

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2022-500454  
(P2022-500454A)

(43) 公表日 令和4年1月4日(2022.1.4)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 47/68 (2017.01)</b>	A 6 1 K 47/68	4 B 0 6 4
<b>C 0 7 K 16/28 (2006.01)</b>	C 0 7 K 16/28 Z N A	4 C 0 7 6
<b>C 0 7 K 16/18 (2006.01)</b>	C 0 7 K 16/18	4 C 0 8 4
<b>C 0 7 K 16/46 (2006.01)</b>	C 0 7 K 16/46	4 C 0 8 5
<b>A 6 1 K 45/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 271 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2021-514411 (P2021-514411)	(71) 出願人 514311173
(86) (22) 出願日 令和1年9月16日 (2019.9.16)	ストロ バイオファーマ インコーポレーテッド
(85) 翻訳文提出日 令和3年5月7日 (2021.5.7)	アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94
(86) 国際出願番号 PCT/US2019/051350	080 サウス サン フランシスコ ス
(87) 国際公開番号 W02020/060944	イート 150 ユタ アベニュー 31
(87) 国際公開日 令和2年3月26日 (2020.3.26)	0
(31) 優先権主張番号 62/732, 423	(74) 代理人 100079108
(32) 優先日 平成30年9月17日 (2018.9.17)	弁理士 稲葉 良幸
(33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)	(74) 代理人 100109346
	弁理士 大貫 敏史
	(74) 代理人 100117189
	弁理士 江口 昭彦
	(74) 代理人 100134120
	弁理士 内藤 和彦
	最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗葉酸受容体抗体コンジュゲートによる併用療法

(57) 【要約】

本開示は、葉酸受容体アルファ (FOLR1) ならびにそのアイソフォームおよびホモログに対して結合特異性を有する抗体コンジュゲートによる併用療法、ならびに医薬組成物を含む、抗体コンジュゲートとの組み合わせを含む組成物に関する。また、治療法および診断法などにおいて、抗体コンジュゲートおよびその組成物との組み合わせを使用するための方法が提供される。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

(a) 少なくとも1つのペイロード部分に部位特異的に連結されている、葉酸受容体アルファ (FOLR1) と特異的に結合する抗体含む抗体コンジュゲートであって、前記抗体は、Kabab付番スキーム、Chothia付番スキーム、またはEU付番スキームによるHC-F404、HC-K121、HC-Y180、HC-F241、HC-221、LC-T22、LC-S7、LC-N152、LC-K42、LC-E161、LC-D170、HC-S136、HC-S25、HC-A40、HC-S119、HC-S190、HC-K222、HC-R19、HC-Y52、またはHC-S70からなる群から選択される部位に1つまたは複数の非天然アミノ酸を含む、抗体コンジュゲート；および

(b) 1つまたは複数のPD-1またはPD-L1阻害剤を含む組成物。

## 【請求項 2】

前記1つまたは複数のPD-1またはPD-L1阻害剤が、PD-1またはPD-L1経路の小分子遮断剤を含む、請求項1に記載の組成物。

## 【請求項 3】

前記1つまたは複数のPD-1またはPD-L1阻害剤が、PD-1またはPD-L1活性を阻害する抗体を含む、請求項1に記載の組成物。

## 【請求項 4】

前記1つまたは複数のPD-1またはPD-L1阻害剤が、CA-170、BMS-8、BMS-202、BMS-936558、CK-301、AUNP12、アベルマブ、ニボルマブ、ペムプロリズマブ、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、AMP-224、MED10680/AMP-514、PDR001、セミプリマブ、TSR-042、チズレリズマブ/BGB-A317、CK-301、BMS-936559、カムレリズマブ、シンチリマブ、トリパリマブ、ゲノリムズマブ、A167、MGA012、PF-06801591、LY3300054、FAZ053、PD-11、CX-072、BGB-A333、BI754091、JNJ-63723283、AGEN2034、CA-327、CX-188、STI-A1110、JTX-4014、(LLY)AM0001、CBT-502、FS118、XmAb20717、XmAb23104、AB122、KY1003、RXI-762、PRS-33、ALPN-202、TSR-075、MCLA-145、MGD013、およびMGD019からなる群から選択される、請求項1から3のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 5】

前記1つまたは複数のPD-1またはPD-L1阻害剤が、アベルマブを含む、請求項4に記載の組成物。

## 【請求項 6】

前記1つまたは複数のPD-1またはPD-L1阻害剤が、ペムプロリズマブを含む、請求項4に記載の組成物。

## 【請求項 7】

前記PD-1またはPD-L1活性を阻害する抗体が、WO2016/077397、WO2018/156777、および2018年5月23日に出版された国際出願PCT/US2013/034213号に開示されている抗体から選択される、請求項3に記載の組成物。

## 【請求項 8】

前記1つまたは複数の非天然アミノ酸が、p-アセチル-L-フェニルアラニン、O-メチル-L-チロシン、-3-(2-ナフチル)アラニン、3-メチル-フェニルアラニン、O-4-アシル-L-チロシン、4-プロピル-L-チロシン、トリ-O-アセチル-GlcNAc-セリン、L-Dopa、フッ素化フェニルアラニン、イソプロピル-L-フェニルアラニン、p-アジド-L-フェニルアラニン、p-アジド-メチル-L-フェニルアラニン、化合物56、p-アシル-L-フェニルアラニン、p-ベンゾイル-

10

20

30

40

50

L - フェニルアラニン、L - ホスホセリン、ホスホノセリン、ホスホノチロシン、p - ヨード - フェニルアラニン、p - プロモフェニルアラニン、p - アミノ - L - フェニルアラニン、イソプロピル - L - フェニルアラニン、および p - プロパルギルオキシ - フェニルアラニンからなる群から選択される、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 9】

前記 1 つまたは複数の非天然アミノ酸の残基が、加水分解的に安定であるリンカーを介して前記ペイロード部分に連結されている、請求項 8 に記載の組成物。

【請求項 10】

前記 1 つまたは複数の非天然アミノ酸の残基が、切断可能であるリンカーを介して前記ペイロード部分に連結されている、請求項 8 に記載の組成物。

10

【請求項 11】

前記非天然アミノ酸の残基が、化合物 (30) または化合物 (56) の残基である、請求項 8 から 10 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 12】

前記ペイロード部分が、マイタンシン、ヘミアステリン、アマニチン、およびオーリスチンからなる群から選択される、請求項 1 から 11 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 13】

前記ペイロード部分が、DM1、ヘミアステリン、アマニチン、MMAF、および MMAE からなる群から選択される、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 14】

20

前記抗体が、

(i) 配列番号 58 および 117 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 176 および 235 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 294 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(ii) 配列番号 19 および 78 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 137 および 196 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 255 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(iii) 配列番号 4 および 63 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 122 および 181 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 240 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(iv) 配列番号 5 および 64 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 123 および 182 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 241 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

30

(v) 配列番号 6 および 65 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 124 および 183 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 242 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(vi) 配列番号 7 および 66 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 125 および 184 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 243 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(vii) 配列番号 8 および 67 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 126 および 185 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 244 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(viii) 配列番号 9 および 68 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 127 および 186 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 245 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(ix) 配列番号 10 および 69 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 128 および 187 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 246 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

40

(x) 配列番号 11 および 70 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 129 および 188 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 247 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(xi) 配列番号 12 および 71 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 130 および 189 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 248 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(xii) 配列番号 13 および 72 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 131 および 190 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 249 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(xiii) 配列番号 14 および 73 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 132 および 191 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 250 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

50

- (xiv) 配列番号 15 および 74 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 133 および 192 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 251 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;
- (xv) 配列番号 16 および 75 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 134 および 193 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 252 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;
- (xvi) 配列番号 17 および 76 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 135 および 194 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 253 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;
- (xvii) 配列番号 18 および 77 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 136 および 195 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 254 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ; 10
- (xviii) 配列番号 20 および 79 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 138 および 197 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 256 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;
- (xix) 配列番号 21 および 80 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 139 および 198 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 257 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;
- (xx) 配列番号 22 および 81 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 140 および 199 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 258 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;
- (xxi) 配列番号 23 および 82 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 141 および 200 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 259 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ; 20
- (xxii) 配列番号 24 および 83 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 142 および 201 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 260 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;
- (xxiii) 配列番号 25 および 84 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 143 および 202 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 261 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;
- (xxiv) 配列番号 26 および 85 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 144 および 203 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 262 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ; 30
- (xxv) 配列番号 27 および 86 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 145 および 204 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 263 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;
- (xxvi) 配列番号 28 および 87 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 146 および 205 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 264 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;
- (xxvii) 配列番号 29 および 88 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 147 および 206 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 265 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ; 40
- (xxviii) 配列番号 30 および 89 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 148 および 207 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 266 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;
- (xxix) 配列番号 31 および 90 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 149 および 208 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 267 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;
- (xxx) 配列番号 32 および 91 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 150 および 209 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 268 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;
- (xxxi) 配列番号 33 および 92 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 151 および 2 50

- 10の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号269を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；
- (xxxii) 配列番号34および93の1つを含むCDR-H1、配列番号152および211の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号270を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；
- (xxxiii) 配列番号35および94の1つを含むCDR-H1、配列番号153および212の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号271を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；
- (xxxiv) 配列番号36および95の1つを含むCDR-H1、配列番号154および213の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号272を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；
- (xxxv) 配列番号37および96の1つを含むCDR-H1、配列番号155および214の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号273を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；
- (xxxvi) 配列番号38および97の1つを含むCDR-H1、配列番号156および215の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号274を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；
- (xxxvii) 配列番号39および98の1つを含むCDR-H1、配列番号157および216の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号275を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；
- (xxxviii) 配列番号40および99の1つを含むCDR-H1、配列番号158および217の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号276を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；
- (xxxix) 配列番号41および100の1つを含むCDR-H1、配列番号159および218の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号277を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；
- (xli) 配列番号42および101の1つを含むCDR-H1、配列番号160および219の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号278を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；
- (xlii) 配列番号43および102の1つを含むCDR-H1、配列番号161および220の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号279を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；
- (xliii) 配列番号44および103の1つを含むCDR-H1、配列番号162および221の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号280を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；
- (xliv) 配列番号45および104の1つを含むCDR-H1、配列番号163および222の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号281を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；
- (xlv) 配列番号46および105の1つを含むCDR-H1、配列番号164および223の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号282を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；
- (xlvi) 配列番号47および106の1つを含むCDR-H1、配列番号165および224の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号283を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；
- (xlvii) 配列番号48および107の1つを含むCDR-H1、配列番号166および225の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号284を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；
- (xlviii) 配列番号49および108の1つを含むCDR-H1、配列番号167および226の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号285を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub>；

10

20

30

40

50

(xlviii) 配列番号 50 および 109 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 168 および 227 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 286 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(xlix) 配列番号 51 および 110 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 169 および 228 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 287 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(l) 配列番号 52 および 111 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 170 および 229 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 288 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(li) 配列番号 53 および 112 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 171 および 230 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 289 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(lii) 配列番号 54 および 113 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 172 および 231 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 290 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(liii) 配列番号 55 および 114 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 173 および 232 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 291 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(liv) 配列番号 56 および 115 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 174 および 233 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 292 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(lv) 配列番号 57 および 116 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 175 および 234 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 293 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(lvi) 配列番号 59 および 118 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 177 および 236 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 295 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(lvii) 配列番号 60 および 119 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 178 および 237 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 296 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(lviii) 配列番号 61 および 120 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 179 および 238 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 297 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ; または

(lix) 配列番号 62 および 121 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 180 および 239 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 298 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

を含まず、請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 15】

前記抗体が、

(a) 配列番号 300 を含む CDR - L1、配列番号 303 を含む CDR - L2、および配列番号 306 を含む CDR - L3 を含む V<sub>L</sub> ; または

(b) 配列番号 301 を含む CDR - L1、配列番号 304 を含む CDR - L2、および配列番号 307 を含む CDR - L3 を含む V<sub>L</sub> ;

を含まず、請求項 1 から 14 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 16】

前記抗体が、

(i) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 362 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 367 もしくはその変異体であること ;

(ii) 前記 V<sub>H</sub> 領域は、配列番号 323 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域は、配列番号 367 もしくはその変異体であること ;

10

20

30

40

50







(liii) 前記 V<sub>H</sub> 領域は、配列番号 359 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域は、配列番号 367 もしくはその変異体であること；

(liv) 前記 V<sub>H</sub> 領域は、配列番号 360 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域は、配列番号 367 もしくはその変異体であること；

(lv) 前記 V<sub>H</sub> 領域は、配列番号 361 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域は、配列番号 367 もしくはその変異体であること；

(lvi) 前記 V<sub>H</sub> 領域は、配列番号 363 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域は、配列番号 368 もしくはその変異体であること；

(lvii) 前記 V<sub>H</sub> 領域は、配列番号 364 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域は、配列番号 368 もしくはその変異体であること；

(lviii) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 365 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 369 もしくはその変異体であること；または

(lix) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 366 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 369 もしくはその変異体であること

を含む、請求項 1 から 15 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 17】

前記抗体が、K a b a t 付番スキームまたは K a b a t の E U 付番スキームによる H C - F 4 0 4、H C - Y 1 8 0、および L C - K 4 2 の群から選択される部位に 1 つまたは複数の非天然アミノ酸を含む、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 18】

前記抗体が、部位 H C - F 4 0 4 に非天然アミノ酸を含む、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 19】

前記抗体が、部位 H C - F 4 0 4 および H C - Y 1 8 0 に非天然アミノ酸を含む、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 20】

前記抗体が、部位 H C - F 4 0 4 および L C - K 4 2 に非天然アミノ酸を含む、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 21】

前記抗体が、部位 H C - Y 1 8 0 および L C - K 4 2 に非天然アミノ酸を含む、請求項 16 に記載の組成物。

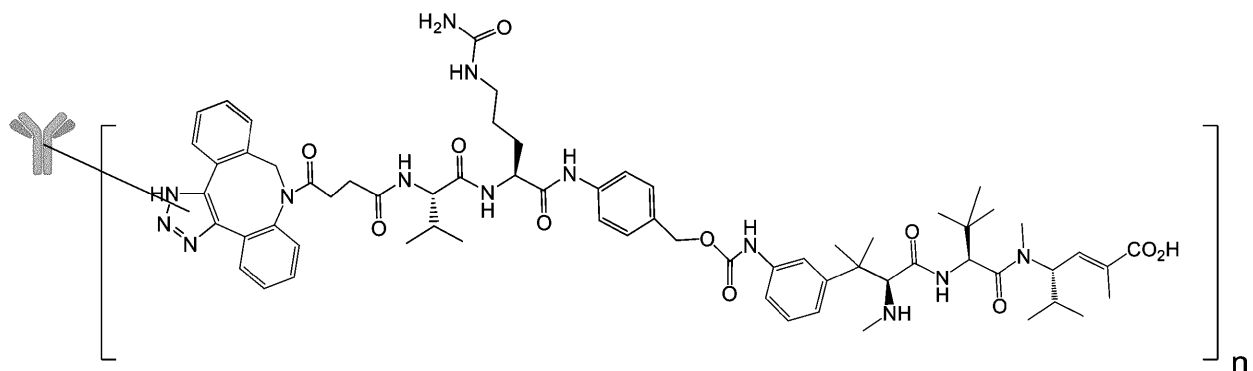
【請求項 22】

一方または両方の非天然アミノ酸が、パラ - アジドメチルフェニルアラニンおよび p - アジド - メチル - L - フェニルアラニンからなる群から選択される、請求項 18 から 21 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 23】

前記抗体コンジュゲートが、コンジュゲート P：

【化 1】



の構造を有し、式中、n は 1 ~ 6 の整数である、請求項 1 から 22 のいずれか一項に記載の組成物。

10

20

30

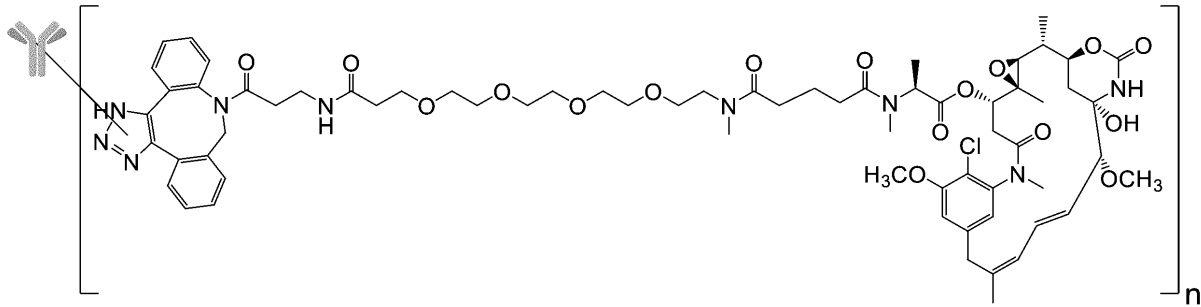
40

50

## 【請求項 2 4】

前記抗体コンジュゲートが、コンジュゲート M :

