの存在は、広範囲のプロテアーゼ阻害剤、例えば本明細書に記載されるそれらを用いて、及び／又はプロテアーゼに対して特異的である剤、例えばプロテアーゼマトリプターゼ（ＭＴ－ＳＰ１）に対して特異的であり、そしてマトリプターゼのタンパク質分解活性を阻害する、抗体、例えばＡ１１を用いて、確認され得る；例えば、２０１０年１１月に公開された国際公開第

２０１０／１２９６０９号を参照のこと。広範囲のプロテアーゼ阻害剤、例えば本明細書に記載されるそれらを使用することの、及び／又はより選択的阻害剤を用いることによる同じアプローチが、プロテアーゼ、又は活性化可能抗体のＣＭに対して特異的な種類のプロテアーゼを同定するために使用され得る。いくつかの実施形態によれば、標的の存在は、標的、例えば別の抗体に対して特異的である剤を用いて確かめられ得るか、又は検出可能標識が標識されていない標的と競争され得る。いくつかの実施形態によれば、標識されていない活性化可能抗体が、標識された二次抗体又はより複雑な検出システムによる検出と共に使用され得る。

【０５７６】

類似する技法がまた、インビボイメージングのためにも有用であり、ここで対象、例えば哺乳類、例えばヒトにおける蛍光シグナルの検出は、疾患部位が標的を含み、そして活性化可能抗体のＣＭに対して特異的であるプロテアーゼを含むことを示唆する。

【０５７７】

それらの技法はまた、活性化可能抗体におけるプロテアーゼ特異的ＣＭに基づいて、種々の細胞、組織及び生物におけるプロテアーゼ活性の検出、同定又は特徴づけのために、キットに、及び／又は試薬としても有用である。

【０５７８】

いくつかの実施形態によれば、現場イメージング及び／又はインビボイメージングは、治療する患者を同定する方法において有用である。例えば、現場イメージングにおいては、活性化可能抗体が、適切な位置で、例えば腫瘍部位で、適切なプロテアーゼ及び標的を有するそれらの患者を同定するために患者サンプルをスクリーンするために使用される。

【０５７９】

いくつかの実施形態によれば、現場イメージングは、本開示の活性化可能抗体による治療のために適切な患者集団を同定するか、又は他方では、さらに絞り込むために使用される。例えば、標的、及び試験される活性化可能抗体（例えば、疾患部位で活性化された抗体を蓄積する）中の切断可能部分（ＣＭ）において基質を切断するプロテアーゼの両者について陽性である患者（例えば、疾患部位で、活性化された抗体を蓄積する）は、そのようなＣＭを含む活性化可能抗体による治療のための適切な候補体として同定される。同様に、それらの方法を用いて試験される、標的、及び活性化可能抗体中のＣＭにおいて基質を切断するプロテアーゼの何れか又は両者について陰性である患者は、別の形の治療のための適切な候補体として同定され得る（すなわち、試験される活性化可能抗体による治療のために適切でない）。いくつかの実施形態によれば、第１活性化可能抗体に関して陰性であるそのような患者は、治療のための適切な活性化可能抗体（例えば、疾患の部位で患者により切断されるＣＭを含む活性化可能抗体）が同定されるまで、異なったＣＭを含む他の活性化可能抗体により試験され得る。

【０５８０】

いくつかの実施形態によれば、インビボイメージングは、本開示の活性化可能抗体による治療のために適切な患者集団を同定するか、又は他方では、さらに絞り込むために使用される。例えば、標的、及び試験される活性化可能抗体中の切断可能部分（ＣＭ）において基質を切断するプロテアーゼの両者について陽性である患者（例えば、疾患部位で、活性化された抗体を蓄積する）は、そのようなＣＭを含む活性化可能抗体による治療のための適切な候補体として同定される。同様に、陰性である患者は、別の形の治療のための適切な候補体として同定され得る（すなわち、試験される活性化可能抗体による治療のために適切でない）。いくつかの実施形態によれば、第１活性化可能抗体に関して陰性であるそのような患者は、治療のための適切な活性化可能抗体（例えば、疾患の部位で患者により切断されるＣＭを含む活性化可能抗体）が同定されるまで、異なったＣＭを含む他の活性化可能抗体により試験され得る。

【０５８１】

医薬組成物

本開示の接合された抗体、活性化可能抗体、及び／又は接合された活性化可能抗体（ま

た、本明細書においては、「活性化合物」と称する）、及びその誘導体、フラグメント、類似体及び相同体が、投与のために適切な医薬組成物中に組込まれ得る。そのような組成物は、典型的には、接合された抗体、活性化可能抗体、及び／又は接合された活性化可能抗体及び医薬的に許容される担体を含む。本明細書において使用される場合、用語「医薬的に許容できる担体（pharmaceutically acceptable carrier）」とは、医薬投与と適合できる、何れか及びすべての溶媒、分散媒体、コーチング、抗菌及び抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤、及び同様のものを含むことが意図される。適切な担体は、参照により本明細書に組込まれる、この分解においては標準的参考テキストであるRemington’s Pharmaceutical Scienceの最新版に記載される。そのような担体又は希釈剤の適切な例は、水、生理食塩水、リンゲル液、デキストロース溶液、及び５％ヒト血清アルブミンを包含するが、但しそれらだけには限定されない。リポソーム及び非水性媒体、例えば固定油がまた使用され得る。医薬活性物質のためのそのような媒体及び剤の使用は、当業界においては良く知られている。任意の従来の媒体又は剤が活性化合物と不適合である場合を除き、組成物へのその使用が企画される。補助的な活性化合物も組成物に組み込まれ得る。

【０５８２】

本開示の医薬組成物は、その意図される投与経路と適合できるよう製剤化される。投与経路の例は、非経口、例えば、静脈内、皮内、皮下、経口（例えば、吸入）、経皮（すなわち、局所）、経粘膜、及び直腸投与を包含する。非経口、皮内又は皮下適用のために使用される溶液又は懸濁液は次の成分を含むことができる：滅菌希釈剤、例えば注射用水、生理食塩溶液、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール又は他の合成溶媒; 抗菌剤、例えばベンジルアルコール又はメチルパラベン; 酸化防止剤、例えばアスコルビン酸又は亜硫酸水素ナトリウム；キレート剤、例えばエチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）；緩衝液、例えば酢酸塩、硝酸塩又はリン酸塩、及び張性の調整のための薬、例えば塩化ナトリウム及びデキストロース。ｐＨは、酸又は塩基、例えば塩酸又は水酸化ナトリウムにより調節され得る。非経口製剤は、アンプル、使い捨て注射器、又はガラス又はプラスチックから製造される複数回投与バイアルに封入され得る。

【０５８３】

注射使用に適した医薬組成物は、無菌注射溶液又は分散液の即時調製のための無菌水溶液（水溶性）又は分散液、及び無菌粉末を含む。静脈内投与のためには、適切な担体は、生理食塩水、静菌水、Cremophor EL（登録商標）(BASF, Parsippany, N.J.)、又はリン酸緩衝溶液（ＰＢＳ）を包含する。すべての場合、組成物は、容易な注射針通過まで無菌で且つ流体であるべきである。それは、製造及び貯蔵の条件下で安定すべきであり、そして微生物、例えば細菌及び菌類の汚染作用に対して保存されるべきである。担体は、例えば水エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール及び液体ポリエチレングリコール及び同様のもの）及びそれらの適切な混合物を含む溶媒又は分散媒であり得る。適切な流動性は、例えばコーチング、例えばレシチンの使用により、分散液の場合、必要とされる粒度の維持により、及び界面活性剤の使用により維持され得る。微生物の作用の防止は、種々の抗菌剤及び抗真菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサール及び同様のものにより達成され得る。多くの場合、等張剤、例えば糖、ポリアルコール、例えばマンニトール、ソルビトール、塩化ナトリウムを組成物に含むことが適切であろう。注射用組成物の持続的吸収は、吸収を遅延する剤、例えばモノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンを、組成物に含むことによりもたらされ得る。

【０５８４】

無菌注射用溶液は、適切な溶媒中、必要とされる量での活性成分を、上記に列挙される成分の１つ又は組み合わせと共に組込むことにより、必要な場合、続いて、濾過滅菌により調整され得る。一般的に、分散液は、基本的分散媒及び上記の列挙されるそれらからの必要とされる他の成分を含む無菌ビークル中に活性化合物を組込むことにより調製される。無菌注射用溶液の調製のための無菌粉末の場合、調製方法は、活性成分及びその前もっ

て滅菌濾過された溶液からの任意の追加の所望する成分を生成する、真空乾燥及び凍結乾燥である。

【０５８５】

経口組成物は一般的に不活性希釈剤又は食用担体を含む。それらは、ゼラチンカプセルに封入されるか、又は錠剤に圧縮され得る。経口治療投与のためには、活性化合物は、賦形剤と共に組込まれ、そして錠剤、トローチ又はカプセルの形で使用される。経口組成物はまた、マウスウォッシュとして使用のための液体担体を用いて調製され得、ここで液体担体中の化合物は、経口適用され、そしてスウィッシュされ、そして吐き出されるか、又は飲み込まれる。医薬的に適合できる結合剤、及び／又はアジュバント材料は、組成物の一部として含まれ得る。錠剤、ピル、カプセル、トローチ及び同様のものは、次の成分の何れか、又は類似する性質の化合物を含むことができる：結合剤、例えば微晶性セルロース、トラガカントガム又はゼラチン；賦形剤、例えば澱粉又はラクトース；崩壊剤、例えばアルギン酸、プリモゲル又はコーンスターチ；滑剤、例えばステアリン酸マグネシウム又はSterotes；流動促進剤、例えばコロイド状二酸化珪素；甘味剤、例えばスクロース又はサッカリン；又は風味剤、例えばペパーミント、サリチル酸メチル、又はオレンジ香料。

【０５８６】

吸入による投与のためには、化合物は、適切な推進剤、例えばガス、例えば二酸化炭素を含む加圧された容器又はディスペンサー、又はネブライザーからエアロゾル噴霧の形で送達される。

【０５８７】

全身性投与はまた、経粘膜又は経皮手段によるものであっても良い。経粘膜又は経皮投与のためには、浸透されるべき障壁に適切な浸透剤が製剤に使用される。そのような浸透剤は一般的に当業界において知られており、そして例えば、経粘膜投与のためには、界面活性剤、胆汁酸塩及びフシジン酸誘導体を包含する。経粘膜投与は、鼻腔内スプレー又は坐剤の使用を介して達成され得る。経皮投与のためには、活性化合物は、当業界において一般的に知られているように、軟膏、膏薬、ゲル又はクリーム中に配合される。

【０５８８】

化合物はまた、直腸送達のために、坐剤（例えば、従来の製剤基材、例えばココアバター及び他のグリセリドを含む）又は保持浣腸の形で調製され得る。

【０５８９】

１つの実施形態によれば、活性化合物は、身体からの急速な排除に対して化合物を保護するであろう担体、例えば制御放出製剤、例えばインプラント及びマイクロカプセル化送達システムを用いて調製される。生分解性、生体適合性ポリマー、例えばエチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、及びポリ乳酸が使用され得る。そのような製剤の調製方法は、当業者に明らかであろう。材料はまた、Alza Corporation 及びNova Pharmaceuticals, Incから市販されている。リポソーム懸濁液（ウィルス抗原に対するモノクローナル抗体により、感染された細胞に標的化されたリポソームを含む）がまた、医薬的に許容される担体として使用され得る。それらは、米国特許第４，５２２，８１１号に記載されるように、当業者に知られている方法に従って調製され得る。

【０５９０】

投与の容易性及び投与量の均一性のための単位剤形で経口又は非経口組成物を製剤化することが特に好都合である。単位剤形とは、本明細書において使用される場合、治療される対象のための単位用量として適した物理的に別個の単位を意味し；各単位は、必要とされる医薬担体と関連して所望する治療効果を生成するよう計算された所定量の活性化合物を含む。本開示の単位剤形の仕様は、活性化合物のユニーク特徴及び達成されるべき特定の治療効果、及び個体の治療のためのそのような活性化合物を配合する技術的に固有の制限により決定され、そしてそれらに直接的に依存する。

【０５９１】

医薬組成物は、投与のための説明書と共に、容器、パック又はディスペンサーに含まれる。

【０５９２】

本発明は、さらに、次の実施例に記載されるが、但し、それらは本発明の範囲を制限するものではない。

【実施例】

【０５９３】

実施例１．本開示の基質を含むクエンチされたプローブを活性化するための滑液の能力

この実施例は、本開示のＭＭＰ基質配列を切断する滑液サンプルの能力を実証する。特に、ＭＭＰ切断可能配列を、評価されるＭＭＰ切断可能配列を含むリンカー領域を介して、抗－ＩＬ－６Ｒ抗体配列に連結されるマスキング部分を含む活性化可能抗体コンストラクトに関して試験した。

【０５９４】

次のＭＭＰ－切断可能抗体を、滑液と共にインキュベートした：

【０５９５】

$_{4792}$１０４１９$_{AV1}$ アミノ酸

【化６８】

QGQSGQYGSCSWNYVHIFMDCGS SGGSGGSGGSGISSGLSSGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQ
KPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASWCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV
TKSFNRGEC（配列番号１１５）

【０５９６】

４７９２^{10419}ＡＶ１ヌクレオチド

【化６９】

Caaggccagtctggccagtatgggtcctgcagttggaactatgtacacatattcatggatt gcggctcgagcggtggcagcg
gtggctctggtggctcaggtattagtagtggtcttagcag tggcggttctgacatccagatgactcagtctcctagctccct
gtccgcctctgtgggggac cgagtcaccatcacatgcagagccagccaggatatttctagttacctgaactggtatcagc a
gaagcccggaaaagcacctaagctgctgatctactatacctccaggctgcactctggcgt gcccagtcggttcagtggctca
gggagcggaaccgacttcacttttaccatctcaagcctg cagccagaggatattgccacatactattgtcagcagggcaata
cactgccctacacttttg gccaggggaccaaggtggaaatcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttccc gc
catctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttc tatcccagagaggccaaagtaca
gtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactccc aggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagc
ctcagcagcaccctgac gctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggc ctg
agctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt（配列番号１１６）

【０５９７】

４７９２^{559}ＡＶ１アミノ酸

【化７０】

QGQSGQYGSCSWNYVHIFMDCGSSGGSGGSGGSQNQALRMAGGSDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQDISSYLNWYQQ
KPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSL QPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASWCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC（配列番号１１７）

【０５９８】
４７９２^{559}ＡＶ１ ヌクレオチド
【化７１】

caaggccagtctggccagtatgggtcctgcagttggaactatgtacacatattcatggatt gcggctcgagcggtggcagcg
gtggctctggtggctcacagaatcaggcattacgtatggc aggcggttctgacatccagatgactcagtctcctagctccct
gtccgcctctgtgggggac cgagtcaccatcacatgcagagccagccaggatatttctagttacctgaactggtatcagc a
gaagcccggaaaagcacctaagctgctgatctactatacctccaggctgcactctggcgt gcccagtcggttcagtggctca
gggagcggaaccgacttcacttttaccatctcaagcctg cagccagaggatattgccacatactattgtcagcagggcaata
cactgccctacacttttg gccaggggaccaaggtggaaatcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttccc gc
catctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttc tatcccagagaggccaaagtaca
gtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactccc aggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagc
ctcagcagcaccctgac gctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggc ctg
agctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt（配列番号１１８）

【０５９９】
４７９２^{601}ＡＶ１アミノ酸
【化７２】

QGQSGQYGSCSWNYVHIFMDCGSSGGSGGSGGSAQNLLGMVGGSDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQDISSYLNWYQQ
KPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSL QPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG L
SSPVTKSFNRGEC（配列番号１１９）

【０６００】
４７９２^{601}ＡＶ１ヌクレオチド
【化７３】

Caaggccagtctggccagtatgggtcctgcagttggaactatgtacacatattcatggatt gcggctcgagcggtggcagcg
gtggctctggtggctcagcacagaatctgttaggtatggt aggcggttctgacatccagatgactcagtctcctagctccct
gtccgcctctgtgggggac cgagtcaccatcacatgcagagccagccaggatatttctagttacctgaactggtatcagc a
gaagcccggaaaagcacctaagctgctgatctactatacctccaggctgcactctggcgt gcccagtcggttcagtggctca
gggagcggaaccgacttcacttttaccatctcaagcctg cagccagaggatattgccacatactattgtcagcagggcaata
cactgccctacacttttg gccaggggaccaaggtggaaatcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttccc gc
catctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttc tatcccagagaggccaaagtaca
gtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactccc aggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagc
ctcagcagcaccctgac gctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggc ctg
agctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt（配列番号１２０）

【０６０１】
４７９２^{3457}ＡＶ１ アミノ酸

【化７４】

QGQSGQYGSCSWNYVHIFMDCGSSGGSGGSGGSSTFPFGMFGGSDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQDISSYLNWYQQ
KPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSL QPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASWCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC（配列番号１２１）

【０６０２】

４７９２^{3457}ＡＶ１ヌクレオチド

【化７５】

Caaggccagtctggccagtatgggtcctgcagttggaactatgtacacatattcatggatt gcggctcgagcggtggcagcg
gtggctctggtggctcaagtacatttccattcggtatgtt cggcggttctgacatccagatgactcagtctcctagctccct
gtccgcctctgtgggggac cgagtcaccatcacatgcagagccagccaggatatttctagttacctgaactggtatcagc a
gaagcccggaaaagcacctaagctgctgatctactatacctccaggctgcactctggcgt gcccagtcggttcagtggctca
gggagcggaaccgacttcacttttaccatctcaagcctg cagccagaggatattgccacatactattgtcagcagggcaata
cactgccctacacttttg gccaggggaccaaggtggaaatcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttccc gc
catctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttc tatcccagagaggccaaagtaca
gtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactccc aggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagc
ctcagcagcaccctgac gctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggc ctg
agctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt（配列番号１２２）

【０６０３】

４７９２^{3458}ＡＶ１ アミノ酸

【化７６】

QGQSGQYGSCSWNYVHIFMDCGSSGGSGGSGGSPVGYTSSLGGSDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQDISSYLNWYQQ
KPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSL QPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG L
SSPVTKSFNRGEC（配列番号１２３）

【０６０４】

４７９２^{3458}ＡＶ１ヌクレオチド

【化７７】

Caaggccagtctggccagtatgggtcctgcagttggaactatgtacacatattcatggatt gcggctcgagcggtggcagcg
gtggctctggtggctcacctgttggatatacgagtagtct gggcggttctgacatccagatgactcagtctcctagctccct
gtccgcctctgtgggggac cgagtcaccatcacatgcagagccagccaggatatttctagttacctgaactggtatcagc a
gaagcccggaaaagcacctaagctgctgatctactatacctccaggctgcactctggcgt gcccagtcggttcagtggctca
gggagcggaaccgacttcacttttaccatctcaagcctg cagccagaggatattgccacatactattgtcagcagggcaata
cactgccctacacttttg gccaggggaccaaggtggaaatcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttccc gc
catctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttc tatcccagagaggccaaagtaca
gtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactccc aggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagc
ctcagcagcaccctgac gctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggc ctg
agctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt（配列番号１２４）

【０６０５】
４７９２^{3463}ＡＶ１ アミノ酸
【化７８】

QGQSGQYGSCSWNYVHIFMDCGSSGGSGGSGGSDWLYWPGIGGSDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQDISSYLNWYQQ
KPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSL QPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG L
SSPVTKSFNRGEC（配列番号１２５）

【０６０６】
４７９２^{3463}ＡＶ１ ヌクレオチド
【化７９】

Caaggccagtctggccagtatgggtcctgcagttggaactatgtacacatattcatggatt gcggctcgagcggtggcagcg
gtggctctggtggctcagactggttatactggcctggtat tggcggttctgacatccagatgactcagtctcctagctccct
gtccgcctctgtgggggac cgagtcaccatcacatgcagagccagccaggatatttctagttacctgaactggtatcagc a
gaagcccggaaaagcacctaagctgctgatctactatacctccaggctgcactctggcgt gcccagtcggttcagtggctca
gggagcggaaccgacttcacttttaccatctcaagcctg cagccagaggatattgccacatactattgtcagcagggcaata
cactgccctacacttttg gccaggggaccaaggtggaaatcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttccc gc
catctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttc tatcccagagaggccaaagtaca
gtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactccc aggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagc
ctcagcagcaccctgac gctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggc ctg
agctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt（配列番号６６）

【０６０７】
活性化可能抗体活性化の程度を、滑液におけるインキュベーションに続いて、ＩＬ６Ｒへの抗－ＩＬ６Ｒ親抗体の結合に比較して、ヒトＩＬ６Ｒに結合する活性化可能抗体の能力を評価するＥＬＩＳＡ形式により決定した。手短に言えば、Ｎｕｎｃ Ｍａｘｉｓｏｒｐプレートを、ＰＢＳ（ｐＨ７．４）中、ヒトＩＬ６Ｒ（Ｒ ａｎｄ Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ、カタログ番号227-SR/CF）の５００－ｎｇ／ｍｌ溶液１００μｌ（ウェル当たり）により、４℃で一晩、被覆した。プレートを、ＰＢＳＴ（ＰＢＳ、ｐＨ７．４、０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０）により３度、洗浄した。次に、ウェルを、ＰＢＳＴ中、２％ＮＦＤＭ（脱脂粉乳）２００