## 【化 2】



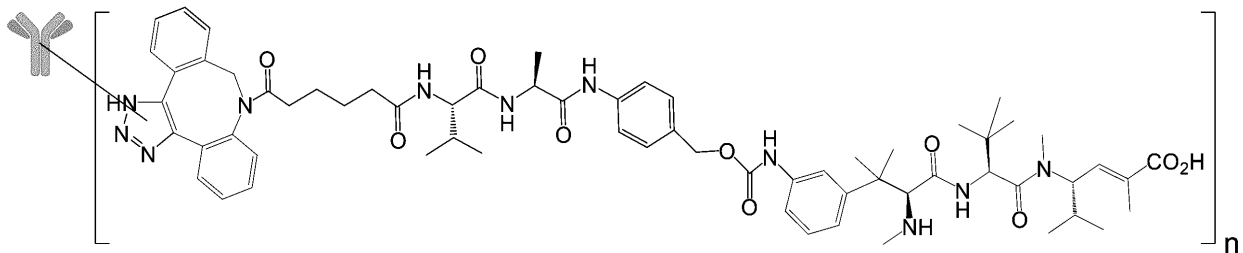
10

の構造を有し、式中、 $n$  は 1 ~ 6 の整数である、請求項 1 から 2 2 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 2 5】

前記抗体コンジュゲートが、コンジュゲート Q :

## 【化 3】



20

の構造を有し、式中、 $n$  は 1 ~ 6 の整数である、請求項 1 から 2 2 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 2 6】

前記抗体が、配列番号 3 6 2 の  $V_H$  領域または 7 つもしくはそれよりも少数のアミノ酸置換を有するその変異体、および配列番号 3 6 7 の  $V_L$  領域または 7 つもしくはそれよりも少数のアミノ酸置換を有するその変異体を含む、請求項 1 から 2 5 のいずれか一項に記載の組成物。

30

## 【請求項 2 7】

前記抗体が、配列番号 3 2 3 の  $V_H$  領域または 7 つもしくはそれよりも少数のアミノ酸置換を有するその変異体、および配列番号 3 6 7 の  $V_L$  領域または 7 つもしくはそれよりも少数のアミノ酸置換を有するその変異体を含む、請求項 1 から 2 5 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 2 8】

前記アミノ酸置換が、保存的アミノ酸置換である、請求項 2 6 または 2 7 に記載の組成物。

40

## 【請求項 2 9】

前記抗体が、少なくとも 1 つの定常領域ドメインをさらに含む、請求項 1 から 2 8 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 3 0】

前記定常領域が、配列番号 3 7 0、3 7 1、および 3 7 2 から選択される配列を含む、請求項 2 9 に記載の組成物。

## 【請求項 3 1】

前記抗体が、モノクローナル抗体である、請求項 1 から 3 0 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 3 2】

50

前記抗体が、I g A、I g D、I g E、I g G、またはI g Mである、請求項 1 から 3 1 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 3 3】

前記抗体が、ヒト化またはヒトである、請求項 1 から 3 2 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 3 4】

前記抗体が、非グリコシル化されている、請求項 1 から 3 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 3 5】

前記抗体が、抗体断片である、請求項 1 から 3 4 のいずれか一項に記載の組成物。

10

【請求項 3 6】

前記抗体断片が、F v 断片、F a b 断片、F ( a b ' )<sub>2</sub> 断片、F a b ' 断片、s c F v ( s F v ) 断片、および s c F v - F c 断片から選択される、請求項 3 5 に記載の組成物。

【請求項 3 7】

前記抗体断片が、s c F v 断片である、請求項 3 6 に記載の組成物。

【請求項 3 8】

前記抗体断片が、s c F v - F c 断片である、請求項 3 6 に記載の組成物。

【請求項 3 9】

前記抗体が、25 の温度でヒト葉酸受容体に結合する場合、約  $2.26 \times 10^{-11}$  M ~ 約  $7.20 \times 10^{-9}$  M の  $K_D$  を有する、請求項 1 から 3 8 のいずれか一項に記載の組成物。

20

【請求項 4 0】

前記抗体が、カニクイザル葉酸受容体と特異的に結合する、請求項 1 から 3 9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 4 1】

前記抗体が、25 の温度でカニクイザル葉酸受容体に結合する場合、約  $0.19 \times 10^{-9}$  M ~ 約  $2.84 \times 10^{-9}$  M の  $K_D$  を有する、請求項 4 0 に記載の組成物。

【請求項 4 2】

前記抗体が、マウス葉酸受容体と特異的に結合する、請求項 1 から 4 1 のいずれか一項に記載の組成物。

30

【請求項 4 3】

前記抗体が、25 の温度でマウス葉酸受容体に結合する場合、約  $0.5 \times 10^{-9}$  M ~ 約  $9.07 \times 10^{-8}$  M の  $K_D$  を有する、請求項 4 2 に記載の組成物。

【請求項 4 4】

請求項 1 から 4 3 のいずれか一項に記載の組成物および前記組成物の使用説明書を含むキット。

【請求項 4 5】

請求項 1 から 4 3 のいずれか一項に記載の組成物および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。

【請求項 4 6】

40

それを必要とする対象の疾患または状態を治療または予防するための方法であって、前記対象に、

(a) 少なくとも 1 つのペイロード部分に部位特異的に連結されている、葉酸受容体アルファ (FOLR1) と特異的に結合する抗体を含む有効量の抗体コンジュゲートであって、前記抗体は、K a b a t 付番スキーム、C h o t h i a 付番スキーム、または E U 付番スキームによる H C - F 4 0 4、H C - K 1 2 1、H C - Y 1 8 0、H C - F 2 4 1、H C - 2 2 1、L C - T 2 2、L C - S 7、L C - N 1 5 2、L C - K 4 2、L C - E 1 6 1、L C - D 1 7 0、H C - S 1 3 6、H C - S 2 5、H C - A 4 0、H C - S 1 1 9、H C - S 1 9 0、H C - K 2 2 2、H C - R 1 9、H C - Y 5 2、または H C - S 7 0 からなる群から選択される部位に 1 つまたは複数の非天然アミノ酸を含む、抗体コンジュゲート

50

; および

(b) 1つまたは複数のPD-1またはPD-L1阻害剤を投与することを含む方法。

【請求項47】

前記1つまたは複数のPD-1またはPD-L1阻害剤が、PD-1またはPD-L1経路の小分子遮断剤を含む、請求項46に記載の方法。

【請求項48】

前記1つまたは複数のPD-1またはPD-L1阻害剤が、PD-1またはPD-L1活性を阻害する抗体を含む、請求項46に記載の方法。

【請求項49】

前記1つまたは複数のPD-1またはPD-L1阻害剤が、CA-170、BMS-8、BMS-202、BMS-936558、CK-301、AUNP12、アベルマブ、ニボルマブ、ペムプロリズマブ、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、AMP-224、MED10680/AMP-514、PDR001、セミプリマブ、TSR-042、チズレリズマブ/BGB-A317、CK-301、BMS-936559、カムレリズマブ、シンチリマブ、トリパリマブ、ゲノリムズマブ、A167、MGA012、PF-06801591、LY3300054、FAZ053、PD-11、CX-072、BGB-A333、BI754091、JNJ-63723283、AGEN2034、CA-327、CX-188、STI-A1110、JTX-4014、(LLY)AM0001、CBT-502、FS118、XmAb20717、XmAb23104、AB122、KY1003、RXI-762、PRS-33、ALPN-202、TSR-075、MCLA-145、MGD013、およびMGD019からなる群から選択される、請求項46から48のいずれか一項に記載の方法。

【請求項50】

前記1つまたは複数のPD-1またはPD-L1阻害剤が、アベルマブを含む、請求項49に記載の方法。

【請求項51】

前記1つまたは複数のPD-1またはPD-L1阻害剤が、ペムプロリズマブを含む、請求項49に記載の方法。

【請求項52】

前記PD-1またはPD-L1活性を阻害する抗体が、WO2016/077397、WO2018/156777、および2018年5月23日に出願されたPCT/US2013/034213に開示されている抗体から選択される、請求項48に記載の方法。

【請求項53】

前記1つまたは複数の非天然アミノ酸が、p-アセチル-L-フェニルアラニン、O-メチル-L-チロシン、-3-(2-ナフチル)アラニン、3-メチル-フェニルアラニン、O-4-アシル-L-チロシン、4-プロピル-L-チロシン、トリ-O-アセチル-GlcNAc-セリン、L-Dopa、フッ素化フェニルアラニン、イソプロピル-L-フェニルアラニン、p-アジド-L-フェニルアラニン、p-アジド-メチル-L-フェニルアラニン、化合物56、p-アシル-L-フェニルアラニン、p-ベンゾイル-L-フェニルアラニン、L-ホスホセリン、ホスホノセリン、ホスホノチロシン、p-ヨード-フェニルアラニン、p-プロモフェニルアラニン、p-アミノ-L-フェニルアラニン、イソプロピル-L-フェニルアラニン、およびp-プロバルギルオキシ-フェニルアラニンからなる群から選択される、請求項46から52のいずれか一項に記載の方法。

【請求項54】

前記1つまたは複数の非天然アミノ酸の残基が、加水分解的に安定であるリンカーを介して前記ペイロード部分に連結されている、請求項53に記載の方法。

【請求項55】

前記1つまたは複数の非天然アミノ酸の残基が、切断可能であるリンカーを介して前記ペイロード部分に連結されている、請求項53に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 56】

前記非天然アミノ酸の残基が、化合物(30)または化合物(56)の残基である、請求項53から55のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 57】

前記ペイロード部分が、マイタンシン、ヘミアステリン、アマニチン、およびオーリスチンからなる群から選択される、請求項46から56のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 58】

前記ペイロード部分が、DM1、ヘミアステリン、アマニチン、MMAF、およびMMAEからなる群から選択される、請求項46から57のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 59】

前記抗体が、

(i) 配列番号58および117の1つを含むCDR-H1、配列番号176および235の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号294を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(ii) 配列番号19および78の1つを含むCDR-H1、配列番号137および196の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号255を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(iii) 配列番号4および63の1つを含むCDR-H1、配列番号122および181の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号240を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(iv) 配列番号5および64の1つを含むCDR-H1、配列番号123および182の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号241を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(v) 配列番号6および65の1つを含むCDR-H1、配列番号124および183の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号242を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(vi) 配列番号7および66の1つを含むCDR-H1、配列番号125および184の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号243を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(vii) 配列番号8および67の1つを含むCDR-H1、配列番号126および185の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号244を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(viii) 配列番号9および68の1つを含むCDR-H1、配列番号127および186の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号245を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(ix) 配列番号10および69の1つを含むCDR-H1、配列番号128および187の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号246を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(x) 配列番号11および70の1つを含むCDR-H1、配列番号129および188の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号247を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(xi) 配列番号12および71の1つを含むCDR-H1、配列番号130および189の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号248を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(xii) 配列番号13および72の1つを含むCDR-H1、配列番号131および190の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号249を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(xiii) 配列番号14および73の1つを含むCDR-H1、配列番号132および191の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号250を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(xiv) 配列番号15および74の1つを含むCDR-H1、配列番号133および192の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号251を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(xv) 配列番号16および75の1つを含むCDR-H1、配列番号134および193の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号252を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(xvi) 配列番号17および76の1つを含むCDR-H1、配列番号135および194の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号253を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(xvii) 配列番号18および77の1つを含むCDR-H1、配列番号136および195の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号254を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

(xviii) 配列番号20および79の1つを含むCDR-H1、配列番号138および1

10

20

30

40

50

- 97の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号256を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xix)配列番号21および80の1つを含むCDR-H1、配列番号139および198の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号257を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xx)配列番号22および81の1つを含むCDR-H1、配列番号140および199の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号258を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xxi)配列番号23および82の1つを含むCDR-H1、配列番号141および200の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号259を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xxii)配列番号24および83の1つを含むCDR-H1、配列番号142および201の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号260を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xxiii)配列番号25および84の1つを含むCDR-H1、配列番号143および202の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号261を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xxiv)配列番号26および85の1つを含むCDR-H1、配列番号144および203の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号262を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xxv)配列番号27および86の1つを含むCDR-H1、配列番号145および204の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号263を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xxvi)配列番号28および87の1つを含むCDR-H1、配列番号146および205の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号264を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xxvii)配列番号29および88の1つを含むCDR-H1、配列番号147および206の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号265を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xxviii)配列番号30および89の1つを含むCDR-H1、配列番号148および207の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号266を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xxix)配列番号31および90の1つを含むCDR-H1、配列番号149および208の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号267を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xxx)配列番号32および91の1つを含むCDR-H1、配列番号150および209の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号268を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xxxix)配列番号33および92の1つを含むCDR-H1、配列番号151および210の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号269を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xxxii)配列番号34および93の1つを含むCDR-H1、配列番号152および211の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号270を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xxxiii)配列番号35および94の1つを含むCDR-H1、配列番号153および212の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号271を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xxxiv)配列番号36および95の1つを含むCDR-H1、配列番号154および213の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号272を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xxxv)配列番号37および96の1つを含むCDR-H1、配列番号155および214の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号273を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;
- (xxxvi)配列番号38および97の1つを含むCDR-H1、配列番号156および215の1つを含むCDR-H2、ならびに配列番号274を含むCDR-H3を含むV<sub>H</sub> ;

;

(xxxvii) 配列番号 39 および 98 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 157 および 216 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 275 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(xxxviii) 配列番号 40 および 99 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 158 および 217 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 276 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(xxxix) 配列番号 41 および 100 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 159 および 218 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 277 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(xl) 配列番号 42 および 101 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 160 および 219 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 278 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(xli) 配列番号 43 および 102 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 161 および 220 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 279 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(xlii) 配列番号 44 および 103 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 162 および 221 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 280 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(xliii) 配列番号 45 および 104 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 163 および 222 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 281 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(xliv) 配列番号 46 および 105 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 164 および 223 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 282 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(xlv) 配列番号 47 および 106 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 165 および 224 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 283 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(xlvi) 配列番号 48 および 107 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 166 および 225 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 284 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(xlvii) 配列番号 49 および 108 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 167 および 226 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 285 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(xlviii) 配列番号 50 および 109 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 168 および 227 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 286 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(xlix) 配列番号 51 および 110 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 169 および 228 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 287 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(l) 配列番号 52 および 111 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 170 および 229 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 288 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(li) 配列番号 53 および 112 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 171 および 230 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 289 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(lii) 配列番号 54 および 113 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 172 および 231 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 290 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(liii) 配列番号 55 および 114 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 173 および 232 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 291 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

10

20

30

40

50

H ;

(liv) 配列番号 56 および 115 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 174 および 233 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 292 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(lv) 配列番号 57 および 116 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 175 および 234 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 293 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(lvi) 配列番号 59 および 118 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 177 および 236 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 295 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(lvii) 配列番号 60 および 119 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 178 および 237 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 296 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

(lviii) 配列番号 61 および 120 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 179 および 238 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 297 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ; または

(lix) 配列番号 62 および 121 の 1 つを含む CDR - H1、配列番号 180 および 239 の 1 つを含む CDR - H2、ならびに配列番号 298 を含む CDR - H3 を含む V<sub>H</sub> ;

を含む、請求項 46 から 58 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 60】

前記抗体が、

(a) 配列番号 300 を含む CDR - L1、配列番号 303 を含む CDR - L2、および配列番号 306 を含む CDR - L3 を含む V<sub>L</sub> ; または

(b) 配列番号 301 を含む CDR - L1、配列番号 304 を含む CDR - L2、および配列番号 307 を含む CDR - L3 を含む V<sub>L</sub> ;

を含む、請求項 46 から 59 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 61】

前記抗体が、

(i) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 362 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 367 もしくはその変異体であること ;

(ii) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 323 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 367 もしくはその変異体であること ;

(iii) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 308 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 367 もしくはその変異体であること ;

(iv) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 309 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 367 もしくはその変異体であること ;

(v) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 310 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 367 もしくはその変異体であること ;

(vi) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 311 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 367 もしくはその変異体であること ;

(vii) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 312 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 367 もしくはその変異体であること ;

(viii) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 313 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 367 もしくはその変異体であること ;

(ix) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 314 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 367 もしくはその変異体であること ;

(x) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 315 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 367 もしくはその変異体であること ;

(xi) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 316 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、

10

20

30

40

50





が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(xxxvii) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 4 3 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(xxxviii) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 4 4 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(xxxix) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 4 5 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(xl) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 4 6 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(xli) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 4 7 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(xlii) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 4 8 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(xliii) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 4 9 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(xliv) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 5 0 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(xlv) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 5 1 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(xlvi) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 5 2 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(xlvii) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 5 3 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(xlviii) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 5 4 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(xlix) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 5 5 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(l) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 5 6 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(li) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 5 7 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(lii) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 5 8 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(liii) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 5 9 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(liv) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 6 0 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(lv) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 6 1 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 7 もしくはその変異体であること；

(lvi) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 6 3 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 8 もしくはその変異体であること；

(lvii) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 6 4 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 8 もしくはその変異体であること；

(lviii) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 6 5 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 9 もしくはその変異体であること；または

(lix) 前記 V<sub>H</sub> 領域が、配列番号 3 6 6 もしくはその変異体であり、前記 V<sub>L</sub> 領域が、配列番号 3 6 9 もしくはその変異体であること

を含む、請求項 4 6 から 6 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 2】

前記抗体が、K a b a t 付番スキームまたは K a b a t の E U 付番スキームによる H C

10

20

30

40

50

- F 4 0 4、H C - Y 1 8 0、および L C - K 4 2 の群から選択される部位に 1 つまたは複数の非天然アミノ酸を含む、請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 3】

前記抗体が、部位 H C - F 4 0 4 に非天然アミノ酸を含む、請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 4】