μｌ（ウェル当たり）により、室温で２時間、ブロックした。ＩＬ６Ｒ－被覆されたプレートを、ＰＢＳＴ（ＰＢＳ、ｐＨ７．４、０．０５％　Ｔｗｅｅｎ－２０）により３度、洗浄した。各活性化可能抗体－滑液反応化合物の希釈系、及び親抗－ＩＬ６Ｒ抗体の希釈系を、ＩＬ６Ｒ－被覆されたＥＬＩＳＡプレートの適切なウェルに添加した。プレートを室温で１時間インキュベートし、そして次に、ＰＢＳＴ（ＰＢＳ，ｐＨ７．４　０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０）により３度、洗浄した。２％ＮＦＤＭ－ＰＢＳＴ中、ヤギ－抗－ヒトＩｇＧ（Ｆａｂ特異的、Ｓｉｇｍａカタログ番号Ａ０２９３）の１：３０００希釈溶液１００μｌ（ウェル当たり）を添加し、そしてプレートを、室温で１時間、インキュベートした。プレートを、ＰＢＳＴ（ＰＢＳ、ｐＨ７．４、０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０）により６度、洗浄し、そして次に、ＴＭＢ及び１ＮのＨＣｌにより展開した。

【０６０８】

表６は、この実験の結果を提供する。データは、表６における基質を含む抗－ＩＬ６Ｒ活性化可能抗体が、ＲＡ患者から得られた少なくともいくつかの滑液サンプル（ＳｙＦ）により切断されることを示唆する。

【０６０９】

【表２９】

表６．活性化可能抗体活性化

基質/配列	インビボでの活性化	ＳｙＦでの活性化	ＳｙＦでの発生
10419 ISSGLSS（配列番号１５９）	＜５％	＞３０％	3/3
559 QNQALRMA（配列番号１５）	＜５％	２０％	3/3
601 AQNLLGMV（配列番号１６）	＜５％	＞３０％	3/3
3457 STFPGMF（配列番号１７）	１０％	＞５０％	3/3
3458 PVGYTSSL（配列番号１８）	１０％	２０％	3/3
3463 DWLYWPGI（配列番号１９）	＜５％	＞３０％	3/3

【０６１０】

実施例２．腫瘍増殖を阻害するためのＭＭＰ－切断可能基質を有する活性化可能抗－ＥＧＦＲ抗体

この実施例は、アミノ酸配列ＣＩＳＰＲＧＣＰＤＧＰＹＶＭＹ（配列番号１６０）を含むマスキング部分、ＭＭＰ１４基質５２０（本明細書においては、ＭＮ５２０としても呼ばれる）ＩＳＳＧＬＬＳＳ（配列番号１４）を含む切断部分、及び抗－ＥＧＦＲ抗体Ｃ２２５ｖ５（ここで、完全な活性化可能抗体コンストラクトは、本明細書においてＰｂ－ＭＮ５２０とも呼ばれる）のＨ鎖（配列番号５６）及びＬ鎖（配列番号５９）を含む活性化可能抗－ＥＧＦＲ抗体の、Ｈ２９２異種移植肺癌モデルにおける腫瘍増殖を阻害する能力を示す。活性化可能抗体のＬ鎖の配置は、マスキング部分－ＭＭＰ基質－Ｃ２２５ｖ５のＬ鎖であった。

【０６１１】

図１Ａは、異なった時間で投与される、Ｐｂ－５２０（１２．５ｍｇ／ｋｇ、青の実線）及びＩＶＩＧ（１２．５ｍｇ／ｋｇ、緑の点線）を用いて処置されたＨ２９２異種移植腫瘍担持マウスに見られる効果を示すグラフである。データは、平均腫瘍体積±ＳＥＭとして表される。図１Ｂは、Ｈ２９２腫瘍担持マウスにおけるＰｂ－５２０活性化可能抗体の全身安定性を示すグラフである。血液サンプルを、７日目、眼窩後部採血を通して取り、そして基質５２０の循環安定性を、キャピラリー電気泳動（ＧＸＩＩ：Caliper LifeSciences）によるＩｇＧプル－ダウンの分析により決定した。切断された、及び切断されていないＬ鎖の濃度を、LabChip GXソフトウェア(Caliper LifeSciences)を用いて決定した。

【０６１２】
実施例３．材料及び方法
試薬及び菌株：ストレプタビジン－接合フィコエリトリン（ＳＡ－ＰＥ）（Invitrogen, Life Technologies）を、変性しないで使用した。ヒトＭＭＰ９（Research & Diagnostics Systems, Inc.）を、供給されるプロトコルに従って活性化し、そして変性しないで使用した。ヒトＭＭＰ１４（Research & Diagnostics Systems, Inc.）を、供給されるプロトコルに従って活性化し、そして変性しないで使用した。ヒトプラスミン（Haematologic Technologies Inc.を、変性しないで使用した。ヒトｔＰＡ（Molecular Innovations）を、変性しないで使用した。Ｍｏｎａ（単球アダプタータンパク質）のＳＨ３ドメインに融合されるＹＰｅを、ＹＰｅを、CytamX Therapeuticsで製造し、そして変性しないで使用した。ＭＭＰ１４緩衝液ＨＣＭ（５０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ６．８)、１０ｍＭの$CaCl_2$、０．５ｍＭの$MgCl_2$）を使用した。ＭＭＰ９緩衝液ＴＣＮＢ（５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ、１０ｍＭの$CaCl_2$、１５０ｍＭのＮａＣｌ、０．０５％(ｗ/ｖ)のＢｒｉｊ－３５、ｐＨ７．５）を使用した。プラスミン緩衝液(５０ｍＭのトリス－ＨＣｌｐＨ７．５、１００ｍＭのＮａＣｌ、０．０１％のＴｗｅｅｎ２０及び１ｍＭのＥＤＴＡを使用した。ＴＢＳＴ（５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ、１５０ｍＭのＮａＣｌ、０．０５％のＴｗｅｅｎ２０、ｐＨ７．４）を使用した。Ｅ．コリＭＣ１０６１(Casadaban et al、JMB 138(2): 179-207 (1980)を使用した。すべての細菌増殖を、別の構成物質が指定される限り、３４μｇ／ｍｌのクロラムフェニコールにより補充されたＬｕｒｉａ－Ｂｅｒｔａｎｉブイヨン（ＬＢ）中で、激しく振盪しながら、３７℃で行った。
【０６１３】
基質切断及びスカフォールド安定性分析：スクリーニング及びクローン分析のために、一晩の培養物を、新鮮な培地による希釈（１：５０）により継代培養し、そして１．５-２時間、増殖した。次に、継代培養物を、０．０４％のアラビノースにより誘発し、そして３７℃で４５分－１時間、振盪しながらインキュベートした。さらなる増殖を停止するために、細胞を、１５分－１時間、氷上でインキュベートした。細胞アリコートを収穫し、そしてＰＢＳ（ｐＨ７．４）により洗浄した。細胞を遠心分離によりペレット化し、上清液を除き、そして細胞を、酵素を含む反応緩衝液に再懸濁し；反応混合物を３７℃で静的にインキュベートした。反応を停止するために、細胞を除き、そしてＰＢＳにより１０倍に希釈し、遠心分離によりペレット化し、そして（ＣＬｉＰＳ）ＳＡ－ＰＥ（２０μｇ／ｍｌ）又はＹＰｅｔ－ＭＯＮＡ（５０ｎＭ）の何れかを含むＰＢＳに再懸濁した。氷上でのインキュベーション（３０分）の後、細胞をＰＢＳにより洗浄し、そしてＦＡＣＳＡｒｉａ（登録商標）細胞ソーターを用いて分析した。
【０６１４】
ＭＭＰ９プロテアーゼ切断分析のために、培養物を、４５分－１時間、誘発した。ＭＭＰ９のための反応緩衝液はＴＣＮＢであった。ＭＭＰ９加水分析のための圧政を実施し、その後、新鮮な細胞を、５ｎＭ－２５ｎＭのＭＭＰ９と共に１時間インキュベートした。基質部位を端に有する領域のバックグラウンド分析（２０１４年２月１３日、国際公開第２０１４／０２６１３６号として公開された、２０１３年８月９日、提出されたＰＣＴ特許出願ＵＳ１３／５４３７８号に記載されるプラットフォームeCLiPS3.0-NSUB_SPを用いる；それらの内容は、それらの全体が参照により本明細書に組込まれる）を、各反応条件下で測定し、加水分解が企画される基質領域に発生したことを確証した。
【０６１５】
ＭＭＰ１４プロテアーゼ切断分析のために、培養物を、４５分－１時間、誘発した。ＭＭＰ１４のための反応緩衝液はＨＣＭであった。３ｎＭ－２５０ｎＭのＭＭＰ１４との反応又は１時間後、ＭＭＰ１４加水分析のためのアッセイを実施した。基質部位を端に有する領域のバックグラウンド分析（本明細書に記載されるプラットフォームeCLiPS3.0-NSUB_SPを用いる）を、加水分解が企画される基質領域に発生したことを確証するために各反応条件下で測定した。

【０６１６】
ヒトプラスミン安定性アッセイのために、プラットフォームeCLiPS3.0-NSUB_SPを使用し；培養物を、４５分－１時間、誘発する。プラスミンのための反応緩衝液は、１００ｍＭのＮａＣｌ、０．０１％のＴｗｅｅｎ２０及び１ｍＭのＥＤＴＡにより補充された５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ（ｐＨ７．５）である。プラスミン加水分解についての分析を、プラスミンとの１時間の反応の後、実施する。
【０６１７】
ヒトｔＰＡ安定性アッセイのために、プラットフォームeCLiPS3.0-NSUB_SPを使用し；培養物を、４５分－１時間、誘発する。ｔＰＡのための反応緩衝液は、ＴＢＳＴである。ｔＰＡ加水分解についての分析を、ｔＰＡとの１時間の反応の後、実施する。
【０６１８】
アミノ及びカルボキシ末端標識条件：ストレプタビジン接合フィコエリトリン（ＳＡＰＥ）を、ＣＰＸのＮ－末端上でのストレプタビジン結合親和性リガンドを標識するために使用した。ＭｏｎａのＳＨ３ドメインに融合される蛍光タンパク質ＹＰｅｔを、ＣＰＸのＣ－末端上のＭＯＮＡ結合親和性リガンドを標識するために使用した。プロテアーゼ反応を伴わないでの細胞の最適な標識のために、細胞を、ＳＡＰＥ（２０μｇ／ｍｌ）又はＹＰｅｔ－ＭＯＮＡ（５０ｎＭ）と共に4℃で３０分間インキュベートした。記載される下記実験側については、３０分インキュベーションを使用した。
【０６１９】
キネティックデータ分析：細胞表面表示ペプチド基質の転換の程度を、フローサイトメトリーを用いて、直接的に測定し、プロテアーゼ処理に基づくクローン細胞集団の平均蛍光の変化を測定した。特に、各サンプルについて、転換は、下記関係を用いて、フローサイトメトリー分析により決定した：
【０６２０】
【数１】

$$\text{転換} = \frac{FL_{-} - FL_{+}}{FL_{-} - FL_{0}} \qquad [1]$$

【０６２１】
ここで（FL_{-}）は、酵素なしでのインキュベーションの後での蛍光であり、（FL_{+}）は、酸素とのインキュベーションの後での蛍光であり、そして（FL_{0}）は、標識されていない細胞の蛍光である。使用された予測される基質濃度が、有意に標的プロテアーゼのための基質の予測されるK_M以下である場合、ミカエリス・メンテンモデルは、下記のように単純になり：
【０６２２】
【数２】

$$\frac{d[S]}{dt} \approx -\frac{k_{cat}}{k_M}[S][E] \qquad [2]$$

【０６２３】
下記のように表される基質転換を可能にする：

【０６２４】
【数３】

$$\text{転換} = 1 - \exp\left(-\frac{k_{cat}}{k_M} \cdot [E] \cdot t\right) \qquad [3]$$

【０６２５】
ここで［Ｓ］は基質濃度であり、［Ｅ］は酵素濃度であり、そしてｔは時間である。二次速度定数（ｋcat／K_M）を決定するために、等式［３］が下記のように単純化された：

【０６２６】
【数４】

ｋcat／Ｋm＝－Ｉｎ（１－Ｃ）／（ｔ*ｐ）

【０６２７】
ここでＣは生成物転換であり、ｔは時間であり、そしてｐはプロテアーゼ濃度である。

【０６２８】
配列データ分析－指導されるファミリー：基質を、Ion Torrent（登録商標） 配列決定(例えば、Rothenberg, JM, Nature 475, 348-352を参照のこと)に提出した。生のIon Torrent読み取りは、ちょうどの可変ペプチド挿入体を得るために、不変ベクター配列が取られた。挿入体配列を翻訳し、そして終止コドンを有する配列を、さらなる分析のために除外した。各配列の頻度を、観察される全生存ペプチド読み取りから観察される回数により得た。配列の事前選択の頻度への各配列の事後選択の観察される頻度の比較により得た。個々の配列を、それらのデータから同定し、そして単離し、そして配列をCLC メイン lab (CLC Main Workbench 6.6.2、 オンラインで利用可能)において整列した。その整列ファイルは、Jalviewにインポートされ（例えば、Waterhouse, A. M., et ah, 2009, Bioinformatics 9, 1 189-1191を参照のこと）、そして平均距離ツリーを、ＢＬＯＳＵＭ６２アルゴリズム（S Henikoff S et al, 1992, Proc Natl Acad Sci U S A. 89, 10915-10919）を用いてアセンブルした。制限される配列グループは、目的の配列に最も近いクラスターメンバーを包含する。配列の拡張グループは、制限された配列グループ、及び最も近い共通祖先を共有する（適用できる）分岐メンバーを包含する。

【０６２９】
実施例４．プラットフォームスカフォールドにおける基質プールの選択及び特徴づけ
全細胞上への多コピー基質表示の使用は、ＭＭＰ９により切断された基質集団の選択を可能にした。選択は、組換えヒトＭＭＰ９を用いて、２０１０年２月２３日に発行された米国特許第７，６６６，８１７Ｂ２号に記載されるようにして実施された。基質部位を端に有する領域のバックグラウンド分析（プラットフォームeCLiPS3.0-NSUB_SPを用いる）を、加水分解が企画される基質領域に発生したことを確証するために各反応条件下で測定した。選択されたプールを、ＭＭＰ９及びＭＭＰ１４により試験した。図２Ａ及び２Ｂは、ＴＣＮＢ緩衝液中、５ｎＭでのＭＭＰ９によるプールＳＭＰ８７の切断を示す。

実施例５．プラットフォームスカフォールドにおける基質切断キネティックの特徴づけ

【０６３０】
全細胞上への多コピー基質表示の使用は、切断キネティックの単純且つ直接的な定量的

特徴づけを可能にした。結果的に、フローサイトメトリーを使用し、基質転換に基づいて個々の単離されたクローンをランク付けし、そしてクローンを、ＤＮＡ配列決定により同定した。このようにして、各クローンについての転換の程度を、いくつかの異なったプロテアーゼ濃度で決定し、そしてミカエリス・メンテンモデル（キネティックデータ分析セクション）に適合せしめる。観察された二次速度定数（ｋcat／K_M）を、ＭＭＰ９に対する各基質について決定した。基質部位を端に有する領域のバックグラウンド分析（プラットフォームeCLiPS3.0-NSUB_SPを用いる）を、加水分解が企画される基質領域に発生したことを確証するために各反応条件下で測定した。例えば、図３Ａ及び３Ｂは、ＴＢＳＴ中、５ｎＭのＭＭＰ９によるアミノ酸配列ＶＡＧＲＳＭＲＰ（配列番号４８４）を含む基質の切断を示す。

【０６３１】

実施例６．プラットフォームスカフォールドにおける次世代配列決定頻度と基質切断キネティックスの相互関係

富化された基質の最終プールを、Ion Torrent次世代配列決定を用いて配列決定した。生のIon Torrent読み取りは、ちょうどの可変ペプチド挿入体を得るために、不変ベクター配列が取られた。挿入体配列を翻訳し、そして終止コドンを有する配列を、さらなる分析のために除外した。クローン（広範囲の頻度を示す）の選択を、機能的分析のために行った。選択されたクローンを、ヒトＭＭＰ９により切断し、そしてｋcat／K_M）を個々について決定した。次に、プール内のクローンコピー数の対数を、ｋcat／K_Mの対数に対してプロットした。図４は、特定の切断部分の頻度（コピー数）と、ＭＭＰ９により切断されるそれらの能力（ＭＭＰ９ｋcat／$K_M M^{-1} s^{-1}$）との間の相互関係を示す。

【０６３２】

実施例７．プラットフォームスカフォールドにおける基質プールの選択及び特徴づけ

全細胞上への多コピー基質表示の使用は、ＭＭＰ１４により切断された基質集団の選択を可能にした。選択は、組換えヒトＭＭＰ１４を用いて、米国特許第７，６６６，８１７Ｂ２号に記載されるようにして実施された。基質部位を端に有する領域のバックグラウンド分析（プラットフォームeCLiPS3.0-NSUB_SPを用いる）を、加水分解が企画される基質領域に発生したことを確証するために各反応条件下で測定した。選択されたプールを、ＭＭＰ９及びＭＭＰ１４により試験した。図５Ａ及び５Ｂは、ＨＣＭ緩衝液中、６０ｎＭでのＭＭＰ１４によるプールＳＭＰ３９の切断を示す。

【０６３３】

実施例８．プラットフォームスカフォールドにおける基質切断キネティックの特徴づけ

全細胞上への多コピー基質表示の使用は、切断キネティックの単純且つ直接的な定量的特徴づけを可能にした。結果的に、フローサイトメトリーを使用し、基質転換に基づいて個々の単離されたクローンをランク付けし、そしてクローンを、ＤＮＡ配列決定により同定した。このようにして、各クローンについての転換の程度を、いくつかの異なったプロテアーゼ濃度で決定し、そしてミカエリス・メンテンモデル（キネティックデータ分析セクション）に適合せしめる。観察された二次速度定数（ｋcat／K_M）を、ＭＭＰ１４に対する各基質について決定した。基質部位を端に有する領域のバックグラウンド分析（プラットフォームeCLiPS3.0-NSUB_SPを用いる）を、加水分解が企画される基質領域に発生したことを確証するために各反応条件下で測定した。例えば、図６Ａ及び６Ｂは、ＨＣＭ緩衝液中、３０ｎＭのＭＭＰ１４によるアミノ酸配列ＱＮＱＡＬＲＭＡ（配列番号１５）を含む基質の切断を示す。

【０６３４】

実施例９．活性化可能抗体におけるインビトロ基質活性

この実施例は、本開示の基質が活性化可能抗体中に組込まれる場合、それらの基質のインビトロ活性を示す。

【０６３５】

この研究で同定されるいくつかの基質を、３９５４マスク細胞／及びセツキシマブのＣ２２５ｖ５変異体（国際公開番号２０１３／１６３６３１に記載され；それはその全体を

参照により本明細書に組込まれる）を有する活性化可能抗体中に挿入した。

【０６３６】

その得られる活性化可能抗体における基質のＭＭＰ９又はＭＭＰ１４により切断される能力を、次の通りに決定した。ＭＭＰ９プロテアーゼ消化を、ＴＣＮＢ、５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ、１０ｍＭの$CaCl_2$、１５０ｍＭのＮａＣｌ、０．０５％（ｗ/ｖ）のＢｒｉｊ－３５、pH 7.5において実施した。ＭＭＰ１４消化を、５０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ６．８）、１０ｍＭの$CaCl_2$、０．５ｍＭの$MgCl_2$において実施した。種々の濃度の活性部位滴定ＭＭＰ９又はＭＭＰ１４と、固定された濃度の活性化可能抗体とを組合し、プロテアーゼに対する基質の比率を５０に維持した。ＭＭＰ９基質を含むサンプルを、３７℃で２４時間までインキュベートした。ＭＭＰ１４基質を含むサンプルを、３７℃で４時間インキュベートした。反応を停止するために、５μｌの消化物を、２０ｍＭの２－メルカプトエタノールを含むHt Protein Express Sample Buffer (Caliper LifeSciences)７μｌに、９５℃で１０分間にわたって添加した。熱変性の後、３２μｌのddH_2Oを添加し、そしてサンプルを、LabChip GXII上で、その製造業者の説明書に従って分析した。LabChip GXIIソフトウェアを用いて、Ｌ鎖ピーク領域を定量化した。生成物転換を、次の等式中にＬ鎖ピーク領域を挿入することにより計算した：切断されたＬＣ（切断されたＬＣ＋切断されていないＬＣ）、ＬＣ＝Ｌ鎖。ｋcat／K_M値を、次の等式により決定した：