前記抗体が、部位 H C - F 4 0 4 および H C - Y 1 8 0 に非天然アミノ酸を含む、請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 5】

前記抗体が、部位 H C - F 4 0 4 および L C - K 4 2 に非天然アミノ酸を含む、請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 6】

前記抗体が、部位 H C - Y 1 8 0 および L C - K 4 2 に非天然アミノ酸を含む、請求項 6 1 に記載の方法。

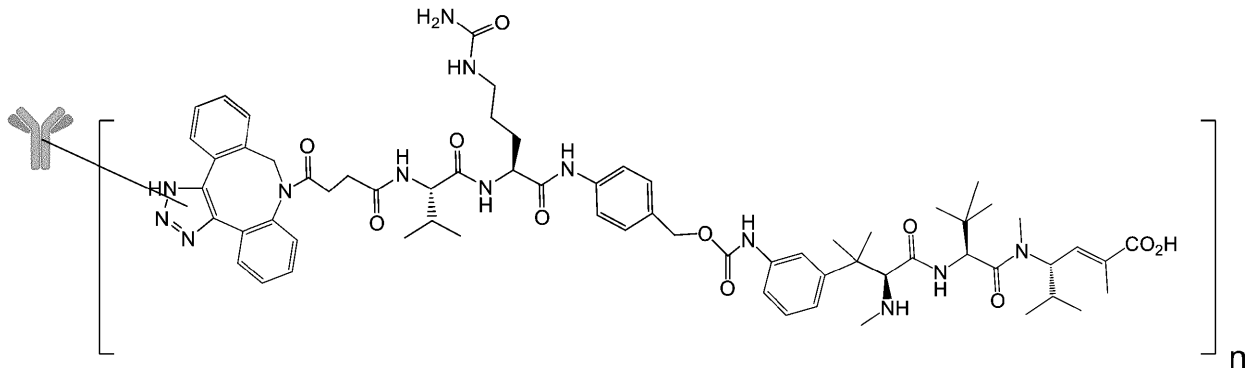
【請求項 6 7】

一方または両方の非天然アミノ酸が、パラ - アジドメチルフェニルアラニンおよび p - アジド - メチル - L - フェニルアラニンからなる群からが選択される、請求項 6 3 から 6 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 8】

前記抗体コンジュゲートが、コンジュゲート P :

【化 4】

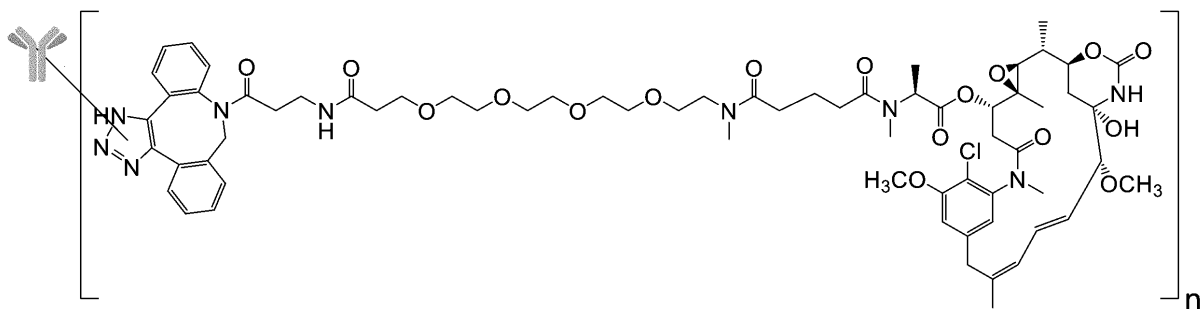


の構造を有し、式中、n は 1 ~ 6 の整数である、請求項 4 6 から 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 9】

前記抗体コンジュゲートが、コンジュゲート M :

【化 5】



の構造を有し、式中、n は 1 ~ 6 の整数である、請求項 4 6 から 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 0】

前記抗体コンジュゲートが、コンジュゲート Q :



前記抗体断片が、s c F v - F c断片である、請求項 8 1 に記載の方法。

【請求項 8 4】

前記疾患または状態が、がんである、請求項 4 6 から 8 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 5】

前記疾患または状態が、乳がんである、請求項 4 6 から 8 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 6】

前記疾患または状態が、トリプルネガティブ乳がん (TNBC) である、請求項 4 6 から 8 4 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 8 7】

前記疾患または状態が、卵巣がんである、請求項 4 6 から 8 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 8】

前記疾患または状態が、肺がんである、請求項 4 6 から 8 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 9】

前記疾患または状態が、非小細胞肺がん (NSCLC) である、請求項 4 6 から 8 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 0】

前記疾患または状態が、子宮内膜がんである、請求項 4 6 から 8 4 のいずれか一項に記載の方法。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

[0001] 本明細書では、葉酸受容体アルファ (FolR またはFOLR1) に対する結合特異性を有する抗体コンジュゲートによる併用療法、および医薬組成物を含む、それを投与するための組成物が提供される。組成物は、細胞増殖およびがんを治療および予防するための方法、細胞増殖およびがんを検出するための方法、ならびに細胞増殖およびがんを診断するための方法に有用である。組成物は、自己免疫疾患、感染症、および炎症状態を治療、予防、検出、および診断するための方法にも有用である。

30

【背景技術】

【0002】

[0002] 葉酸受容体または葉酸結合タンパク質 (FBP) は、i n v i v oで葉酸および他の化合物に結合し、それらのアップデートに寄与する単鎖糖タンパク質を含む。E l w o o d , 1 9 8 9 , J . B i o l . C h e m . 2 6 4 : 1 4 8 9 3 - 1 4 9 0 1。ある特定の葉酸受容体は、葉酸およびメトトレキサートなどの他の化合物に対する高親和性結合部位を有する単鎖糖タンパク質である。E l w o o d , p . 1 4 8 9 3。ヒトFOLR1遺伝子は、3つの潜在的なN連結型グリコシル化部位を有する約257個アミノ酸の30

40

【0003】

[0003] 成熟葉酸受容体糖タンパク質は、約42kDaのサイズを有し、細胞内への葉酸および葉酸代謝拮抗剤の内部移行に関与することが観察されている。E l w o o d e t a l . , 1 9 9 7 , B i o c h e m i s t r y 3 6 : 1 4 6 7 - 1 4 7 8。ヒトにおける発現は、ヒトがん細胞株と共に、小脳および腎臓細胞にて観察されている。E l w o o d e t a l . , 1 9 9 7 , p . 1 4 6 7。葉酸の内部移行に加えて、葉酸受容体は、ウイルス、特にマールブルグウイルスおよびエボラウイルスの細胞内進入の重要な補因

50

子であることが示されている。Chan et al., 2001, Cell 106: 117-126。こうした内部移行特性のために、葉酸受容体は、診断剤および療法剤の標的として提案されている。例えば、診断剤および療法剤は、葉酸受容体を発現する細胞内へと内部移行させるために葉酸と連結されている。例えば、Leamon, 2008, Curr. Opin. Investig. Drugs 9: 1277-1286; Paulos et al., 2004, Adv. Drug Del. Rev. 56: 1205-1217を参照。

#### 【0004】

[0004] 葉酸受容体アルファ (FolR またはFOLR1) は、葉酸に対して高親和性を有するグリコシルホスファチジルイノシトール連結細胞表面糖タンパク質である。腎臓および肺では低レベルであることを除き、ほとんどの正常組織は、FOLR1を発現しないが、漿液性および類内膜上皮性卵巣がん、子宮内膜腺癌、腺癌サブタイプの非小細胞肺癌 (NSCLC)、およびトリプルネガティブ乳がん (TNBC) では、高レベルのFOLR1が見出されている。FOLR1発現は、卵巣がん患者の転移性病巣および再発癌では維持され、FOLR1発現は、上皮性卵巣がんおよび子宮内膜がんの化学療法後に観察されている。こうした特性があるため、正常組織ではFOLR1の発現が高度に制限されること相まって、FOLR1は、がん療法の非常に有望な標的である。このように、葉酸受容体は、がんおよび炎症状態の診断薬および療法薬の潜在的な標的を提供する。こうした葉酸受容体と特異的に結合し、標的とするための新しい抗体の必要性に加えて、他の抗がん剤または細胞分裂および/もしくは細胞分化を標的とする作用剤との併用療法は、FOLR1の過剰発現および/またはFOLR1シグナル伝達の活性過剰に関連付けられる疾患および障害を治療するための探究の別の道筋を提供する。

10

20

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0005】

[0005] 葉酸受容体アルファ (FOLR1) の免疫調節、および葉酸受容体アルファ (FOLR1) により活性化される下流シグナル伝達プロセスをモジュレートするための向上された方法であって、抗がん剤または細胞分裂および/もしくは細胞分化をモジュレートする療法剤の投与と組み合わせると増強または向上させることができる方法に対する必要性が存在する。そのような療法剤は、葉酸受容体アルファを発現する標的細胞に、療法用ペイロード部分または診断用ペイロード部分を送達する抗FOLR1抗体コンジュゲートと組み合わせると、FOLR1が過剰発現される疾患の治療または診断に有用であり得る。

30

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0006】

[0006] 本明細書では、細胞分裂活性または細胞分化活性をモジュレートする第2の療法剤と組み合わせる、葉酸受容体アルファ (FOLR1) と選択的に結合する抗体コンジュゲートが提供される。抗体コンジュゲートは、1つまたは複数のペイロード部分に連結された葉酸受容体アルファ (FOLR1) に結合する抗体を含む。抗体は、共有結合により直接的に、またはリンカーを介して間接的にペイロードに連結されていてもよい。葉酸受容体アルファ (FOLR1) 抗体は、有用なペイロード部分、および有用なリンカーと共に、本明細書に詳細に記載されている。特定の実施形態では、第2の療法剤は、プログラム細胞死タンパク質 (PD-1) の阻害剤である。

40

#### 【0007】

[0007] 別の態様では、抗体コンジュゲート、および細胞分裂活性または細胞分化活性をモジュレートする第2の療法剤を含む組成物が提供される。一部の実施形態では、組成物は、医薬組成物である。任意の好適な医薬組成物を使用することができる。一部の実施形態では、医薬組成物は、非経口投与用の組成物である。さらなる態様では、本明細書には、抗体コンジュゲートまたは医薬組成物を含むキットが提供される。特定の実施形態では、第2の療法剤は、プログラム細胞死タンパク質 (PD-1) の阻害剤である。

#### 【0008】

50

[0008] 別の態様では、本明細書には、抗FOLR1抗体コンジュゲートを、細胞分裂活性または細胞分化活性をモジュレートする第2の療法剤と組み合わせて使用するための方法が提供される。一部の実施形態では、本方法は、葉酸受容体アルファを発現する標的細胞または標的組織にこの組合せを送達するための方法である。一部の実施形態では、本方法は、治療方法である。一部の実施形態では、本方法は、診断方法である。一部の実施形態では、本方法は、分析方法である。一部の実施形態では、この組合せは、疾患または状態を治療するために使用される。一部の態様では、疾患または状態は、がん、自己免疫疾患、および感染症から選択される。

【0009】

[0009] 一部の実施形態では、抗体コンジュゲートは、ヒト葉酸受容体アルファに結合する。一部の実施形態では、抗体コンジュゲートは、ヒト葉酸受容体アルファのホモログにも結合する。一部の態様では、抗体コンジュゲートは、カニクイザルおよび/またはマウス葉酸受容体アルファのホモログにも結合する。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】[0010] CDR-H1のKabata付番方式およびChothia付番方式の比較を提供する図である。出典は、Martin A. C. R. (2010). Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. In R. Kontermann & S. Dubel (Eds.), Antibody Engineering vol. 2 (pp. 33-51). Springer-Verlag, Berlin Heidelbergである。

【図2】[0011]本明細書で提供される変異体抗体のVH配列(配列番号308~366)のラインメントを提供する図である。ChothiaによるCDRは強調されており、KabataによるCDRは四角で囲まれている。

【図3】[0011]本明細書で提供される変異体抗体のVH配列(配列番号308~366)のラインメントを提供する図である。ChothiaによるCDRは強調されており、KabataによるCDRは四角で囲まれている。

【図4】[0011]本明細書で提供される変異体抗体のVH配列(配列番号308~366)のラインメントを提供する図である。ChothiaによるCDRは強調されており、KabataによるCDRは四角で囲まれている。

【図5】[0012]トラスツズマブおよび本明細書で提供される変異体抗体のVL配列(配列番号367~369)のラインメントを提供する図である。ChothiaによるCDRは強調されており、KabataによるCDRには下線が引かれている。

【図6】[0013]本明細書で開示されている通りの異なるFOLR1抗体-薬物コンジュゲートの単一用量を投与した後の、KB子宮頸癌細胞が移植されたマウスの体重変化を示すグラフである。

【図7A】[0014]本明細書で開示されている通りの異なるFOLR1抗体-薬物コンジュゲートの単一用量を投与した後の、KB子宮頸癌細胞が移植されたマウスの腫瘍成長曲線および25日目の腫瘍サイズを示すグラフである。

【図7B】[0014]本明細書で開示されている通りの異なるFOLR1抗体-薬物コンジュゲートの単一用量を投与した後の、KB子宮頸癌細胞が移植されたマウスの腫瘍成長曲線および25日目の腫瘍サイズを示すグラフである。

【図8】[0015]本明細書で開示されている2つの異なるFOLR1抗体-薬物コンジュゲートによる単一用量処置後の、KB子宮頸癌細胞が移植されたマウスの31日目の最終腫瘍サイズを示す散布図である。

【図9】[0016]本明細書で開示されている通りの異なるFOLR1抗体-薬物コンジュゲートの単一用量を投与した後の、KB子宮頸癌細胞が移植されたマウスの体重変化を示すグラフである。

【図10A】[0017]本明細書で開示されている通りの異なるFOLR1抗体-薬物コンジ

10

20

30

40

50

ュゲートの単一用量を投与した後の、K B子宮頸癌細胞が移植されたマウスの腫瘍成長曲線および21日目の腫瘍サイズを示すグラフである。

【図10B】[0017]本明細書で開示されている通りの異なるF O L R 1抗体 - 薬物コンジュゲートの単一用量を投与した後の、K B子宮頸癌細胞が移植されたマウスの腫瘍成長曲線および21日目の腫瘍サイズを示すグラフである。

【図11】[0018]本明細書で開示されている3つの異なるF O L R 1抗体 - 薬物コンジュゲートによる単一用量処置後の、K B子宮頸癌細胞が移植されたマウスの36日目の最終腫瘍サイズを示す散布図である。

【図12】[0019]本明細書で開示されている通りの異なるF O L R 1抗体 - 薬物コンジュゲートの単一用量を投与した後の、I g r o v 1卵巣がん細胞が移植されたマウスの体重変化を示すグラフである。

【図13A】[0020]本明細書で開示されている通りの異なるF O L R 1抗体 - 薬物コンジュゲートの単一用量を投与した後の、I g r o v 1卵巣がん細胞が移植されたマウスの腫瘍成長曲線および24日目の腫瘍サイズを示すグラフである。

【図13B】[0020]本明細書で開示されている通りの異なるF O L R 1抗体 - 薬物コンジュゲートの単一用量を投与した後の、I g r o v 1卵巣がん細胞が移植されたマウスの腫瘍成長曲線および24日目の腫瘍サイズを示すグラフである。

【図14A】[0021]本明細書で開示されている通りの異なるF O L R 1抗体 - 薬物コンジュゲートの単一用量を投与した後の、I g r o v 1卵巣がん細胞が移植されたマウスの腫瘍成長曲線を示すグラフである。

【図14B】[0022]本明細書で開示されている異なるF O L R 1抗体 - 薬物コンジュゲートによる単一用量処置後の、I g r o v 1卵巣がん細胞が移植されたマウスの21日目の腫瘍サイズを示す散布図である。

【図15】[0023]異なる葉酸受容体アイソフォーム (hFOLR1、hFOLR2) を安定的に発現する293T形質転換細胞に対する、異なるF O L R 1抗体の結合を示すプロットを含む図である。

【図16】[0024]異なる葉酸受容体アイソフォーム (hFOLR1、hFOLR2) を安定的に発現する293T形質転換細胞に対する、異なるF O L R 1抗体 - 薬物コンジュゲートの細胞傷害活性を示すプロットを含む図である。

【図17】[0025]本明細書で開示されている通りの異なるF O L R 1抗体 - 薬物コンジュゲートの種々の用量を投与した後の、I g r o v 1卵巣がん細胞が移植されたマウスの体重変化を示すグラフである。

【図18A】[0026]本明細書で開示されている通りの異なるF O L R 1抗体 - 薬物コンジュゲートの種々の用量を投与した後の、I g r o v 1卵巣がん細胞が移植されたマウスの腫瘍成長曲線および21日目の腫瘍サイズの散布図を含む図である。

【図18B】[0026]本明細書で開示されている通りの異なるF O L R 1抗体 - 薬物コンジュゲートの種々の用量を投与した後の、I g r o v 1卵巣がん細胞が移植されたマウスの腫瘍成長曲線および21日目の腫瘍サイズの散布図を含む図である。

【図18C】[0026]本明細書で開示されている通りの異なるF O L R 1抗体 - 薬物コンジュゲートの種々の用量を投与した後の、I g r o v 1卵巣がん細胞が移植されたマウスの腫瘍成長曲線および21日目の腫瘍サイズの散布図を含む図である。