【０６３７】

【数５】

$$kcat/Km = -In(1-C)/(t*p)$$

【０６３８】

ここで、Ｃは生成物転換であり、ｔは時間（秒）であり、そしてｐはプロテアーゼ濃度（Ｍ）であり、これは、基質濃度がＫｍ以下であり、そしてプロテアーゼ濃度を越えていることを想定している。

【０６３９】

ＭＭＰ１４による切断について試験されたＭＭＰ１４による切断のために選択された基質を含む、得られる活性化可能抗体は、ＭＭＰ１４について約４００～６０，０００$M^{-1}s^{-1}$の範囲のｋcat／K_M値を有した。ＭＭＰ９による切断について試験されたＭＭＰ９による切断のために選択された基質を含む、得られる活性化可能抗体を、ＭＭＰ９により切断した。

【０６４０】

実施例１０．インビボでの活性化可能抗体の基質安定性

この実施例は、本開示の基質が活性化可能中に組込まれ、そしてマウス中に注入される場合のそれらの基質のインビボ安定性を示す。

【０６４１】

３匹のヌードマウス（Crl：NU－Foxnlnu）は、０日目、１２．５ｍｇ/ｋｇで、それぞれ活性化可能抗体の単一ＩＰ投与を受けた。マウスは、CO_2窒息により、４日目（投与後、約９６時間）、安楽死させ、そして血液を、血漿－ＥＤＴＡとして、すぐに集め、そして－８０℃で貯蔵した。

【０６４２】

活性化可能抗体を、磁気ビーズを用いて、抗－ヒトＩｇＧ免疫沈澱により血漿から精製した。溶出された活性化可能抗体を、ｋcat／K_Mセクションに記載されるようにして、キャピラリー電気泳動による分析のために調製した。手短には、５μｌの溶出されたＩｇＧを、７μｌのタンパク質発現サンプル緩衝液に、２－メルカプトエタノールと共に添加した。循環安定性の定量化は、生成物転換の定量化と同一であった。

【０６４３】
ＭＭＰ１４による切断のために選択された本開示の基質を含む１０個の活性化可能抗体のうち、７個は、採血された血漿サンプルにおいて２０％未満の切断を示した。ＭＭＰ９による切断のために選択された本開示の基質を含む７個の活性化可能抗体のうち、４個は、採血された血漿サンプルにおいて２０％以下の切断を示した。
【０６４４】
実施１１．材料及び方法
試薬及び菌株：ヒトＭＭＰ９（カタログ番号９１１－ＭＰ、Research & Diagnostics Systems, Inc.）を、提供されたプロトコルに従って活性化し、そして変性なしに使用した。ヒトＭＭＰ１４（カタログ番号９１８－Ｍ、Research & Diagnostics Systems, Inc.）を、提供されたプロトコルに従って活性化し、そして変性なしに使用した。ヒトプラスミン（カタログ番号ＨＣＰＭ－０１４０、Haematologic Technologies Inc.）を、変性しないで使用した。抗－ＥＥモノクローナル抗体（Covance, Princeton, NJ）を、Alexa647 (Life Sciences)により標識し、そして他の変性なしに使用した（ＥＥ６４７と称する）。Ｅ．コリＭＣ１０６１又はＭＣ１０６１由来の菌株（ＤＨ１０β）を、すべての実験のために使用した（Casadaban et al., JMB 138(2): 179-207 (1 80)）。すべての細菌増殖を、別の抗生物質が特定されない限り、３４μｇ／ｍｌのクロラムフェニコール（ｃｍ）により補充されたLuria－Bertaniブイヨン（ＬＢ）において、激しい振盪下で３７℃で実施した。
【０６４５】
ディスプレイプラットフォーム：本実施形態の８－アミノ酸基質を含むようそれぞれ構築されたディスプレイプラットフォームを、２０１４年２月１３日に公開された国際公開番号第２０１４／０２６１３６号（この内容は、それらの全体が参照により本明細書に組込まれる）に記載されるようにして、生成し、そして使用した。成熟（すなわち、シグナルペプチドを有さない）ＣＹＴＸ－ＤＰ－ＸＸＸＸＸＸＸＸディスプレイプラットフォーム（配列番号５１２）のアミノ酸配列が、図７Ａに示されている。ＸＸＸＸＸＸＸＸ（配列番号５１４）は、各基質が挿入される位置を示す。そのシグナルペプチドもまた含むＣＹＴＸ－ＤＰ－ＸＸＸＸＸＸＸＸ（配列番号５１２）ディスプレイプラットフォーム、すなわちＳＰ－ＣＹＴＸ－ＤＰ－ＸＸＸＸＸＸＸＸ（配列番号５１３）ディスプレイプラットフォームのアミノ酸配列が、図７Ｂに示される。
【０６４６】
ＣＹＴＸ－ＤＰ－ＸＸＸＸＸＸＸＸのディスプレイプラットフォーム：
【化８０】

GQSGQEYMPMEGGSGQXXXXXXXXSGGQGGSGGSGGSGGSGGSAYYGITAGPAYRINDWASIYGVVG VGYGSGPGGSYGFSY
GAGLQFNP ENVALDFSYEQSRIRSVDVGTWILSVGYRFGSKSRRATSTVTGGYAQSDAQGQMNKMGGFNLKYRYEEDNSPLG
VIGSFTYTGGSGGSSGQAAAGHHHHHHHH（配列番号５１２）

【０６４７】
ＳＰ－ＣＹＴＸ－ＤＰ－ＸＸＸＸＸＸＸＸディスプレイプラットフォーム：
【化８１】

MKKIACLSALAAVLAFTAGTSVAGQSGQEYMPMEGGSGQXXXXXXXXSGGQGGSGGSGGSGGSGGSA YYGITAGPAYRINDW
ASIYGWGVGYGSGPGGSYGFSYGAGLQFNP ENVALDFSYEQSRIRSVDVGTWILSVGYRFGSKSRRATSTVTGGYAQSDAQG
QMNKMGGFNLKYRYEEDNSPLGVIGSFTYTGGSGG SSGQAAAGHHHHHHHH（配列番号５１３）

【０６４８】
基質切断及び切断キネティクス分析：クローン分析のために、一晩の培養物を、新鮮な

培地による希釈（１：４０）により継代培養し、そして１．５-２時間、増殖した。次に、継代培養物を、０．０４％のアラビノースにより誘発し、そして３７℃で４０分－１時間、振盪しながらインキュベートした。さらなる増殖を停止するために、細胞を、１５分－１時間、氷上でインキュベートした。細胞アリコートを収穫し、そしてＰＢＳ（ｐＨ７．４）により洗浄した。細胞を遠心分離によりペレット化し、上清液を除き、そして細胞を、酵素を含む反応緩衝液に再懸濁し；反応混合物を３７℃で振盪しながらインキュベートした。反応を停止するために、細胞を除き、そしてＰＢＳにより１０倍に希釈し、遠心分離によりペレット化し、そしてＥＥ６４７（２０μｇ／ｍｌ）を含むＰＢＳに再懸濁した。氷上でのインキュベーション（１時間）の後、細胞をＰＢＳにより洗浄し、そしてＡｃｃｕｒｉ Ｃ6細胞ソーターを用いて分析した。

【０６４９】

ＭＭＰ９プロテアーゼ切断アッセイのために、培養物を４５分間、誘発した。ＭＭＰ９のための反応緩衝液は、１５０ｍＭの ＮａＣｌ、１０ｍＭ のＣａＣｌ$_2$ 及び０．０５％（ｗ/ｖ）の Ｂｒｉｊ－３５により補充された、５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ（ｐＨ７．４）であった。ＭＭＰ９加水分解についてのアッセイを、５ｎＭ－１５０ｎＭのＭＭＰ９による１時間の切断の後、実施した。基質部位を端に有する領域のバックグラウンド加水分解（例えば、ＣＹＴＸ－ＤＰ－ＮＳＵＢ、すなわち「基質」が非切断可能リンカーＧＧＳＧＧＧＳ（配列番号５１５）であるディスプレイプラットフォームを用いる）を、加水分解が企画される基質領域において発生したことを確保するために各反応条件下で測定した。

【０６５０】

ＭＭＰ１４プロテアーゼ切断アッセイのために、培養物を４５分間、誘発した。ＭＭＰ１４のための反応緩衝液は、１０ｍＭ のＣａＣｌ$_2$ 及び ０．５ ｍＭ のＭｇＣｌ$_2$により補充された、５０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ６．８）であった。ＭＭＰ１４加水分解についてのアッセイを、５ｎＭ－１５０ｎＭのＭＭＰ１４による１時間の切断の後、実施した。基質部位を端に有する領域のバックグラウンド加水分解（例えば、ＣＹＴＸ－ＤＰ－ＮＳＵＢを用いる）を、加水分解が企画される基質領域において発生したことを確保するために各反応条件下で測定した。

【０６５１】

ヒトプラスミン安定性アッセイのために、培養物を４５分間、誘発した。プラスミンのための反応緩衝液は、１００ ｍＭ のＮａＣｌ、０．０１％のＴｗｅｅｎ２０及び １ｍＭ のＥＤＴＡにより補充された、５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ（ｐＨ７．４）であった。プラスミン加水分解についてのアッセイを、５００ｐＭのプラスミンによる１時間の切断の後、実施した。基質部位を端に有する領域のバックグラウンド加水分解（例えば、ＣＹＴＸ－ＤＰ－ＮＳＵＢを用いる）を、加水分解が企画される基質領域において発生したことを確保するために各反応条件下で測定した。

【０６５２】

アミノ及びカルボキシル末端標識条件：Ａｌｅｘａ－６４７接合抗－ＥＥ抗体（ＥＥ６４７）を、ＣＹＴＸ－ＤＰディスプレイプラットフォームのＮ－末端上にＥＥ結合親和性リガンドを標識するために使用した。Ａｌｅｘａ－６４７接合抗－Ｈｉｓ抗体（Ｈｉｓ６４７）を、ＣＹＴＸ－ＤＰディスプレイプラットフォームのＣ－末端上に８Ｈｉｓ結合親和性リガンドを標識するために使用した。プロテアーゼ反応を伴わないでの細胞の最適切な標識のために、細胞を、ＥＥ６４７（２０μｇ／ｍｌ）又はＨｉｓ６４７（２μｇ／ｍｌ）と共に、４℃で１時間インキュベートした。下記実施例のために、１時間のインキュベーションを使用した。

【０６５３】

キネティックデータ分析：細胞表面表示ペプチド基質の転換の程度を、フローサイトメトリーを用いて、直接的に測定し、プロテアーゼ処理に基づくクローン細胞集団の平均蛍光の変化を測定した。特に、各サンプルについて、転換は、下記関係を用いて、フローサイトメトリー分析により決定した：

【０６５４】
【数６】

$$\text{転換}_{\text{CLiPS}} = \frac{FL_{-} - FL_{+}}{FL_{-} - FL_{0}} \qquad [1]$$

【０６５５】
ここで（ＦＬ₋）は、酵素なしでのインキュベーションの後での蛍光であり、（ＦＬ₊）は、酸素とのインキュベーションの後での蛍光であり、そして（ＦＬ$_0$）は、標識されていない細胞の蛍光である。使用された予測される基質濃度が、有意に標的プロテアーゼのための基質の予測されるＫ$_M$以下である場合、ミカエリス・メンテンモデルは、下記のように単純になり：
【０６５６】
【数７】

$$\frac{d[S]}{dt} \approx -\frac{k_{cat}}{k_M}[S][E] \qquad [2]$$

【０６５７】
下記のように表される基質転換を可能にする：
【０６５８】
【数８】

$$\text{転換}_{\text{MM}} = 1 - \exp\left(-\frac{k_{cat}}{k_M}[E]\cdot t\right) \qquad [3]$$

【０６５９】
ここで［Ｓ］は基質濃度であり、［Ｅ］は酵素濃度であり、そしてｔは時間である。二次速度定数（ｋcat／Ｋ$_M$）を決定するために、各基質のための時間依存性転換は、等式［３］適合された。
【０６６０】
実施例１２．ＣＹＴＸ－ＤＰディスプレイプラットフォームにおける基質切断性の特徴づけ
この実施例は、プラスミンによらないで、ＭＭＰにより切断される、本実施形態の基質の能力を示す。
【０６６１】
全細胞上への多コピー基質表示の使用は、切断キネティックの単純且つ直接的な定量的特徴づけを可能にした。基質をコードするクローンを、ＤＮＡ配列決定により同定し、そしてＣＹＴＸ－ＤＰディスプレイプラットフォーム中にサブクローン化し、結果的に、その発現されたディスプレイプラットフォームは、ＸＸＸＸＸＸＸＸ（配列番号５１４）の代わりに、８－アミノ酸基質を含んだ。個々の基質表示クローン（全部で１２７の独立し

た基質含有ディスプレイプラットフォーム）を、ＭＭＰ９又はＭＭＰ１４（標的プロテアーゼ、すなわち基質を選択するために使用されるプロテアーゼ）の何れか及びプラスミン（標的外プロテアーゼ）による切断について評価し；ターンオーバーを、フローサイトメトリーにより決定した。３１のＭＭＰ９－選択された基質を、アミノ酸配列番号１７、１８、１９、２０、２１、２２又は ２３を含む基質の源であった同じプール（プールからのＭＭＰ９基質）から選択した。９のＭＭＰ９－選択された基質は、コンセンサスアミノ酸配列番号３２８、３３６、３３７、３３８、３３９、３４８、３４９、３５０ 又は３５１（ＭＭＰ９コンセンサス配列）を含む。３８のＭＭＰ１４－選択された基質を、アミノ酸配列番号１４、１５、１６、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０又は３３を含む基質の源であった同じプール（第１プールからのＭＭＰ１４基質）から選択した。１０のＭＭＰ１４－選択された基質を、アミノ酸配列番号３１又は３２を含む基質の源であった同じプール（第２プルからのＭＭＰ１４基質）から選択した。３９のＭＭＰ１４－選択された基質を、コンセンサスアミノ酸配列番号３６４－３７０、３７９－３９３、４０２－４０９、４２０－４２４、４３４－４３５、４５０－４５２、４５７、４７０－４７２、４７４又は４８３（ＭＭＰ１４コンセンサス配列）から選択した。

【０６６２】

このようにして、各クローンについての切断の程度を決定し、そしてデータを集約し、標的プロテアーゼにより切断されるクローンの％及標的外プロテアーゼにより切断されないクローンの％を決定した。基質部位を端に有する領域のバックグラウンド加水分解（例えば、ＣＹＴＸ－ＤＰ－ＮＳＵＢを用いる）を、加水分解が企画される基質領域において発生したことを確保するために各反応条件下で測定した。結果を、表９に提供する。

【０６６３】

【表３０】

表９．基質切断性の統計学的要約

発見努力	基質グループ	５０ｎＭのＭＭＰ９又はＭＭＰ１４による＞２０％の切断	５００ｐＭのプラスミンによる＜２０％の切断
ＭＭＰ９－選択された基質	試験されるすべてのＭＭＰ９基質	３５％（１４/４０）	８５％（３４/４０）
	プールからのＭＭＰ９基質	３９％（１２/３１）	８２％（２６/３１）
	ＭＭＰ９コンセンサス基質	２２％（２/９）	８９％（８/９）
ＭＭＰ１４－選択された基質	試験されるすべてのＭＭＰ１４基質	８５％（７４/８７）	９４％（８２/８７）
	第１プール及び第２プールからのＭＭＰ１４基質	７９％（３８/４８）	９４％（４５/４８）
	第１プールからのＭＭＰ１４基質	７９％（３０/３８）	９５％（３６/３８）
	第２プールからのＭＭＰ１４基質	８０％（８/１０）	１００％（９/１０）
	ＭＭＰ１４コンセンサス基質	９２％（３６/３９）	９５％（３７/３９）
組合されたＭＭＰ９及びＭＭＰ１４	合計	６９％（８８/１２７）	９１％（１１６/１２７）

【０６６４】

表９は、（ａ）１５０ ｍＭの ＮａＣｌ、１０ ｍＭ のＣａＣｌ$_2$ 及び０．０５％（

ｗ/ｖ）のＢｒｉｊ－３５により補充された、５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ（ｐＨ７．４）中で、３７℃で１時間、５０ｎＭのヒトＭＭＰ９（カタログ番号９１１－ＭＰ、Research & Diagnostics Systems, Inc.、供給されるプロトコルに従って活性化され、そして変性なしに使用される）と共にインキュベートされる場合、少なくとも２０％の切断率を示した、ＣＹＴＸ－ＤＰディスプレイプラットフォームにおいて試験されたＭＭＰ９－選択された基質の％（５０ｎＭのＭＭＰ９に関しては＞２０％の切断率）；（ｂ）１０ｍＭのＣａＣｌ$_2$及び０．０ｍＭのＭｇＣｌ$_2$により補充された、５０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ６．８）中で、３７℃で１時間、５０ｎＭのヒトＭＭＰ１４（カタログ番号９１８－ＭＰ、Research & Diagnostics Systems, Inc.、供給されるプロトコルに従って活性化され、そして変性なしに使用される）と共にインキュベートされる場合、少なくとも２０％の切断率を示した、ＣＹＴＸ－ＤＰディスプレイプラットフォームにおいて試験されたＭＭＰ１４－選択された基質の％（５０ｎＭのＭＭＰ１４に関しては＞２０％の切断率）；及び（ｃ）１００ｍＭのＮａＣｌ、０．０１％のＴｗｅｅｎ２０及び１ｍＭのＥＤＴＡにより補充された、５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ（ｐＨ７．４）中で、３７℃で１時間、５００ｐＭのヒトプラスミン（カタログ番号ＨＣＰＭ－０１４０、Haematologic Technologies, Inc.、変性しないで使用される）と共にインキュベートされる場合、２０％未満の切断率を示した、ＣＹＴＸ－ＤＰディスプレイプラットフォームにおいて試験された、ＭＭＰ９－選択された、又はＭＭＰ１４－選択された基質の％を示す。

【０６６５】

実施例１３．ＣＹＴＸ－ＤＰディスプレイプラットフォームにおける基質切断キネティックスの特徴づけ

この実施例は、種々の基質の切断キネティックスを示す。

【０６６６】

全細胞上への多コピー基質表示の使用は、切断キネティックスの単純且つ直接的な定量的特徴づけを可能にした。クローンを、ＤＮＡ配列決定により同定し、そして前述の実施例に記載のようにして、ＣＹＴＸ－ＤＰ－ＸＸＸＸＸＸＸＸ（配列番号５１２）ディスプレイプラットフォーム中にサブクローン化した。７２の個々の基質－表示クローンを、切断について評価し、そしてそのサブセットを選択し、それらの標的プロテアーゼによる切断キネティックスを評価した。各クローンについての転換の程度を、いくつかの異なったプロテアーゼ濃度で決定し、そして本明細書に記載されるミカエリス・メンテンモデルに適合せしめた。次に、観察されたｋcat／Ｋ$_M$値を、基質プール内のクローンの頻度に対してプロットし、そして頻度とｋcat／Ｋ$_M$との間の相互関係が見出される。基質部位を端に有する領域のバックグラウンド加水分解（例えば、ＣＹＴＸ－ＤＰ－ＮＳＵＢを用いる）を、加水分解が企画される基質領域において発生したことを確保するために各反応条件下で測定した。結果を、表１０に提供する。

【０６６７】

【表３１】

表１０．基質キネティックスの統計学的要約

	基質グループ	標的プロテアーゼ K_{cat}/K_M ＞１×10E2	標的プロテアーゼ K_{cat}/K_M ＞１×10E3	標的プロテアーゼ K_{cat}/K_M ＞１×10E4
ＭＭＰ９基質	試験されるすべてのＭＭＰ９基質	１００％（１６/１６）	１００％（１６/１６）	６３％（１０/１６）
	プールからのＭＭＰ９基質	１００％（１５/１５）	１００％（１５/１５）	６７％（１０/１５）
	ＭＭＰ９コンセンサス基質	１００％（１/１）	１００％（１/１）	０％（０/１）
ＭＭＰ１４基質	すべてのＭＭＰ１４	１００％（５５/５５）	９８％（５４/５５）	３６％（２０/５５）
	第１プール及び第２プールからのＭＭＰ１４基質	１００％（４７/４７）	９８％（４６/４７）	３６％（１７/４７）
	第１プールからのＭＭＰ１４基質	１００％（３８/３８）	１００％（３８/３８）	３９％（１５/３８）
	第２プールからのＭＭＰ１４基質	１００％（９/９）	８９％（８/９）	２２％（２/９）
	ＭＭＰ１４コンセンサス基質	１００％（８/８）	１００％（８/８）	３８％（３/８）
組合されたＭＭＰ９及びＭＭＰ１４	合計	１００％（７１/１７１）	９９％（７０/７１）	４２％（３０/７１）