【図19A】[0027]本明細書で開示されている通りの異なるF O L R 1抗体 - 薬物コンジュゲートの種々の用量を投与した後の、I g r o v 1卵巣がん細胞が移植されたマウスの腫瘍サイズを示すグラフを含む図である。

【図19B】[0027]本明細書で開示されている通りの異なるF O L R 1抗体 - 薬物コンジュゲートの種々の用量を投与した後の、I g r o v 1卵巣がん細胞が移植されたマウスの腫瘍サイズを示すグラフを含む図である。

【図19C】[0027]本明細書で開示されている通りの異なるF O L R 1抗体 - 薬物コンジュゲートの種々の用量を投与した後の、I g r o v 1卵巣がん細胞が移植されたマウスの腫瘍サイズを示すグラフを含む図である。

10

20

30

40

50



【図19D】[0027]本明細書で開示されている通りの異なるFOLR1抗体-薬物コンジュゲートの種々の用量を投与した後の、Igrov1卵巣がん細胞が移植されたマウスの腫瘍サイズを示すグラフを含む図である。

【図20】[0028]本明細書で開示されている通りの異なるFOLR1抗体-薬物コンジュゲートの種々の用量を投与した後の、Igrov1卵巣がん細胞が移植されたマウスの腫瘍成長の遅延を示すチャートである。

【図21A】[0029]腫瘍成長チャート、29日目の腫瘍サイズを示す散布図、およびカルボプラチンを用いてまたは用いずに、代表的なFOLR-1抗体-薬物コンジュゲートの単一用量で処置した確立Igrov1腫瘍を保持する動物における29日目の腫瘍成長阻害を示すチャートを含む図である。

10

【図21B】[0029]腫瘍成長チャート、29日目の腫瘍サイズを示す散布図、およびカルボプラチンを用いてまたは用いずに、代表的なFOLR-1抗体-薬物コンジュゲートの単一用量で処置した確立Igrov1腫瘍を保持する動物における29日目の腫瘍成長阻害を示すチャートを含む図である。

【図21C】[0029]腫瘍成長チャート、29日目の腫瘍サイズを示す散布図、およびカルボプラチンを用いてまたは用いずに、代表的なFOLR-1抗体-薬物コンジュゲートの単一用量で処置した確立Igrov1腫瘍を保持する動物における29日目の腫瘍成長阻害を示すチャートを含む図である。

【図22A】[0030]腫瘍成長チャート、および確立OVCA3腫瘍を保持する動物における31日目の腫瘍サイズを示す散布図を含む図である。

20

【図22B】[0030]腫瘍成長チャート、および確立OVCA3腫瘍を保持する動物における31日目の腫瘍サイズを示す散布図を含む図である。

【図23A】[0031]代表的なFOLR1抗体-薬物コンジュゲートを投与した種々の子宮内膜患者由来異種移植モデルの腫瘍成長曲線を含む図である。

【図23B】[0031]代表的なFOLR1抗体-薬物コンジュゲートを投与した種々の子宮内膜患者由来異種移植モデルの腫瘍成長曲線を含む図である。

【図23C】[0031]代表的なFOLR1抗体-薬物コンジュゲートを投与した種々の子宮内膜患者由来異種移植モデルの腫瘍成長曲線を含む図である。

【図23D】[0031]代表的なFOLR1抗体-薬物コンジュゲートを投与した種々の子宮内膜患者由来異種移植モデルの腫瘍成長曲線を含む図である。

30

【図23E】[0031]代表的なFOLR1抗体-薬物コンジュゲートを投与した種々の子宮内膜患者由来異種移植モデルの腫瘍成長曲線を含む図である。

【図23F】[0031]代表的なFOLR1抗体-薬物コンジュゲートを投与した種々の子宮内膜患者由来異種移植モデルの腫瘍成長曲線を含む図である。

【図23G】[0031]代表的なFOLR1抗体-薬物コンジュゲートを投与した種々の子宮内膜患者由来異種移植モデルの腫瘍成長曲線を含む図である。

【図24A】[0032]代表的なFOLR1抗体-薬物コンジュゲート、アベルマブ、または両方の組合せによる処置に応答した、MC38-hFOLR1腫瘍を有する動物の腫瘍成長曲線および腫瘍サイズ散布図を含む図である。

【図24B】[0032]代表的なFOLR1抗体-薬物コンジュゲート、アベルマブ、または両方の組合せによる処置に応答した、MC38-hFOLR1腫瘍を有する動物の腫瘍成長曲線および腫瘍サイズ散布図を含む図である。

40

【図25A】[0033]代表的なFOLR1抗体-薬物コンジュゲート、アベルマブ、または両方の組合せによる処置に応答した、MC38-hFOLR1腫瘍を有する動物の腫瘍成長曲線および Kaplan-Meier 生存プロットを含む図である。

【図25B】[0033]代表的なFOLR1抗体-薬物コンジュゲート、アベルマブ、または両方の組合せによる処置に応答した、MC38-hFOLR1腫瘍を有する動物の腫瘍成長曲線および Kaplan-Meier 生存プロットを含む図である。

【図26】[0034]SCIDベージュマウスにおける異なるFOLR1抗体-薬物コンジュゲートの薬物動態血漿プロファイルを示すグラフである。

50

【図 2 7】[0035] ビヒクルまたは A D C 分子 1 もしくは A D C 分子 1 7 で処置したマウスの血漿中で検出された低分子の L C / M S トレースを示す図である。

【図 2 8】[0036] S C I D ベージュマウスに投与した代表的な F O L R 1 抗体 - 薬物コンジュゲートの血漿安定性 (薬物 - 抗体比、すなわち DAR により測定したもの) を示すグラフを含む図である。

【図 2 9】[0037] P B S、カニクイザル血漿、またはヒト血漿で試験した種々の F O L R 1 抗体 - 薬物コンジュゲートの血漿安定性 (薬物 - 抗体比、すなわち DAR により測定したもの) を示すグラフを含む図である。

【図 3 0】[0038] 競合物質としての対応するネイキッド抗体の存在下における種々の細胞に対する A D C 分子 4 および A D C 分子 2 1 の細胞傷害活性を示すグラフを含む図である。

10

【図 3 1】[0039] 本明細書で開示されている F O L R 1 抗体 - 薬物コンジュゲートの異化代謝産物の種々の用量を投与したラットの体重変化を示すグラフである。

【図 3 2】[0040] カニクイザル血漿、ヒト血漿、および P B S で試験した比較用 A D C と比較した、代表的な F O L R 1 抗体 - 薬物コンジュゲート (ADC) の安定性を示すグラフである。

【図 3 3】[0041] 様々なレベルの P g P を有する細胞における、および特異的 P g P 阻害剤の存在下における比較用 A D C の細胞傷害活性と比較した、本明細書で開示される代表的な F O L R 1 抗体 - 薬物コンジュゲート (ADC) の異化代謝産物の細胞傷害活性を示すグラフを含む図である。

20

【図 3 4】[0042] 確立 I g r o v 1 腫瘍を有するマウスで測定した比較用 A D C の血漿レベルと比較して、本明細書で開示される代表的な F O L R 1 抗体 - 薬物コンジュゲート (ADC) の異化代謝産物の腫瘍および血漿レベルを示すチャートである。

【図 3 5 A】[0043] 本明細書で開示される通りの異なる F O L R 1 抗体 - 薬物コンジュゲート (ADC) の腫瘍成長曲線および 2 1 日目の腫瘍サイズを示す散布図を含む図である。

【図 3 5 B】[0043] 本明細書で開示される通りの異なる F O L R 1 抗体 - 薬物コンジュゲート (ADC) の腫瘍成長曲線および 2 1 日目の腫瘍サイズを示す散布図を含む図である。

【図 3 6】[0044] S C I D ベージュマウスにおける異なる F O L R 1 抗体 - 薬物コンジュゲートの薬物動態血漿プロファイルを示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

30

【0011】

1. 定義

[0045] 別様に定義されていない限り、本明細書で使用される技術、表記、および他の科学技術の用語はすべて、本発明が関する当業者により一般的に理解される意味を有することが意図されている。一部の 경우에는、一般的に理解されている意味を有する用語は、本明細書では明瞭性のためにおよび / または参照を容易にするために定義されており、そのような定義を本明細書に含むことは、当技術分野で一般に理解されているものとの違いを表わすとは必ずしも解釈されるべきでない。本明細書に記載または参照されている技法および手順は、一般に十分に理解されており、例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2nd ed. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY に記載の広く使用されている分子クローニング方法論などの従来の方法論を使用して、当業者により広く使用されている。必要に応じて、市販のキットおよび試薬の使用を含む手順は、特に別様の注記がない限り、一般に、製造業者が規定するプロトコールおよび条件に従って実施される。

40

【0012】

[0046] 本明細書で使用される場合、単数形「a」、「an」、および「the」は、状況が明らかに別様に指示しない限り、複数の参照対象を含む。

【0013】

[0047] 「約」という用語は、表示値およびその値の上下の範囲を示し、それらを包含す

50

る。ある特定の実施形態では、「約」という用語は、指定値 $\pm 10\%$ 、 $\pm 5\%$ 、または $\pm 1\%$ を示す。ある特定の実施形態では、「約」という用語は、指定値 $\pm$ その値の1標準偏差を示す。

【0014】

[0048] 「それらの組合せ」という用語は、その用語が参照する要素のあらゆる考え得る組合せを含む。例えば、「 $x_2$ がAの場合、 $x_3$ はDではないか、 $x_5$ はSではないか、もしくは $x_6$ はSではないか、またはそれらの組合せである」という文章は、 $x_2$ がAの場合、以下の組合せ：(1)  $x_3$ はDではない；(2)  $x_5$ はSではない；(3)  $x_6$ はSではない；(4)  $x_3$ はDではなく、 $x_5$ はSではなく、かつ $x_6$ はSではない；(5)  $x_3$ はDではなく、かつ $x_5$ はSではなく；(6)  $x_3$ はDではなく、かつ $x_6$ はSではない；ならびに(7)  $x_5$ はSではなく、かつ $x_6$ はSではない、ことを含む。

10

【0015】

[0049] 「葉酸受容体アルファ」および「葉酸受容体1」という用語は、本明細書では同義的に使用される。葉酸受容体アルファは、中でも、FOLR1、FolR、葉酸結合タンパク質、FBP、成体葉酸結合タンパク質、Folbp1、FR-アルファ、FR、KB細胞FBP、および卵巣腫瘍関連抗原MOv18を含む同義語によっても知られている。別様の指定がない限り、こうした用語は、細胞により天然で発現されるか、または葉酸受容体アルファまたはFOLR1遺伝子がトランスフェクトされた細胞により発現されるヒト葉酸受容体アルファの任意の変異体、アイソフォーム、および種ホモログを含む。葉酸受容体アルファタンパク質としては、例えば、ヒト葉酸受容体アルファ(配列番号1)が挙げられる。一部の実施形態では、葉酸受容体アルファタンパク質としては、カニクイザル葉酸受容体アルファ(配列番号2)が挙げられる。一部の実施形態では、葉酸受容体アルファタンパク質としては、マウス葉酸受容体アルファ(配列番号3)が挙げられる。

20

【0016】

[0050] 「免疫グロブリン」という用語は、一般に2対のポリペプチド鎖：1対の軽(L)鎖および1対の重(H)鎖を含む構造的に関連したタンパク質のクラスを指す。「インタクト免疫グロブリン」では、これら4つの鎖すべてがジスルフィド結合により相互接続されている。免疫グロブリンの構造は十分に特徴付けられている。例えば、Paul, Fundamental Immunology 7th ed., Ch. 5 (2013) Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PAを参照。手短かに言えば、各重鎖は、典型的には、重鎖可変領域( $V_H$ )および重鎖定常領域( $C_H$ )を含む。重鎖定常領域は、典型的には、 $C_{H1}$ 、 $C_{H2}$ 、および $C_{H3}$ と略称される3つのドメインを含む。各軽鎖は、典型的には、軽鎖可変領域( $V_L$ )および軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は、典型的には、 $C_L$ と略称される1つのドメインを含む。

30

【0017】

[0051] 「抗体」という用語は、免疫グロブリン分子のタイプを記述し、本明細書ではその最も広い意味で使用される。具体的には、抗体は、インタクト抗体(例えば、インタクト免疫グロブリン)および抗体断片を含む。抗体は、少なくとも1つの抗原結合性ドメインを含む。抗原結合性ドメインの一例は、 $V_H - V_L$ 二量体により形成される抗原結合性ドメインである。「葉酸受容体アルファ抗体」、「抗葉酸受容体アルファ抗体」、「葉酸受容体アルファAb」、「葉酸受容体アルファ特異的抗体」、「抗葉酸受容体アルファAb」、「FOLR1抗体」、「FolR抗体」、「抗FOLR1抗体」、「抗FolR抗体」、「FOLR1 Ab」、「FolR Ab」、「FOLR1特異的抗体」、「FolR特異的抗体」、「抗FolR Ab」、または「抗-FOLR1 Ab」は、葉酸受容体アルファまたはFOLR1に特異的に結合する、本明細書に記載の通りの抗体である。一部の実施形態では、抗体は、葉酸受容体アルファ(FOLR1)の細胞外ドメインに結合する。

40

【0018】

50

[0052]  $V_H$  領域および  $V_L$  領域は、より保存されている領域で分散されている超可変性の領域（「超可変領域（HVR）」；「相補性決定領域」（CDR）とも呼ばれる）にさらに細分化することができる。より保存されている領域は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれる。各  $V_H$  および  $V_L$  は、一般に、以下の順序で配置されている（N末端からC末端へと）3つのCDRおよび4つのFRを含む：FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4。CDRは、抗原結合に関与し、抗体の抗原特異性および結合親和性に影響を及ぼす。Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest 5th ed. (1991) Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MDを参照。この文献は、その全体が参照により組み込まれる。

10

【0019】

[0053] あらゆる脊椎動物種由来の軽鎖は、定常ドメインの配列に基づきカッパおよびラムダと呼ばれる2つのタイプのうちの1つに割り当てることができる。

【0020】

[0054] あらゆる脊椎動物種由来の重鎖は、5つの異なるクラス（またはアイソタイプ）IgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMのうちの1つに割り当てることができる。こうしたクラスは、それぞれ、 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 、および $\mu$ とも表記される。IgGクラスおよびIgAクラスは、配列および機能の違いに基づきサブクラスへとさらに細分化される。ヒトは、以下のサブクラス：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、およびIgA2を発現する。

20

【0021】

[0055] CDRのアミノ酸配列境界は、当業者であれば、Kabataら、上記（「Kabata」付番スキーム）；Al-Lazikani et al., 1997, J. Mol. Biol., 273: 927 - 948（「Chothia」付番スキーム）；MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol. 262: 732 - 745（「接触（Contact）」付番スキーム）；Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol., 2003, 27: 55 - 77（「IMGT」付番スキーム）；およびHonegge and Pluckthun, J. Mol. Biol., 2001, 309: 657 - 70（「Aho」付番スキーム）により記載されているものを含む、幾つかの公知の付番スキームのいずれかを使用して決定することができる。これらの文献の各々は、その全体が参照により組み込まれる。

30

【0022】

[0056] 表1には、KabataスキームおよびChothiaスキームにより特定される通りの、CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3の位置が提供されている。CDR-H1の場合、残基付番は、Kabata付番スキームおよびChothia付番スキームの両方を使用して提供されている。

【0023】

## 【表 1】

表 1. Kabat および Chothia 付番スキームによる CDR の残基

CDR	Kabat	Chothia
L1	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97
H1 (Kabat付番)	H31-H35B	H26~H32またはH34*
H1 (Chothia付番)	H31-H35	H26-H32
H2	H50-H65	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102

\*CDR-H1 の C 末端は、Kabat 付番慣例を使用して付番した場合、図 1 に示されているように CDR の長さに応じて H32 から H34 の間と様々である。

## 【 0 0 2 4 】

[0057] 別様の指定がない限り、特定の CDR を特定するために本明細書で使用される付番スキームは、Kabat / Chothia 付番スキームである。これら 2 つの付番スキームにより包含される残基が異なる場合（例えば、CDR-H1 および / または CDR-H2）、付番スキームは、Kabat または Chothia のいずれかに指定される。便宜上、CDR-H3 は、本明細書では Kabat または Chothia のいずれかとして参照されることがある。しかしながら、これは、違いが存在しない配列に違いがあることを示唆することを意図するものでなく、当業者であれば、配列を調査することにより配列が同じであるか異なるかを容易に確認することができる。

## 【 0 0 2 5 】

[0058] CDR は、例えば、[www.bioinf.org.uk/abs/abnum/](http://www.bioinf.org.uk/abs/abnum/) から入手可能であり、Abhinandan and Martin, Immunology, 2008, 45:3832-3839 に記載されている Abnum などの抗体付番ソフトウェアを使用して割り当てることができる。この文献は、その全体が参照により組み込まれる。

## 【 0 0 2 6 】

[0059] 「EU 付番スキーム」は、一般に、抗体重鎖定常領域の残基（例えば、Kabat ら、上記で報告されている通りの）を参照する場合に使用される。別様の記載がない限り、EU 付番スキームは、本明細書に記載の抗体重鎖定常領域の残基を参照するために使用される。

## 【 0 0 2 7 】

[0060] 「抗体断片」は、インタクト抗体の抗原結合性領域または可変領域など、インタクト抗体の部分を含む。抗体断片としては、例えば、Fv 断片、Fab 断片、F(ab')<sub>2</sub> 断片、Fab' 断片、scFv (sFv) 断片、および scFv-Fc 断片が挙げられる。

## 【 0 0 2 8 】

[0061] 「Fv」断片は、1 つの重鎖可変ドメインおよび 1 つの軽鎖可変ドメインの非共有結合で連結されている二量体を含む。

## 【 0 0 2 9 】

[0062] 「Fab」断片は、重鎖可変ドメインおよび軽鎖可変ドメインに加えて、軽鎖の定常ドメインおよび重鎖の第 1 の定常ドメイン (C<sub>H1</sub>) を含む。Fab 断片は、例えば、組換え法により、または完全長抗体のパイン消化により生成することができる。

## 【 0 0 3 0 】

[0063] 「F(ab')<sub>2</sub>」断片は、ヒンジ領域付近にてジスルフィド結合により接合されている 2 つの Fab' 断片を含む。F(ab')<sub>2</sub> 断片は、例えば、組換え法により、また

10

20

30

40

50

はインタクト抗体のペプシン消化により生成することができる。F(ab')断片は、例えば、 $\beta$ -メルカプトエタノールで処理することにより解離させることができる。

【0031】

[0064] 「単鎖Fv」または「sFv」または「scFv」抗体断片は、単一のポリペプチド鎖にV<sub>H</sub>ドメインおよびV<sub>L</sub>ドメインを含む。V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>は、一般に、ペプチドリンカーにより連結されている。Pluckthun A. (1994)を参照。一部の実施形態では、リンカーは、配列番号377である。一部の実施形態では、リンカーは、配列番号378である。大腸菌(*Escherichia coli*)由来の抗体。Rosenberg M. & Moore G. P. (Eds.), *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies vol. 113* (pp. 269-315). Springer-Verlag, New Yorkは、その全体が参照により組み込まれる。

10

【0032】

[0065] 「scFv-Fc」断片は、Fcドメインに付着されたscFvを含む。例えば、Fcドメインは、scFvのC末端に付着されていてもよい。Fcドメインは、scFvの可変ドメインの方向性(つまり、V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub>またはV<sub>L</sub>-V<sub>H</sub>)に応じて、V<sub>H</sub>またはV<sub>L</sub>に続いて存在してもよい。当技術分野で公知のまたは本明細書に記載の任意の好適なFcドメインを使用することができる。一部の場では、Fcドメインは、IgG1 Fcドメインを含む。一部の実施形態では、IgG1 Fcドメインは、配列番号370またはその部分を含む。配列番号370は、ヒトIgG1定常領域のC<sub>H1</sub>、C<sub>H2</sub>、およびC<sub>H3</sub>の配列を提供する。

20

【0033】

[0066] 「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均質な抗体の集団に由来する抗体を指す。実質的に均質な抗体の集団は、モノクローナル抗体の産生中に通常生じ得る変異体を除き、実質的に類似しており、同じエピトープに結合する抗体を含む。そのような変異体は、一般に、わずかな量しか存在しない。モノクローナル抗体は、典型的には、複数の抗体からの単一の抗体を選択することを含むプロセスにより得られる。例えば、選択プロセスは、ハイブリドーマクローン、ファージクローン、酵母クローン、細菌クローン、または他の組換えDNAクローンのプールなど、複数のクローンからの固有のクローンを選択することであってもよい。選択された抗体は、例えば、標的に対する親和性を向上させるために(「親和性成熟」)、抗体をヒト化するために、細胞培養でのその産生を向上させるために、および/または対象におけるその免疫原性を低減させるために、さらに変更することができる。

30

【0034】

[0067] 「キメラ抗体」という用語は、重鎖および/または軽鎖の部分は特定の供給源または種に由来するが、重鎖および/または軽鎖の残りは異なる供給源または種に由来する抗体を指す。

【0035】

[0068] 非ヒト抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト抗体に由来する最小限の配列を含むキメラ抗体である。ヒト化抗体は、一般に、1つまたは複数のCDRの残基が、非ヒト抗体(ドナー抗体)の1つまたは複数のCDRの残基により置き換えられているヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)である。ドナー抗体は、所望の特異性、親和性、または生物学的効果を有するマウス、ラット、ウサギ、ニワトリ、または非ヒト霊長類抗体など、任意の好適な非ヒト抗体であってもよい。一部の場では、レシピエント抗体の選択されたフレームワーク領域残基は、ドナー抗体の対応するフレームワーク領域残基により置き換えられている。また、ヒト化抗体は、レシピエント抗体またはドナー抗体のいずれにも見られない残基を含んでいてもよい。そのような修飾をなして、抗体機能をさらに洗練させることができる。さらなる詳細は、Jones et al., *Nature*, 1986, 321:522-525; Riechmann et al., *Nature*, 1988, 332:323-329; および Presta, *Curr. Opin. Struct. Bi*

40

50

01, 1992, 2:593-596を参照。これらの文献の各々は、その全体が参照により組み込まれる。

【0036】

[0069] 「ヒト抗体」は、ヒトまたはヒト細胞により産生される抗体のアミノ酸配列に対応するか、またはヒト抗体レパートリーもしくはヒト抗体コード配列（例えば、ヒト供給源から得られるかまたはde novoで設計される）が使用される非ヒト供給源に由来するアミノ酸配列を有するものである。ヒト抗体は、ヒト化抗体を明確に除外する。

【0037】

[0070] 「単離された抗体」は、その天然環境の成分から分離および/または回収されたものである。天然環境の成分としては、酵素、ホルモン、および他のタンパク質性または非タンパク質性物質を挙げることができる。一部の実施形態では、単離された抗体は、例えば、スピニングカップ配列決定装置（spinning cup sequenator）を使用することにより、N末端または内部アミノ酸配列の少なくとも15残基を得るのに十分な度合いにまで精製されている。一部の実施形態では、単離された抗体は、還元条件下または非還元条件下でのゲル電気泳動（例えば、SDS-PAGE）より均質に精製され、クーマシーブルー染色または銀染色で検出される。単離された抗体は、抗体の天然環境の少なくとも1つの成分が存在しないため、組換え細胞内の*in situ*抗体を含む。一部の態様では、単離された抗体は、少なくとも1つの精製工程により調製される。

10

【0038】

[0071] 一部の実施形態では、単離された抗体は、少なくとも80重量%、85重量%、90重量%、95重量%、または99重量%まで精製される。一部の実施形態では、単離された抗体は、少なくとも80容積%、85容積%、90容積%、95容積%、または99容積%まで精製される。一部の実施形態では、単離された抗体は、少なくとも85重量%、90重量%、95重量%、98重量%、99重量%~100重量%を含む溶液として提供される。一部の実施形態では、単離された抗体は、少なくとも85容積%、90容積%、95容積%、98容積%、99容積%~100容積%を含む溶液として提供される。

20

【0039】

[0072] 「親和性」は、分子（例えば、抗体）の単一結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間にある非共有結合相互作用の総計の強さを指す。別様の指示がない限り、本明細書で使用される場合、「結合親和性」は、結合対のメンバー（例えば、抗体および抗原）間の1:1相互作用を反映する元来の結合親和性を指す。分子XのそのパートナーYに対する親和性は、解離定数( $K_D$ )で表すことができる。親和性は、本明細書に記載されているものを含む、当技術分野で公知の一般的な方法により測定することができる。親和性は、例えば、Biacore（登録商標）機器など、表面プラズモン共鳴（SPR）技術を使用して決定することができる。一部の実施形態では、親和性は、25で決定される。

30

【0040】

[0073] 標的分子に対する抗体の結合に関して、特定の抗原（例えば、ポリペプチド標的）または特定の抗原にあるエピトープに対する「特異的結合」、それに「特異的に結合する」、それに「対して特異的」、それに「選択的に結合する」、およびそれに「対して選択的」という用語は、非特異的相互作用または非選択的相互作用とは異なることが測定可能な結合であることを意味する。特異的結合は、例えば、対照分子の結合と比較して分子の結合を決定することにより測定することができる。特異的結合は、標的にある抗体結合部位を模倣する対照分子との競合により決定することもできる。その場合、標的に対する抗体の結合が対照分子により競合的に阻害される場合、特異的結合であることが示される。

40

【0041】

[0074] 「 $k_d$ 」（ $\text{秒}^{-1}$ ）という用語は、本明細書で使用される場合、特定の抗体-抗原相互作用の解離速度定数を指す。この値は、 $k_{off}$ 値とも呼ばれる。

【0042】

50

[0075] 「 $k_a$ 」 ( $M^{-1} \times \text{秒}^{-1}$ ) という用語は、本明細書で使用される場合、特定の抗体 - 抗原相互作用の結合速度定数を指す。この値は、 $k_{on}$  値とも呼ばれる。

【0043】

[0076] 「 $K_D$ 」 ( $M$ ) という用語は、本明細書で使用される場合、特定の抗体 - 抗原相互作用の解離平衡定数を指す。 $K_D = k_d / k_a$  である。

【0044】

[0077] 「 $k_A$ 」 ( $M^{-1}$ ) という用語は、本明細書で使用される場合、特定の抗体 - 抗原相互作用の結合平衡定数を指す。 $K_A = k_a / k_d$  である。

【0045】

[0078] 「親和性成熟」抗体は、変更を保有していない親抗体と比較して、その抗原に対する抗体の親和性の向上をもたらす1つまたは複数の変更を1つまたは複数のCDRまたはFRに有するものである。1つの実施形態では、親和性成熟抗体は、標的抗原に対してナノモルまたはピコモルの親和性を有する。親和性成熟抗体は、当技術分野で公知の様々な方法を使用して産生することができる。例えば、Marksら (Bio/Technology, 1992, 10:779-783。この文献はその全体が参照により組み込まれる) には、 $V_H$  および  $V_L$  ドメインシャッフリングによる親和性成熟が記載されている。CDR残基および/またはフレームワーク残基のランダム突然変異誘発は、例えば、Barbasら (Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 1994, 91:3809-3813); Schier et al., Gene, 1995, 169:147-155; Yelton et al., J. Immunol., 1995, 155:1994-2004; Jackson et al., J. Immunol., 1995, 154:3310-33199; および Hawkins et al., J. Mol. Biol., 1992, 226:889-896に記載されている。これらの文献の各々はその全体が参照により組み込まれる。

【0046】

[0079] 2つまたはそれよりも多くの抗体の状況において本明細書で使用される場合、「競合する」または「交差競合する」という用語は、2つまたはそれよりも多くの抗体が、抗原 (例えば、葉酸受容体アルファまたはFOLR1) に対する結合を競合することを示す。1つの代表的なアッセイでは、FOLR1をプレートにコーティングし、一次抗体との結合を可能にさせ、その後二次標識抗体を添加する。一次抗体の存在が二次抗体の結合を低減させる場合、抗体は競合する。別の代表的なアッセイでは、一次抗体をプレートにコーティングし、抗原との結合を可能にさせ、次いで二次抗体を添加する。また、「と競合する」という用語は、1つの抗体は別の抗体の結合を低減させるが、抗体を逆の順序で添加した場合に競合が観察されない抗体の組合せを含む。しかしながら、一部の実施形態では、第1および第2の抗体は、それらが添加される順序に関わりなく、互いの結合を阻害する。一部の実施形態では、1つの抗体は、その抗原に対する別の抗体の結合を、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%低減させる。

【0047】

[0080] 「エピトープ」という用語は、抗体と特異的に結合することが可能な抗原の部分を意味する。エピトープは、表面の接近可能なアミノ酸残基および/または糖側鎖で構成されることが多く、特定の三次元構造特色ならびに特定の電荷特色を有する場合がある。立体構造エピトープおよび非立体構造エピトープは、変性溶媒の存在下において前者に対する結合は失われるが、後者に対する結合は失われないという点で区別される。エピトープは、結合に直接的に関与するアミノ酸残基、および結合に直接的には関与しない他のアミノ酸残基を含んでいてもよい。抗体が結合するエピトープは、例えば、異なる点突然変異を有する葉酸受容体アルファ (FOLR1) の変異体に対する抗体結合を試験することなど、エピトープを決定するための公知技法を使用して決定することができる。

【0048】

[0081] ポリペプチド配列と参照配列との「同一性」パーセントは、配列をアラインし、必要に応じて最大の配列同一性パーセントを達成するためにギャップを導入した後で、参



照配列のアミノ酸残基と同一であるポリペプチド配列のアミノ酸残基のパーセンテージであると規定される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的でのアラインメントは、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、MEGALIGN(DNASTAR)、CLUSTALW、CLUSTAL OMEGA、またはMUSCLEソフトウェアなどの、公的に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用して、当技術分野の技術の範囲内にある種々の様式で達成することができる。当業者であれば、比較されている配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、配列をアラインするための適切なパラメータを決定することができる。

【0049】

[0082] 「保存的置換」または「保存的アミノ酸置換」は、化学的または機能的に類似するアミノ酸によるアミノ酸の置換を指す。類似のアミノ酸を提供する保存的置換表は、当技術分野で周知である。そのような置換を有するポリペプチド配列は、「保存的に修飾された変異体」として知られている。そのような保守的に修飾された変異体は、多型変異体、種間ホモログ、および対立遺伝子に加えてのものであり、それらを除外しない。例として、表2～4に提供されているアミノ酸の群は、一部の実施形態では、互いに保存的置換とみなされる。

【0050】

【表2】

表2. ある特定の実施形態において互いに保存的置換であるとみなされるアミノ酸の選択された群

酸性残基	DおよびE
塩基性残基	K、R、およびH
親水性非荷電残基	S、T、N、およびQ
脂肪族非荷電残基	G、A、V、L、およびI
非極性非荷電残基	C、M、およびP
芳香族残基	F、Y、およびW
アルコール基含有残基	SおよびT
脂肪族残基	I、L、V、およびM
シクロアルケニル関連残基	F、H、W、およびY
疎水性残基	A、C、F、G、H、I、L、M、R、T、V、W、およびY
負荷電残基	DおよびE
極性残基	C、D、E、H、K、N、Q、R、S、およびT
正荷電残基	H、K、およびR
小型残基	A、C、D、G、N、P、S、T、およびV
非常に小型の残基	A、G、およびS
ターン形成に関与する残基	A、C、D、E、G、H、K、N、Q、R、S、P、およびT
可撓性残基	Q、T、K、S、G、P、D、E、およびR

【0051】

## 【表 3】

表 3. ある特定の実施形態において互いに保存的置換であるとみなされるアミノ酸の追加の選択された群

群 1	A、S、およびT
群 2	DおよびE
群 3	NおよびQ
群 4	RおよびK
群 5	I、L、およびM
群 6	F、Y、およびW

10

## 【0052】

## 【表 4】

表 4. ある特定の実施形態において互いに保存的置換であるとみなされるアミノ酸のさらなる選択された群

群 A	AおよびG
群 B	DおよびE
群 C	NおよびQ
群 D	R、K、およびH
群 E	I、L、M、V
群 F	F、Y、およびW
群 G	SおよびT
群 H	CおよびM

20

## 【0053】

30

[0083] 追加の保存的置換は、例えば、Creighton, Proteins: Structures and Molecular Properties 2nd ed. (1993) W. H. Freeman & Co., New York, NYに見出すことができる。親抗体のアミノ酸残基の1つまたは複数の保存的置換を行うことにより生成される抗体は、「保存的に修飾された変異体」と呼ばれる。

## 【0054】

[0084] 「アミノ酸」という用語は、20種の通常の天然に存在するアミノ酸を指す。天然に存在するアミノ酸としては、アラニン (Ala; A)、アルギニン (Arg; R)、アスパラギン (Asn; N)、アスパラギン酸 (Asp; D)、システイン (Cys; C)、グルタミン酸 (Glu; E)、グルタミン (Gln; Q)、グリシン (Gly; G); ヒスチジン (His; H)、イソロイシン (Ile; I)、ロイシン (Leu; L)、リジン (Lys; K)、メチオニン (Met; M)、フェニルアラニン (Phe; F)、プロリン (Pro; P)、セリン (Ser; S)、スレオニン (Thr; T)、トリプトファン (Trp; W)、チロシン (Tyr; Y)、およびバリン (Val; V) が挙げられる。

40

## 【0055】

[0085] 天然コードアミノ酸は、当業者に公知のタンパク新生アミノ酸である。天然コードアミノ酸としては、20種の通常アミノ酸 (アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、およびバリン) ならびにあまり一般的ではないピロリ

50

ジンおよびセレノシステインが挙げられる。天然コードアミノ酸としては、プレニル化アミノ酸、イソプレニル化アミノ酸、ミリストイル化 (myristoylated) アミノ酸、パルミトイル化アミノ酸、N連結型グリコシル化アミノ酸、O連結型グリコシル化アミノ酸、リン酸化アミノ酸、およびアシル化アミノ酸など、22種の天然に存在するアミノ酸の翻訳後変異体が挙げられる。

【0056】

[0086] 「非天然アミノ酸」という用語は、タンパク新生アミノ酸ではないアミノ酸、またはその翻訳後修飾変異体を指す。特に、この用語は、20種の通常アミノ酸またはピロリジンまたはセレノシステインの1つではないアミノ酸、またはその翻訳後修飾変異体を指す。