【０６６８】

実施例１４．ＭＭＰ基質を含む活性化可能抗体のインビボ効能及び現場活性化

この実施例は、本実施形態のＭＭＰ基質を含む活性化可能抗体がインビボで効果的であることを実証する。この実施例はまた、そのような活性化可能抗体が、２０１４年７月１０日に公開された国際公開第２０１４／１０７５５９号（この内容は、参照により本明細書に組込まれる）に記載されるように、現場イメージングアッセイにおいて活性可能であることも実証する。本実施形態の異なったＭＭＰ基質を含む６種の活性化可能抗体（１つのＭＭＰ９－選択された及び５つのＭＭＰ１４－選択された）を、Ｈ２９２異種移植腫瘍担持（肺癌）マウスに、１０ｍｇ／ｋｇ又は１２．５ｍｇ／ｋｇで投与した。すべての６種の活性化可能抗体はまた、アミノ酸配列ＣＩＳＰＲＧＣＰＤＧＰＹＶＭＹ（配列番号１６０）を含むマスキング部分、及びＬ鎖（配列番号５９）及びＨ鎖（配列番号５６）を含む抗－ＥＧＦＲ抗体Ｃ２２５ｖ５抗体を含んだ。活性化可能抗体のＬ鎖の配置は、マスキング部分－ＭＭＰ基質－Ｃ２２５ｖ５のＬ鎖であった。すべての６種の活性化可能抗体は、平均％Δ阻害率により測定される場合、２２％～８１％の範囲の腫瘍増殖阻害率を示した。平均％Δ阻害率は、（平均（Ｃ）－平均（Ｃ０））－平均（Ｔ０））／（平均（Ｃ）－平均（Ｃ０））*１００（ここで、Ｔは現試験グループ値であり、Ｔ０は現試験グループ初期値であり、Ｃは対照グループであり、そしてＣ０は対照グループ初期値である）として計算される。ＥＧＦＲ抗体セツキシマブは、この研究において９６－９８％の阻害率を示した。

【０６６９】

同じ６種の活性化可能抗体を、国際公開第２０１４／１０７５５９号の実施例に記載される条件を用いて、Ｈ２９２腫瘍組織の現場イメージングアッセイに提供した。すべての６種の活性化可能抗体を活性化し、すべての６種のＭＭＰ基質を切断し、そして放出された抗体は、腫瘍組織上のＥＧＦＲに結合したことを実証する。染色シグナルは、セツキシマブのＩＨＣシグナル強度の１５％～６５％の範囲であった。一般的に、各活性化可能抗

体の活性化の％は、活性化可能抗体がＨ２９２マウスモデルにおいて示される効能との正の相互関係を示した。

【０６７０】

１０人のトリプルネガティブ乳癌患者からの組織を、国際公開第２０１４／１０７５５９号の実施例に記載される条件下で、ＭＭＰ１４－選択された基質を含む抗－Ｊａｇｇｅｄ活性化可能抗体（例えば、２０１３年１２月２７日に公開された国際公開第２０１３／１９２５５０号に引用される抗－Ｊａｇｇｅｄ活性化可能抗体；それらの全体が参照により本明細書に組込まれる）を用いて現場イメージングに提供した。１０の組織サンプルのうち９種は、セツキシマブのＩＨＣシグナル強度に比較して、１５％～１００％の範囲の活性化可能抗体活性化染色標点を示した。１０の組織サンプルのうち８種は、セツキシマブのＩＨＣシグナル強度に比較して、３０％～１００％の範囲の活性化可能抗体活性化染色評点を示した。

【０６７１】

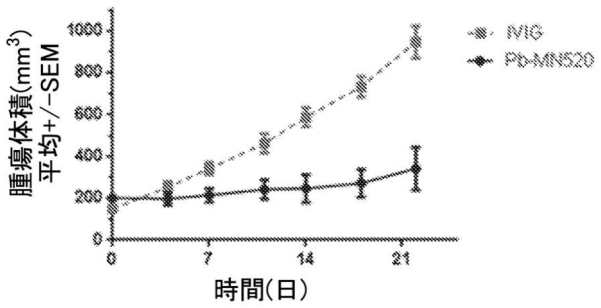
他の実施形態

本発明はその詳細な説明と併せて説明して来たが、前述の説明は例示であって、特許請求の範囲を限定するものではない。他の側面、利点及び修飾は、添付の特許請求の範囲内である。