10

【0057】

[0087] 「コンジュゲート」または「抗体コンジュゲート」という用語は、1つまたは複数のペイロード部分に連結された抗体を指す。抗体は、本明細書に記載の任意の抗体であってもよい。ペイロードは、本明細書に記載の任意のペイロードであってもよい。抗体は、共有結合を介してペイロードに直接的に連結されていてもよく、または抗体は、リンカーを介してペイロードに間接的に連結されていてもよい。典型的には、リンカーは、抗体と共有結合で結合されており、ペイロードにも共有結合で結合されている。「抗体薬物コンジュゲート」または「ADC」という用語は、少なくとも1つのペイロードが、薬物などの療法部分であるコンジュゲートを指す。

【0058】

[0088] 「ペイロード」という用語は、抗体にコンジュゲートすることができる分子部分を指す。特定の実施形態では、ペイロードは、療法部分および標識部分からなる群から選択される。

20

【0059】

[0089] 「リンカー」という用語は、少なくとも2つの共有結合を形成することが可能な分子部分を指す。典型的には、リンカーは、抗体に対して少なくとも1つの共有結合を形成し、ペイロードに対して少なくとも別の共有結合を形成することが可能である。ある特定の実施形態では、リンカーは、抗体に対して1つよりも多くの共有結合を形成することができる。ある特定の実施形態では、リンカーは、ペイロードに対して1つよりも多くの共有結合を形成してもよく、または1つよりも多くのペイロードと共有結合を形成してもよい。リンカーが、抗体またはペイロードまたはその両方との結合を形成した後の残りの構造、つまり1つまたは複数の共有結合が形成された後のリンカーの残基は、本明細書では依然として「リンカー」と呼ばれる場合がある。「リンカー前駆体」という用語は、抗体またはペイロードまたはその両方と共有結合を形成することが可能な1つまたは複数の反応性基を有するリンカーを指す。一部の実施形態では、リンカーは、切断可能なリンカーである。例えば、切断可能なリンカーは、遺伝子操作されてもよくまたはされていなくてもよい、生体不安定化機能により放出されるリンカーであってもよい。一部の実施形態では、リンカーは、切断不能なリンカーである。例えば、切断不能なリンカーは、抗体の分解時に放出されるリンカーであってもよい。

30

【0060】

[0090] 任意の疾患または障害を「治療すること」または「治療」は、ある特定の実施形態では、対象に存在する疾患または障害を改善することを指す。別の実施形態では、「治療すること」または「治療」は、対象が感知しにくい場合がある少なくとも1つの身体的パラメータを改善することを含む。さらに別の実施形態では、「治療すること」または「治療」は、身体的（例えば、感知可能な症状の安定化）もしくは生理学的（例えば、身体的パラメータの安定化）のいずれかまたはその両方で、疾患または障害をモジュレートすることを含む。さらに別の実施形態では、「治療すること」または「治療」は、疾患または障害の発症を遅延または予防することを含む。

40

【0061】

[0091] 本明細書で使用される場合、「治療有効量」または「有効量」という用語は、対

50

象に投与されると疾患または障害の治療に有効である抗体または組成物の量を指す。一部の実施形態では、治療有効量または有効量は、対象に投与されると、疾患もしくは疾患の進行の予防もしくは改善に有効であるか、または症状の改善をもたらす抗体または組成物の量を指す。

【0062】

[0092] 本明細書で使用される場合、「成長を阻害する」（例えば、腫瘍細胞などの細胞を参照する）という用語は、葉酸受容体アルファ（FOLR1）抗体と接触すると、FOLR1抗体と接触していない同じ細胞の成長と比較して、細胞成長（例えば、腫瘍細胞成長）を測定可能に減少させることを含むことが意図されている。一部の実施形態では、成長を、少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、99%、または100%阻害することができる。細胞成長の減少は、これらに限定されないが、抗体内部移行、アポトーシス、壊死、および/またはエフェクター機能媒介性活性を含む、様々な機序により生じ得る。

10

【0063】

[0093] 本明細書で使用される場合、「対象」という用語は、哺乳動物対象を意味する。代表的な対象としては、これらに限定されないが、ヒト、サル、イヌ、ネコ、マウス、ラット、ウシ、ウマ、ラクダ、トリ、ヤギ、およびヒツジが挙げられる。ある特定の実施形態では、対象はヒトである。一部の実施形態では、対象は、本明細書で提供される抗体で治療または診断することができる疾患を有する。一部の実施形態では、疾患は、胃癌、結腸直腸癌、腎細胞癌、子宮頸癌、非小細胞肺癌、卵巣がん、乳がん、トリプルネガティブ乳がん、子宮内膜がん、前立腺がん、および/または上皮起源のがんである。

20

【0064】

[0094] 本明細書に示されている一部の化学構造では、ある特定の置換基、化学基、および原子は、1つまたは複数の結合と交差して、置換基、化学基、および原子がそれを介して結合されている原子を示す曲線/波線（例えば、

【0065】

【化1】

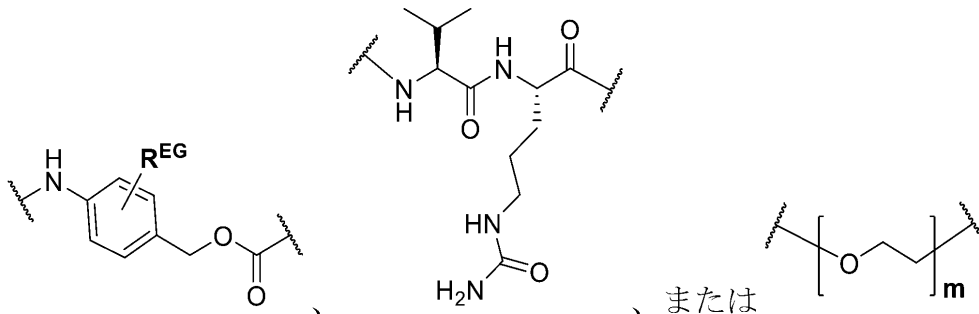


30

）と共に示されている。例えば、これらに限定されないが、

【0066】

【化2】

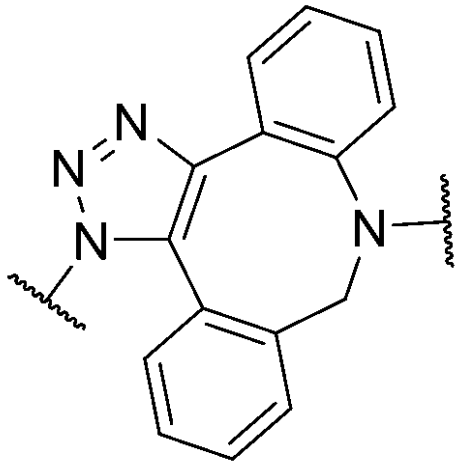


40

などの一部の構造では、この曲線/波線は、図示されている化学的実体が結合しているコンジュゲートまたはリンカー-ペイロード構造の骨格にある原子を示す。これらに限定されないが、

【0067】

## 【化3】



10

などの一部の構造では、この曲線/波線は、図示されている化学的実体が結合している抗体または抗体断片にある原子ならびにコンジュゲートまたはリンカー-ペイロード構造の骨格にある原子を示す。

## 【0068】

20

[0095] 「部位特異的」という用語は、ポリペプチドの所定の配列位置でのポリペプチドの修飾を指す。修飾は、変異がほとんどまたは全くないポリペプチドの単一の予測可能な残基におけるものである。特定の実施形態では、修飾アミノ酸は、例えば組換え的にまたは合成的に、その配列位置に導入される。同様に、部分は、ポリペプチドの特定の配列位置での残基に「部位特異的に」連結されていてもよい。ある特定の実施形態では、ポリペプチドは、1つよりも多くの部位特異的修飾を含んでいてもよい。

## 【0069】

## 2. コンジュゲート

[0096] 本明細書では、葉酸受容体アルファ (FOLR1またはFoIR ) に対する抗体のコンジュゲートが提供される。コンジュゲートは、共有結合で直接的にまたはリンカーを介して間接的にペイロードに連結されている、FOLR1に対する抗体を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、1つのペイロードに連結されている。さらなる実施形態では、抗体は、1つよりも多くのペイロードに連結されている。ある特定の実施形態では、抗体は、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、またはそれよりも多くのペイロードに連結されている。

30

## 【0070】

[0097] ペイロードは、当業者が有用であるとみなす任意のペイロードであってもよい。ある特定の実施形態では、ペイロードは療法部分である。ある特定の実施形態では、ペイロードは、診断部分、例えば標識である。有用なペイロードは、下記のセクションおよび例に記載されている。

40

## 【0071】

[0098] リンカーは、抗体との少なくとも1つの結合およびペイロードとの少なくとも1つの結合を形成することが可能な任意のリンカーであってもよい。有用なリンカーは、下記のセクションおよび例に記載されている。

## 【0072】

[0099] 本明細書で提供されるコンジュゲートでは、抗体は、葉酸受容体アルファ (FOLR1またはFoIR ) に対して結合特異性を有する任意の抗体であってもよい。FOLR1は、任意の種に由来するものであってもよい。ある特定の実施形態では、FOLR1は、脊椎動物FOLR1である。ある特定の実施形態では、FOLR1は哺乳動物FOLR1である。ある特定の実施形態では、FOLR1はヒトFOLR1である。ある特定の実施形

50

態では、F O L R 1はマウスF O L R 1である。ある特定の実施形態では、F O L R 1はカニクイザルF O L R 1である。

【 0 0 7 3 】

[00100] ある特定の実施形態では、葉酸受容体アルファ (FOLR1またはFolR ) に対する抗体は、本明細書に記載の抗体と結合を競合する。ある特定の実施形態では、F O L R 1に対する抗体は、本明細書に記載の抗体と同じエピトープに結合する。

【 0 0 7 4 】

[00101] 抗体は、典型的には、複数のポリペプチド鎖を含むタンパク質である。ある特定の実施形態では、抗体は、2つの同一の軽(L)鎖および2つの同一の重(H)鎖を含むヘテロ四量体である。各軽鎖は、1つの共有結合のジスルフィド結合により重鎖と連結されており、各重鎖は、1つまたは複数の共有結合のジスルフィド結合により他方の重鎖に連結されており、また、各重鎖および各軽鎖は、1つまたは複数の鎖内ジスルフィド結合を有していてもよい。当業者に公知である通り、各重鎖は、典型的には、可変ドメイン(V<sub>H</sub>)およびそれに続く幾つかの定常ドメインを含む。各軽鎖は、典型的には、一方の末端にある可変ドメイン(V<sub>L</sub>)および定常ドメインを含む。当業者に公知である通り、抗体は、典型的には、それらの標的分子、つまり抗原に対して選択的な親和性を有する。

10

【 0 0 7 5 】

[00102] 本明細書で提供される抗体は、当業者に公知の任意の抗体形態を有していてもよい。本明細書で提供される抗体は、完全長であってもよくまたは断片であってもよい。代表的な完全長抗体としては、I g A、I g A 1、I g A 2、I g D、I g E、I g G、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g Mなどが挙げられる。代表的な断片としては、F v、F a b、F c、s c F v、s c F v - F cなどが挙げられる。

20

【 0 0 7 6 】

[00103] ある特定の実施形態では、コンジュゲートの抗体は、本明細書に記載の1つの、2つの、3つの、4つの、5つの、または6つのC D R配列を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートの抗体は、本明細書に記載の重鎖可変ドメイン(V<sub>H</sub>)を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートの抗体は、本明細書に記載の軽鎖可変ドメイン(V<sub>L</sub>)を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートの抗体は、本明細書に記載の重鎖可変ドメイン(V<sub>H</sub>)および本明細書に記載の軽鎖可変ドメイン(V<sub>L</sub>)を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートの抗体は、本明細書に記載の1対の重鎖可変ドメインおよび軽鎖可変ドメイン(V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub>対)を含む。

30

【 0 0 7 7 】

[00104] ある特定の実施形態では、コンジュゲートの抗体は、上記に記載の抗体のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で10個のアミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で9個のアミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で8個のアミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で7個のアミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で6個のアミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で5個のアミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で4つのアミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で3つのアミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で2つのアミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で1つの保存的アミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。一部の実施形態では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。例えば、ある特定の実施形態では、抗体は、最大で10個の保存的アミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で9つの保存的アミノ酸置換を有す

40

50

る上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で8つの保存的アミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で7つの保存的アミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で6つの保存的アミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で5つの保存的アミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で4つの保存的アミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で3つの保存的アミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で2つの保存的アミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、最大で1つの保存的アミノ酸置換を有する上記のアミノ酸配列のいずれかを含む。

10

20

30

40

50

**【0078】**

[00105] ある特定の実施形態では、抗体コンジュゲートは、1つまたは複数の反応性基を含む抗体から形成されていてもよい。ある特定の実施形態では、抗体コンジュゲートは、すべて天然コードアミノ酸で構成される抗体から形成されていてもよい。当業者であれば、幾つかの天然コードアミノ酸は、ペイロードまたはリンカーにコンジュゲーションすることが可能な反応性基を含むことを認識するであろう。こうした反応性基としては、システイン側鎖、リジン側鎖、およびアミノ末端基が挙げられる。こうした実施形態では、抗体コンジュゲートは、抗体反応性基の残基に連結されたペイロードまたはリンカーを含んでいてもよい。こうした実施形態では、ペイロード前駆体またはリンカー前駆体は、抗体反応性基との結合を形成することが可能な反応性基を含む。典型的な反応性基としては、マレイミド基、活性化カルボネート（p-ニトロフェニルエステルを含むがそれに限定されない）、活性化エステル（N-ヒドロキシスクシンイミド、p-ニトロフェニルエステル、およびアルデヒドを含むがこれらに限定されない）が挙げられる。特に有用な反応性基としては、システイン側鎖およびリジン側鎖との結合を形成するための、マレイミドおよびスクシンイミド、例えば、N-ヒドロキシスクシンイミドが挙げられる。さらなる反応性基は、下記のセクションおよび例に記載されている。

**【0079】**

[00106] さらなる実施形態では、抗体は、本明細書に記載の通り、反応性基を有する1つまたは複数の修飾アミノ酸を含む。典型的には、修飾アミノ酸は、天然コードアミノ酸ではない。こうした修飾アミノ酸は、リンカー前駆体またはペイロード前駆体と共有結合を形成するのに有用な反応性基を含んでいてもよい。当業者であれば、反応性基を使用して、ポリペプチドを、修飾アミノ酸と共有結合を形成することが可能な任意の分子実体に連結することができる。したがって、本明細書では、直接的にまたはリンカーを介して間接的にペイロードに連結されている修飾アミノ酸残基を含む抗体を含むコンジュゲートが提供される。代表的な修飾アミノ酸は、下記のセクションに記載されている。一般に、修飾アミノ酸は、相補的な反応性基を有するリンカーまたはペイロードとの結合を形成することが可能な反応性基を有する。

**【0080】**

[00107] 非天然アミノ酸は、抗体のポリペプチド鎖の選択された位置に配置される。こうした位置は、非天然アミノ酸との置換に最適な部位を提供するものとして特定された。各部位は、抗体を産生するための最適な構造、機能、および/または方法により非天然アミノ酸を保持することが可能である。

**【0081】**

[00108] ある特定の実施形態では、置換のための部位特異的位置は、安定した抗体を提供する。安定性は、当業者に明白な任意の技法により測定することができる。

**【0082】**

[00109] ある特定の実施形態では、置換のための部位特異的位置は、最適な機能的特性を有する抗体を提供する。例えば、抗体は、部位特異的非天然アミノ酸を有していない抗

体と比較して、その標的抗原に対する結合親和性の喪失をほとんどまたは全く示さない場合がある。ある特定の実施形態では、抗体は、部位特異的非天然アミノ酸を有していない抗体と比較して、結合の増強を示すことができる。

【0083】

[00110] ある特定の実施形態では、置換のための部位特異的位置は、有利に製作することができる抗体を提供する。例えば、ある特定の実施形態では、抗体は、下記で考察されているその合成方法において有利な特性を示す。ある特定の実施形態では、抗体は、部位特異的非天然アミノ酸を有していない抗体と比較して、産生時に収量の喪失をほとんどまたは全く示さない場合がある。ある特定の実施形態では、抗体は、部位特異的非天然アミノ酸を有していない抗体と比較して、産生時に収量の増強を示すことができる。ある特定の  
10

【0084】

[00111] ある特定の実施形態では、置換のための部位特異的位置は、有利な溶解性を有する抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体は、部位特異的非天然アミノ酸を有していない抗体と比較して、溶解度の喪失をほとんどまたは全く示さない場合がある。ある特定の実施形態では、抗体は、部位特異的非天然アミノ酸を有していない抗体と比較して、溶解度の増強を示すことができる。  
20

【0085】

[00112] ある特定の実施形態では、置換のための部位特異的位置は、有利な発現を有する抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体は、部位特異的非天然アミノ酸を有していない抗体と比較して、発現の喪失をほとんどまたは全く示さない場合がある。ある特定の実施形態では、抗体は、部位特異的非天然アミノ酸を有していない抗体と比較して、発現の増強を示すことができる。

【0086】

[00113] ある特定の実施形態では、置換のための部位特異的位置は、有利なフォールディングを有する抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体は、部位特異的非天然アミノ酸を有していない抗体と比較して、正しいフォールディングの喪失をほとんどまたは全く示さない場合がある。ある特定の実施形態では、抗体は、部位特異的非天然アミノ酸を有していない抗体と比較して、フォールディングの増強を示すことができる。  
30