【図面】

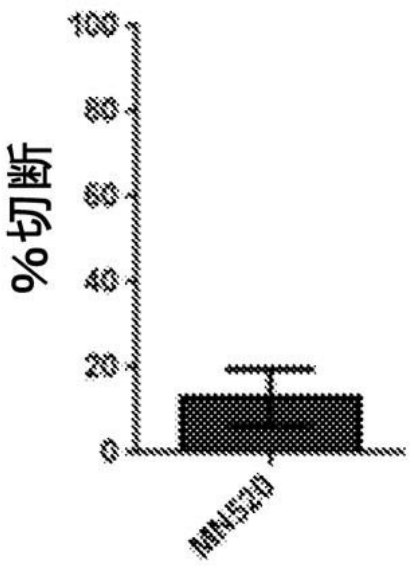
【図１Ａ】

FIGURE 1A



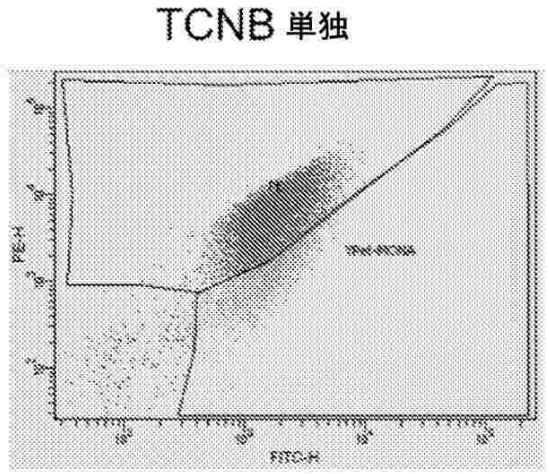
【図１Ｂ】

FIGURE 1B



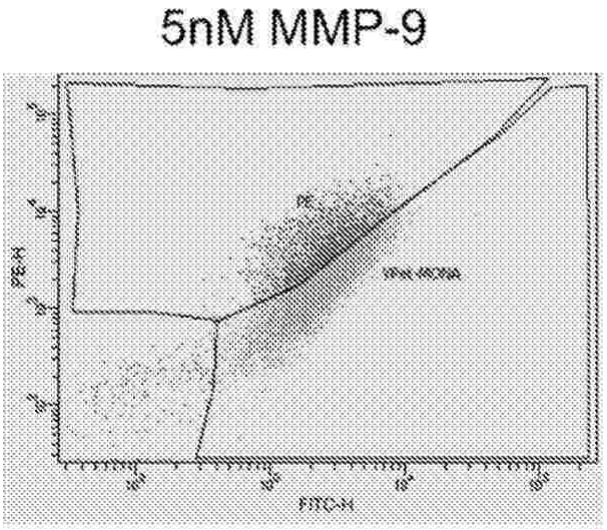
【図２Ａ】

FIGURE 2A



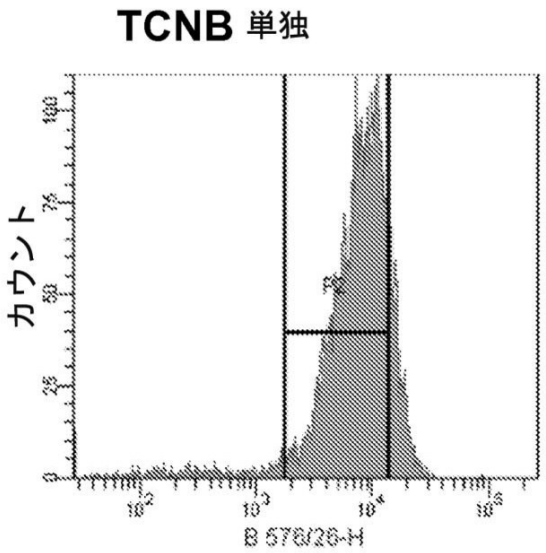
【図２Ｂ】

FIGURE 2B



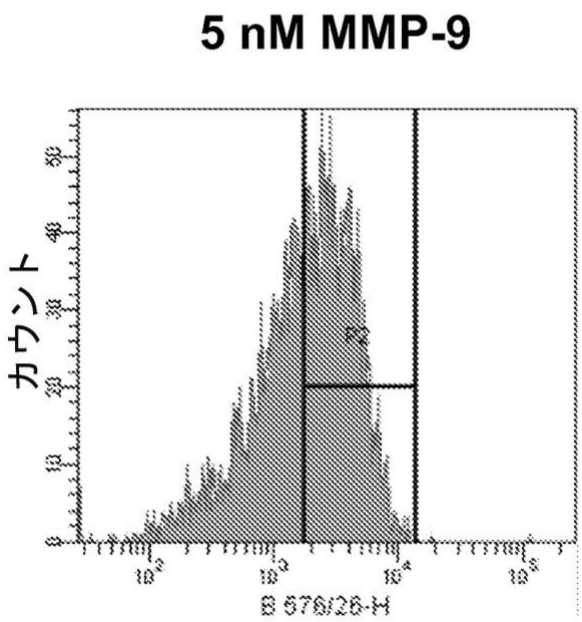
【図３Ａ】

FIGURE 3A



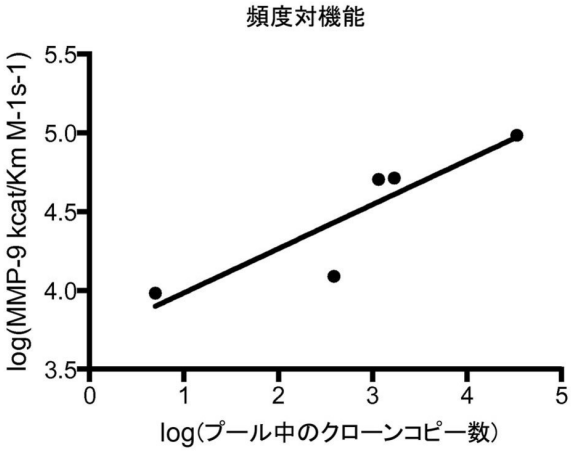
【図３Ｂ】

FIGURE 3B



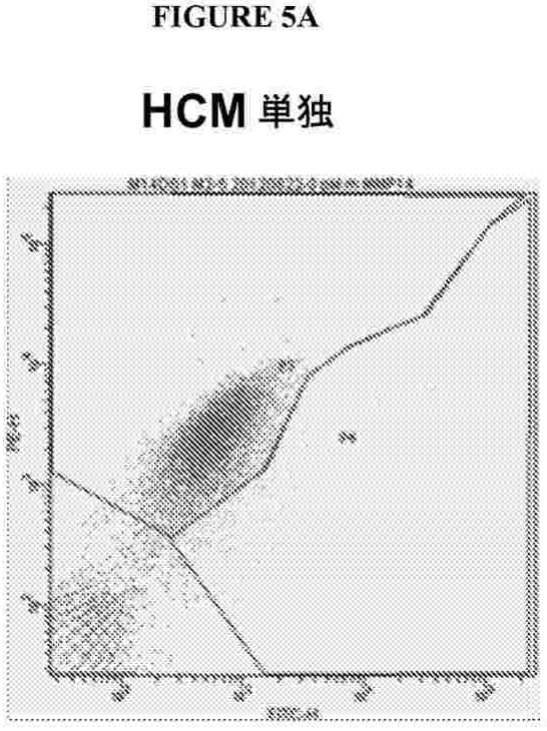
【図４】

FIGURE 4



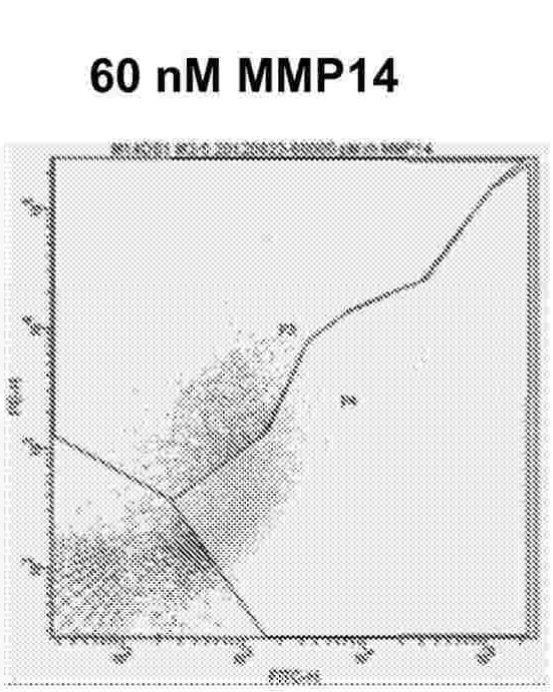
【図５Ａ】

FIGURE 5A



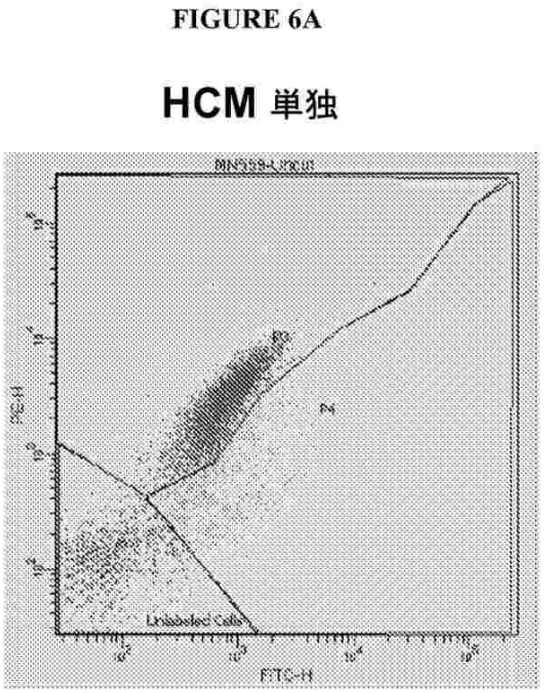
【図５Ｂ】

FIGURE 5B



【図６Ａ】

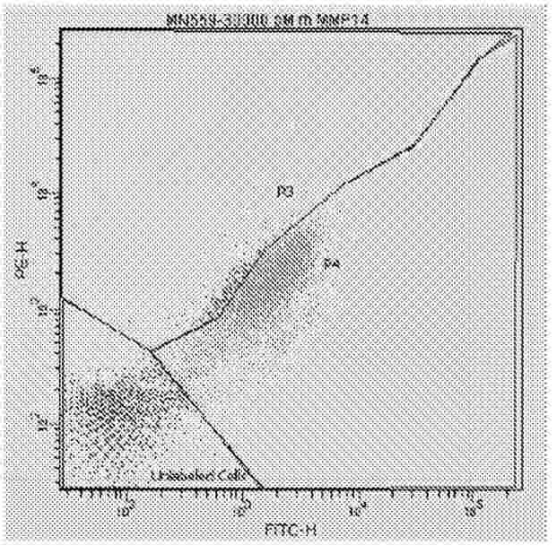
FIGURE 6A



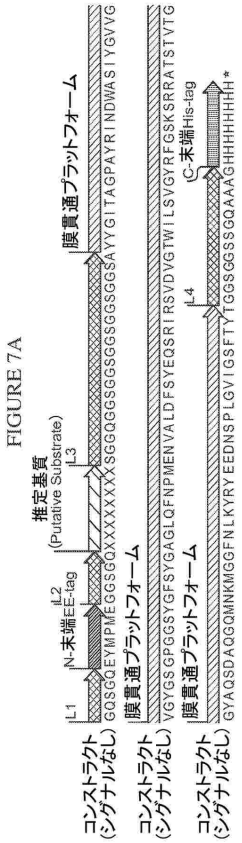
【図６Ｂ】

FIGURE 6B

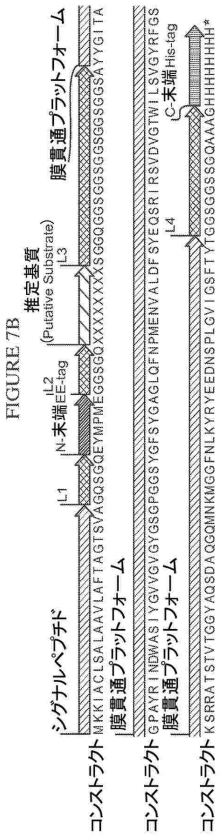
30 nM MMP14



【図７Ａ】



【図７Ｂ】



【配列表】
20250165540000001.xml

【手続補正書】
【提出日】令和6年11月6日(2024.11.6)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
配列番号１５のアミノ酸配列を含む切断可能部分（ＣＭ）を含む単離ポリペプチドであって、前記切断可能部分が、プロテアーゼのための基質であり、前記ポリペプチドが標的に結合する抗体又はその抗原結合フラグメント（ＡＢ）を含む、単離ポリペプチド。
【請求項２】
前記ＡＢが、Ｆａｂフラグメント、Ｆ（ａｂ′）$_2$フラグメント、ｓｃＦｖ，ｓｃａｂ、ｄＡｂ、単一ドメインＨ鎖抗体、及び単一ドメインＬ鎖抗体から成る群から選択される、請求項１に記載の単離ポリペプチド。
【請求項３】
前記ＣＭが、前記標的と組織において共局在するプロテアーゼのための基質である、請求項１又は２に記載の単離ポリペプチド。
【請求項４】
前記ＡＢが、前記ＣＭに連結される、請求項１～３のいずれか１項に記載の単離ポリペプチド。
【請求項５】
前記ＡＢが、前記ＣＭに直接連結される、請求項１～４のいずれか１項に記載の単離ポリペプチド。
【請求項６】
前記ＡＢが、連結ペプチドを介して前記ＣＭに結合される、請求項１～４のいずれか１項に記載の単離ポリペプチド。
【請求項７】
前記単離ポリペプチドが、マスキング部分（ＭＭ）を含む、請求項１～６のいずれか１項に記載の単離ポリペプチド。
【請求項８】
前記ＭＭが、標的への結合についてのＡＢの平衡解離定数よりも高い、ＡＢへの結合についての平衡解離定数を有する、請求項７に記載の単離ポリペプチド。
【請求項９】
前記ＭＭが、４０個以下のアミノ酸の長さのポリペプチドである、請求項７又は８に記載の単離ポリペプチド。
【請求項１０】
前記ＭＭが、未切断状態での前記単離ポリペプチドが、次のようなＮ－末端からＣ－末端への構造配置：ＭＭ－ＣＭ－ＡＢ又はＡＢ－ＣＭ－ＭＭを含むように、前記ＣＭに結合される、請求項７～９のいずれか１項に記載の単離ポリペプチド。
【請求項１１】
前記単離ポリペプチドが、前記ＭＭと前記ＣＭとの間に連結ペプチドを含み、前記ＣＭと前記ＡＢとの間に連結ペプチドを含む、請求項１０に記載の単離ポリペプチド。
【請求項１２】
前記単離ポリペプチドが、第１連結ペプチド（ＬＰ１）及び第２連結ペプチド（ＬＰ２）を含み、そして前記単離ポリペプチドが、次のようなＮ－末端からＣ－末端への構造配置：ＭＭ－ＬＰ１－ＣＭ－ＬＰ２－ＡＢ、又はＡＢ－ＬＰ２－ＣＭ－ＬＰ１－ＭＭを有する、請求項８～１１のいずれか１項に記載の単離ポリペプチド。
【請求項１３】

前記２種の連結ペプチドが、お互いに同一でない、請求項１２に記載の単離ポリペプチド。

【請求項１４】

各ＬＰ１及びＬＰ２が、約１～２０個のアミノ酸の長さのペプチドである、請求項１２又は１３に記載の単離ポリペプチド。

【請求項１５】

前記ＭＭのアミノ酸配列が、前記標的の配列とは異なり、そして前記ＡＢの天然の結合パートナーのアミノ酸配列に対して５０％以下の同一性である、請求項１０～１４のいずれか１項に記載の単離ポリペプチド。

【請求項１６】

前記ＭＭが、切断された状態で標的に結合するために、前記ＡＢに干渉しないか、又は前記ＡＢと競争しない、請求項１０～１５のいずれか１項に記載の単離ポリペプチド。

【外国語明細書】

20250165540000135.pdf

フロントページの続き

(51)国際特許分類
Ｃ１２Ｎ　15/11　(2006.01)

ＦＩ
Ｃ０７Ｋ　7/06
Ｃ１２Ｎ　15/11　Ｚ

１．ＢＲＩＪ
２．ＴＷＥＥＮ

(74)代理人　100138210
弁理士　池田 達則
(74)代理人　100134784
弁理士　中村 和美
(72)発明者　スティーブン ジェイムズ ムーア
アメリカ合衆国，カリフォルニア ９４５０６，ダンビル，カントリー メドーズ レーン ２１８
(72)発明者　マーガレット ティー ルー グエン
アメリカ合衆国，カリフォルニア ９５１２１，サンノゼ，プサテリ ウェイ １１７６
(72)発明者　ダニエル アール．ホステッター
アメリカ合衆国，カリフォルニア ９４３０６，パロ アルト，パーク ブールバード ３９０９
(72)発明者　オルガ バジルジェバ
アメリカ合衆国，カリフォルニア ９５１０４，クパチーノ，ロドリゲス アベニュ ２００８０ ＃ディー
(72)発明者　ジャンヌ グレース フランデス
アメリカ合衆国，カリフォルニア ９４６０７，オークランド，テンス ストリート ５５５，＃１１５