【0087】

[00114] ある特定の実施形態では、置換のための部位特異的位置は、有利なコンジュゲーションが可能な抗体を提供する。下記に記載のように、幾つかの非天然アミノ酸は、直接的にまたはリンカーを介してのいずれかにより、抗体と第2の作用剤とのコンジュゲーションを容易にする側鎖または官能基を有する。ある特定の実施形態では、抗体は、他の位置に同じまたは他の非天然アミノ酸を有していない抗体と比較して、コンジュゲーション効率の増強を示すことができる。ある特定の実施形態では、抗体は、他の位置に同じまたは他の非天然アミノ酸を有していない抗体と比較して、コンジュゲーション収率の増強  
40

【0088】

[00115] 1つまたは複数の非天然アミノ酸は、抗体の少なくとも1つのポリペプチド鎖において選択された部位特異的位置に位置する。ポリペプチド鎖は、限定ではないが、いずれかの軽鎖またはいずれかの重鎖を含む、抗体の任意のポリペプチド鎖であってもよい。部位特異的位置は、任意の可変ドメインおよび任意の定常ドメインを含む、抗体の任意のドメインに存在してもよい。

【0089】

10

20

30

40

50



[00116] ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、部位特異的位置に1つの非天然アミノ酸を含む。ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、部位特異的位置に2つの非天然アミノ酸を含む。ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、部位特異的位置に3つの非天然アミノ酸を含む。ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、部位特異的位置に3つよりも多くの非天然アミノ酸を含む。

【0090】

[00117] ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、K a b a t付番スキームまたはC h o t h i a付番スキームまたはE U付番スキームによる重鎖残基または軽鎖残基H C - F 4 0 4、H C - K 1 2 1、H C - Y 1 8 0、H C - F 2 4 1、H C - 2 2 1、L C - T 2 2、L C - S 7、L C - N 1 5 2、L C - K 4 2、L C - E 1 6 1、L C - D 1 7 0、H C - S 1 3 6、H C - S 2 5、H C - A 4 0、H C - S 1 1 9、H C - S 1 9 0、H C - K 2 2 2、H C - R 1 9、H C - Y 5 2、またはH C - S 7 0からなる群から選択される位置に各々、1つもしくは複数の非天然アミノ酸またはそれらの翻訳後修飾変異体を含む。こうした呼称では、H Cは重鎖残基を示し、L Cは軽鎖残基を示す。

10

【0091】

[00118] ある特定の実施形態では、本明細書では、式(C1)または(C2)：

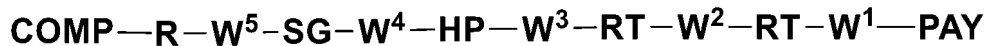
【0092】

【化4】

20



(C1)



(C2)

30

によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、位置異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、

COMPは、抗FOLR1抗体の残基であり、

PAYは、ペイロード部分であり、

W<sup>1</sup>、W<sup>2</sup>、W<sup>3</sup>、W<sup>4</sup>、およびW<sup>5</sup>は、各々独立して、単結合であるか、存在しないか、または二価の付着基であり、

EGは、存在しないか、またはエリミネーター基( eliminator group )であり、

各RTは、式(C1)もしくは(C2)の骨格にあるかまたはEGに結合されている放出誘発基であり、各RTは任意選択であり、

HPは、単結合であるか、存在しないか、または二価の親水性基であり、

40

SGは、単結合であるか、存在しないか、または二価のスペーサー基であり、

Rは、水素であるか、末端コンジュゲート基であるか、または末端コンジュゲート基の二価残基である。

【0093】

[00119] 一部の実施形態では、式(C1)または(C2)によるコンジュゲートは、n個のPAY部分を含み、nは1~8の整数である。一部の実施形態では、nは2である。一部の実施形態では、nは3である。一部の実施形態では、nは4である。一部の実施形態では、nは5である。一部の実施形態では、nは6である。一部の実施形態では、nは7である。一部の実施形態では、nは8である。

【0094】

50

## 付着基

[00120] 付着基は、エリミネーター基、放出誘発基、疎水性基、スパーサー基、および/またはコンジュゲート基の化合物への組込みを容易にする。有用な付着基は、当業者にとって公知であり、明白である。有用な付着基の例は、本明細書に提供されている。ある特定の実施形態では、付着基は、 $W^1$ 、 $W^2$ 、 $W^3$ 、 $W^4$ 、または $W^5$ と称される。ある特定の実施形態では、付着基は、二価ケトン、二価エステル、二価エーテル、二価アミド、二価アミン、アルキレン、アリーレン、スルフィド、ジスルフィド、カルボニレン、またはそれらの組合せを含んでいてもよい。ある特定の実施形態では、付着基は、 $-C(O)-$ 、 $-O-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-C(O)NH-$ アルキル-、 $-OC(O)NH-$ 、 $-SC(O)NH-$ 、 $-NH-$ 、 $-NH-$ アルキル-、 $-N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-OCH_2CH_2O-$ 、またはそれらの逆（例えば、 $-NHC(O)-$ ）、またはそれらの組合せを含んでいてもよい。

10

## 【0095】

## エリミネーター基

[00121] エリミネーター基は、本明細書に記載の化合物またはコンジュゲートの生物学的活性部分を、*in vivo*および/または*in vitro*で、化合物またはコンジュゲートの残りの部分から分離することを容易にする。また、エリミネーター基は、放出誘発基と併せて、本明細書に記載の化合物またはコンジュゲートの生物学的活性部分の分離を容易にすることができる。例えば、エリミネーター基および放出誘発基は、放出反応において反応して、本明細書に記載の化合物またはコンジュゲートの生物学的活性部分を、*in vivo*および/または*in vitro*で、化合物またはコンジュゲートから放出させることができる。放出誘発剤により放出反応が開始されると、エリミネーター基は、生物学的活性部分、または生物学的活性部分のプロドラッグ形態を切断し、生物学的活性部分の活性にさらなる影響を及ぼさない安定で非毒性の実体を形成する。

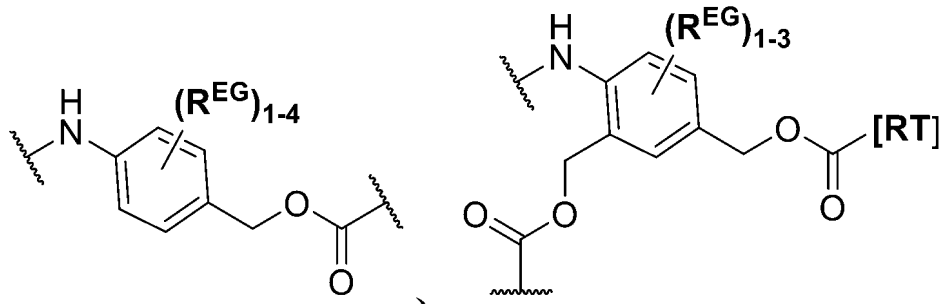
20

## 【0096】

[00122] ある特定の実施形態では、エリミネーター基は、本明細書ではEGと称される。有用なエリミネーター基としては、本明細書に記載されているものが挙げられる。ある特定の実施形態では、エリミネーター基は、

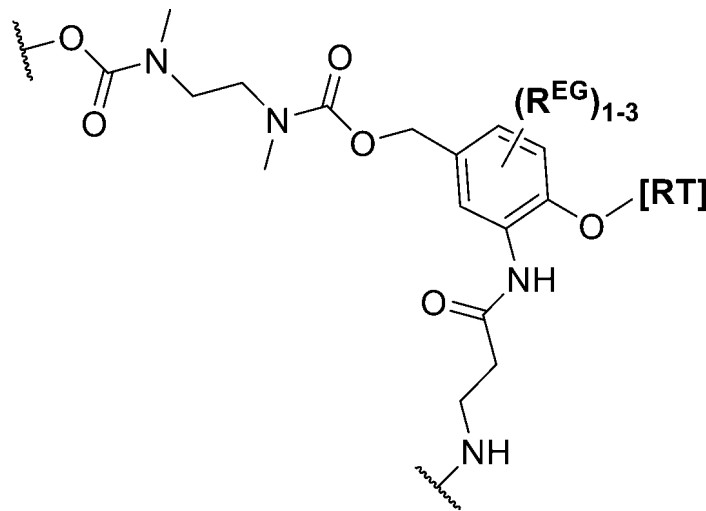
## 【0097】

【化5】



、または

10



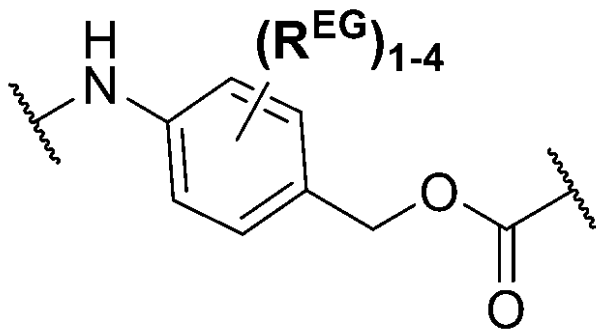
20

であり、式中、 $R^{EG}$ は、水素、アルキル、ビフェニル、 $-CF_3$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、フルオロ、プロモ、クロロ、アルコキシル、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルキル $-C(O)O-$ 、アルキルアミノ $-C(O)-$ 、およびジアルキルアミノ $C(O)-$ からなる群から選択される。各構造において、フェニル環には、1つ、2つ、3つ、または一部の場合では、4つの $R^{EG}$ 基が結合していてもよい。第2および第3の構造では、当業者であれば、EGは、式(C1)の上記の説明に示されている通り、式(C1)の骨格内にはないRTに結合されていることを認識するであろう。一部の実施形態では、 $R^{EG}$ は、水素、アルキル、ビフェニル、 $-CF_3$ 、アルコキシル、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルキル $-C(O)O-$ 、アルキルアミノ $-C(O)-$ 、およびジアルキルアミノ $C(O)-$ からなる群から選択される。さらなる実施形態では、 $R^{EG}$ は、水素、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、フルオロ、プロモ、およびクロロからなる群から選択される。ある特定の実施形態では、エリミネーター基は、

30

【0098】

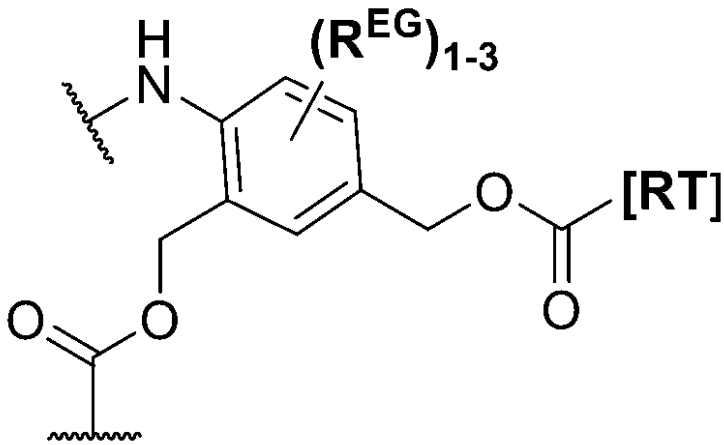
【化6】



10

である。ある特定の実施形態では、エリミネーター基は、  
【0099】

【化7】



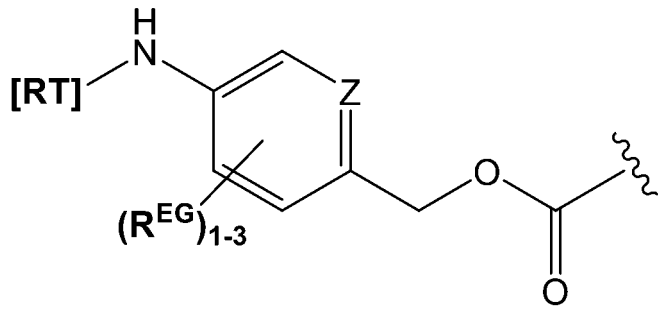
20

である。ある特定の実施形態では、エリミネーター基は、  
【0100】

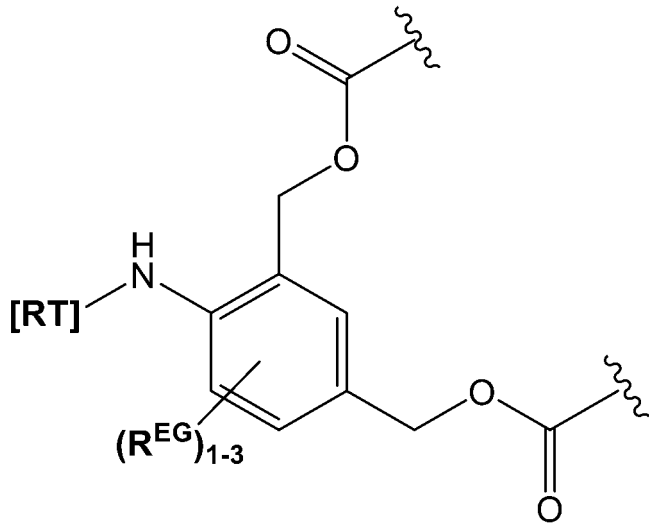
30



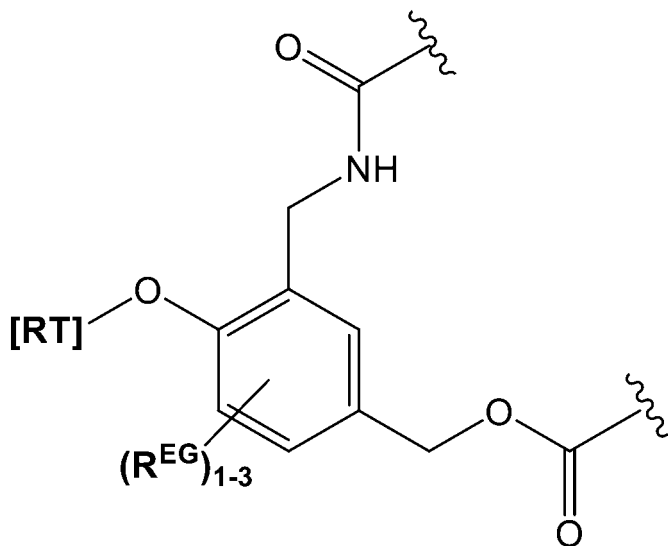
【化9】



10



20



30

40

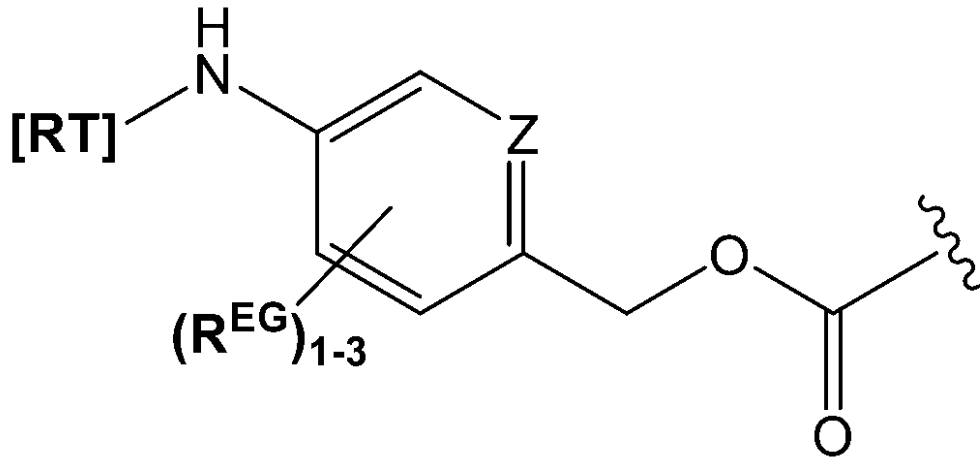
であり、式中、Zは、CHまたはNであってもよく、 $R^{EG}$ は、水素、アルキル、ビフェニル、 $-CF_3$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、フルオロ、プロモ、クロロ、アルコキシル、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルキル $-C(O)O-$ 、アルキルアミノ $-C(O)-$ 、およびジアルキルアミノ $C(O)-$ からなる群から選択される。各構造において、フェニル環には、1つ、2つ、3つ、または一部の 경우에는、4つの $R^{EG}$ 基が結合していてもよい。第1および第2の構造では、当業者であれば、EGは、式(C1)の上記の説明に示されている通り、式(C1)の骨格内にはないRTに結合されていることを認識するであろう。一部の実施形態では、 $R^{EG}$ は、水素、アルキル、ビフェニル、 $-CF_3$ 、アルコキ

50

シル、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルキル - C ( O ) O - 、アルキルアミノ - C ( O ) - 、およびジアルキルアミノ C ( O ) - からなる群から選択される。さらなる実施形態では、R<sup>EG</sup> は、水素、-NO<sub>2</sub>、-CN、フルオロ、プロモ、およびクロロからなる群から選択される。一部の実施形態では、EGの各R<sup>EG</sup> は、水素である。ある特定の

【0103】

【化10】



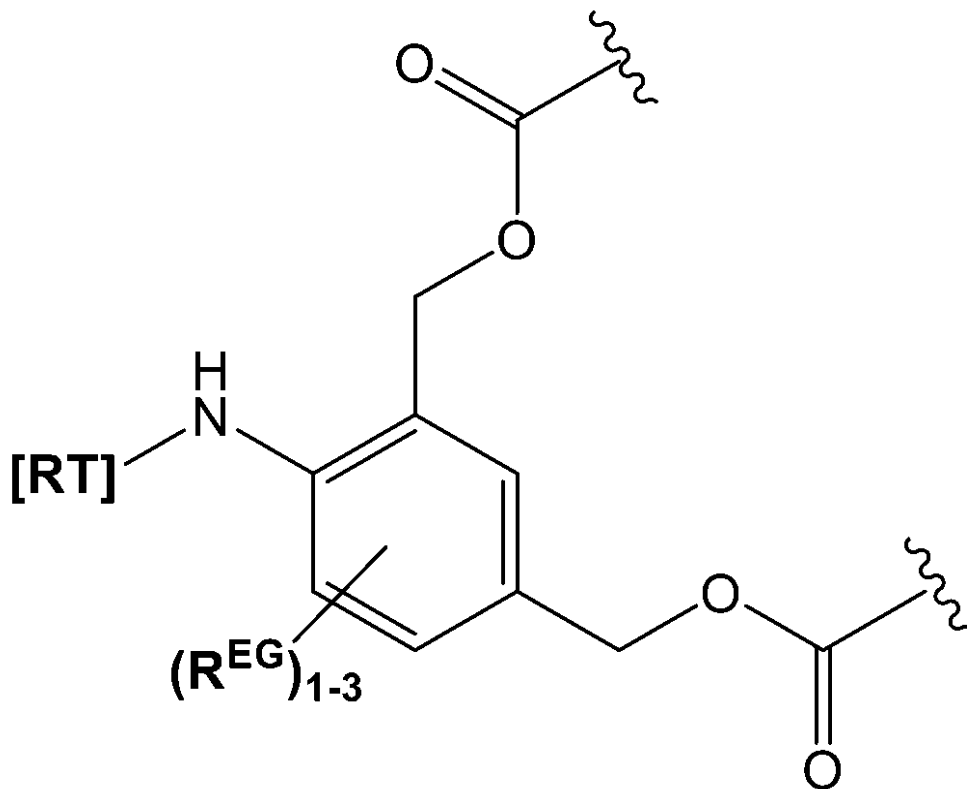
10

20

である。ある特定の実施形態では、エリミネーター基は、

【0104】

【化11】



30

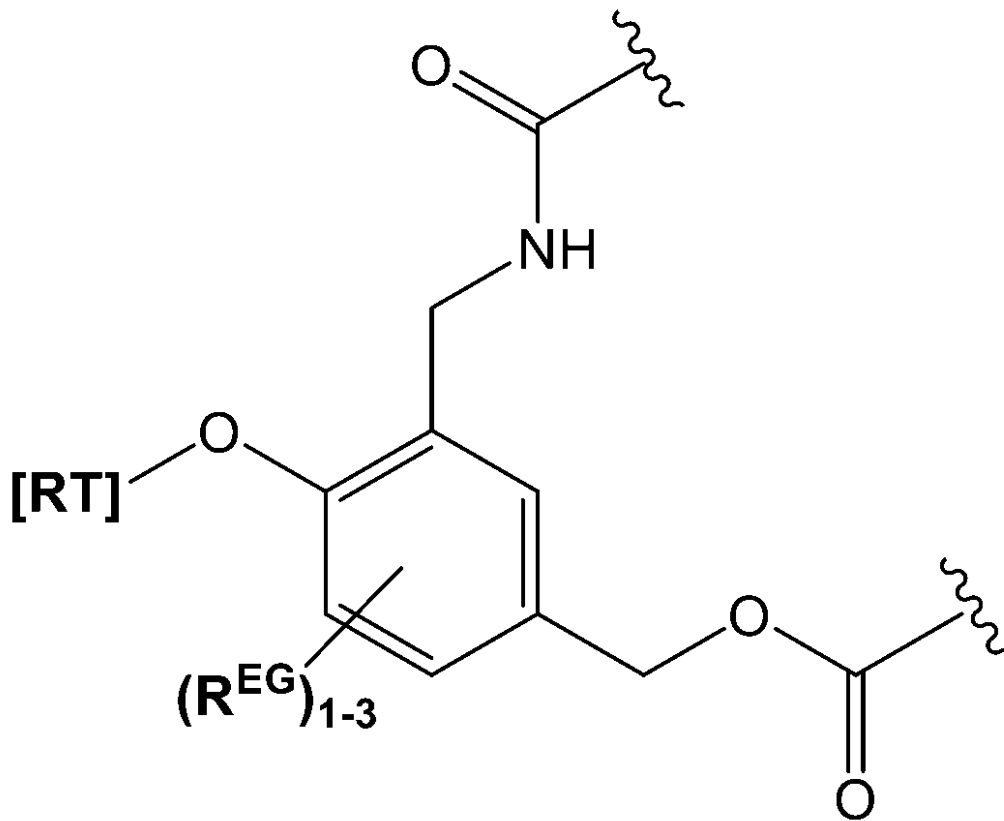
40

である。ある特定の実施形態では、エリミネーター基は、

【0105】

50

【化 1 2】



10

20

である。

【0106】

放出誘発基

[00124] 放出誘発基は、本明細書に記載の化合物またはコンジュゲートの生物学的活性部分を、*in vivo*および/または*in vitro*で、化合物またはコンジュゲートの残りの部分から分離することを容易にする。また、放出誘発基は、エリミネーター基と併せて、本明細書に記載の化合物またはコンジュゲートの生物学的活性部分の分離を容易にすることができる。例えば、エリミネーター基および放出誘発基は、放出反応において反応して、本明細書に記載の化合物またはコンジュゲートの生物学的活性部分を、*in vivo*および/または*in vitro*で、化合物またはコンジュゲートから放出させることができる。ある特定の実施形態では、放出誘発剤は、腫瘍環境において過剰発現される酵素のタンパク質分解作用などの、高い腫瘍：非腫瘍特異性を有する生物学的に推進される反応により作用することができる。

30

【0107】

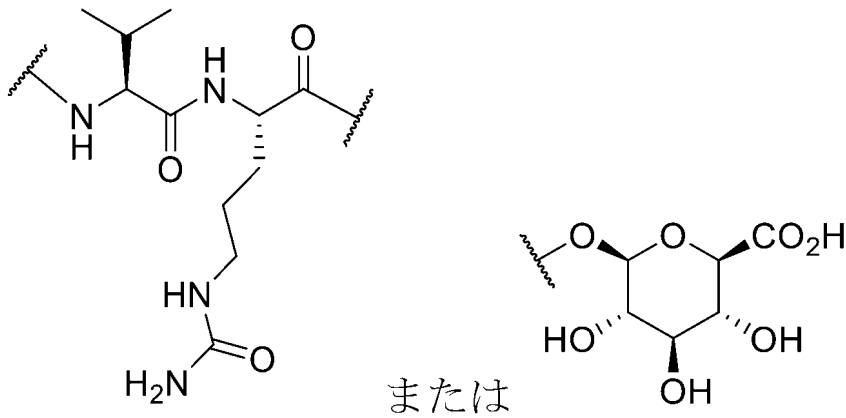
[00125] ある特定の実施形態では、放出誘発基は、本明細書ではRTと称される。ある特定の実施形態では、RTは二価であり、式(C1)の骨格内に結合されている。他の実施形態では、RTは一価であり、上記に示されている通り、EGに結合されている。有用な放出誘発基には、本明細書に記載されているものが挙げられる。ある特定の実施形態では、放出誘発基は、天然または非天然アミノ酸残基または糖環の残基を含む。ある特定の実施形態では、放出誘発基は、

40

【0108】



## 【化 1 3】



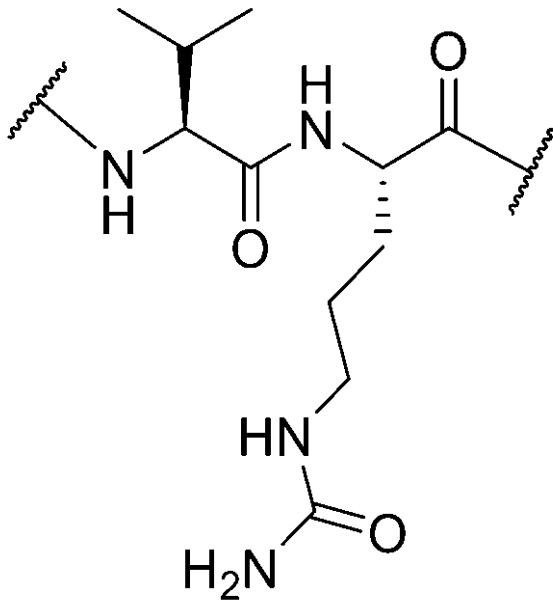
10

である。当業者であれば、第 1 の構造は、二価であり、式 (C1) の骨格内にまたは式 (C2) に示される通りに結合されていてもよく、第 2 の構造は、一価であり、上記の式 (C1) に示されている通り、EG に結合されていてもよいことを認識するであろう。ある特定の実施形態では、放出誘発基は、

【 0 1 0 9】

【化 1 4】

20



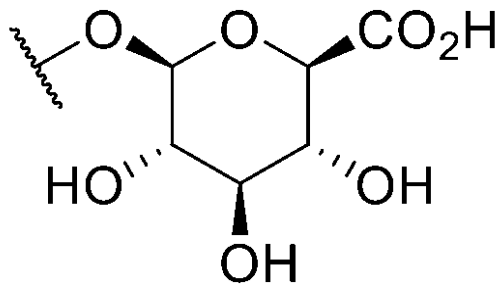
30

である。ある特定の実施形態では、放出誘発基は、

【 0 1 1 0】

40

【化 1 5】



10

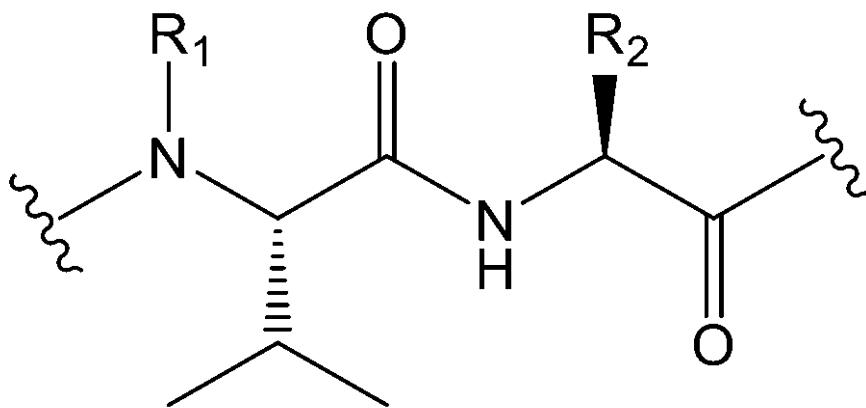
である。

【 0 1 1 1】

[00126] 一部の実施形態では、放出誘発基は、以下の構造：

【 0 1 1 2】

【化 1 6】



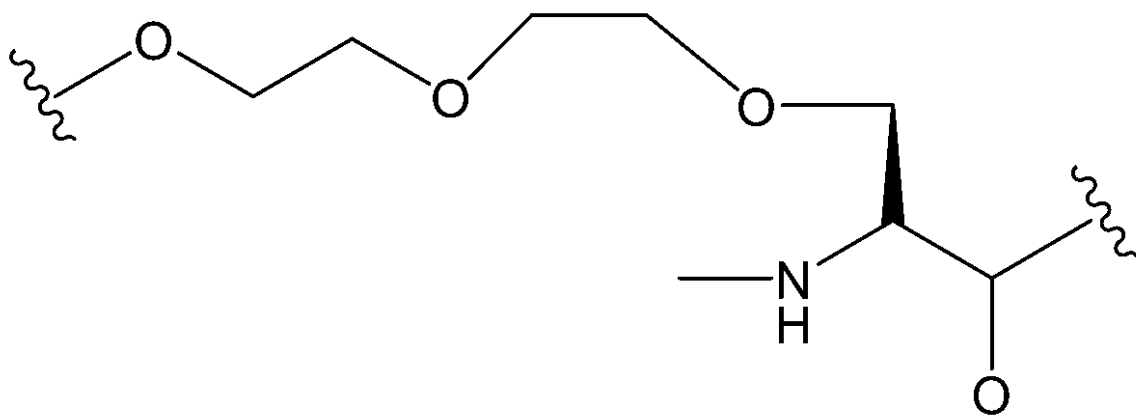
20

を有するプロテアーゼ切断可能な  $\text{R}_1$  - Val - X ペプチドであり、式中、 $\text{R}_1$  は、H であるか、または

30

【 0 1 1 3】

【化 1 7】

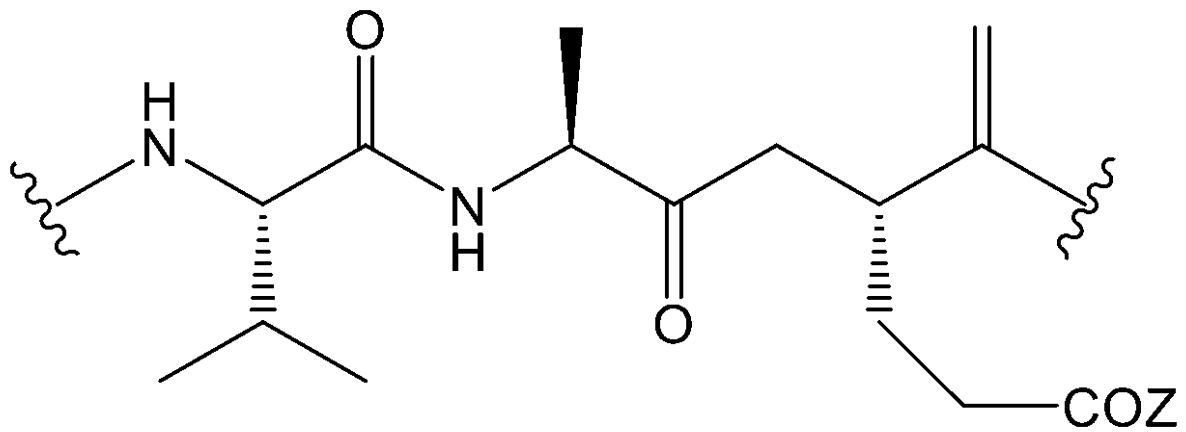


40

であり、 $\text{R}_2$  は、 $\text{CH}_3$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 、もしくは  $(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$  ; 以下の構造：

【 0 1 1 4】

【化18】

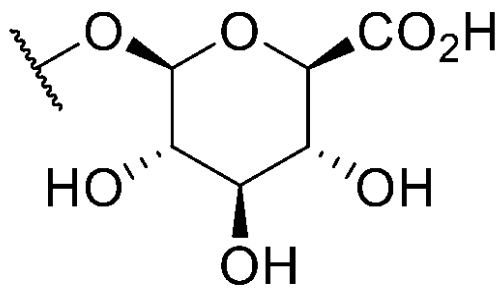


10

を有するレグミン切断可能なAla-Ala-AsnもしくはAla-Ala-Aspペプチド（式中、Zは、OHまたはNH<sub>2</sub>である）；または以下の構造：

【0115】

【化19】



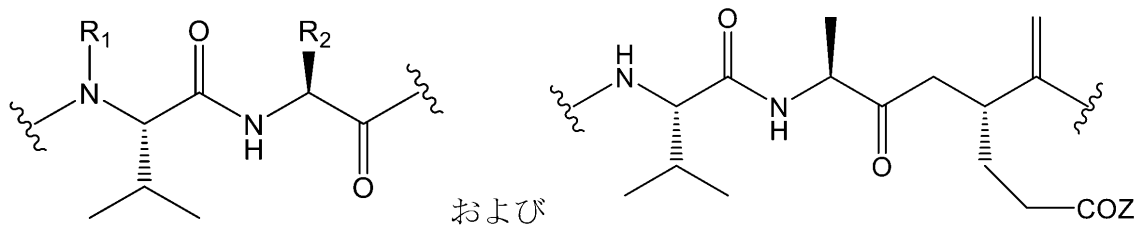
20

を有する -グルクロニダーゼ切断可能な -グルクロニドである。当業者であれば、

30

【0116】

【化20】

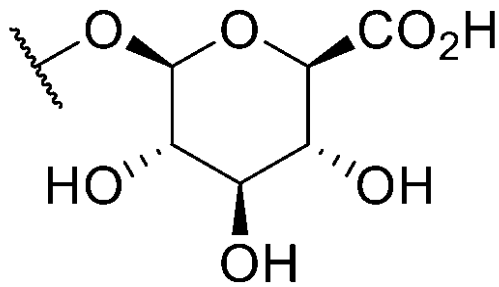


は二価構造であり、式(C1)の骨格内にまたは式(C2)に示されている通りに結合されていてもよいことを認識するであろう。構造：

40

【0117】

## 【化 2 1】



10

は一価であり、上記の式 (C1) に示されている通りに E G に結合されていてもよい。

## 【 0 1 1 8】

## 親水性基

[00127] 親水性基は、本明細書に記載されている化合物の親水性の増加を促進する。親水性の増加は、生物学的な系に見出される水性溶液などの水性溶液へのより大きな溶解性を可能にすると考えられる。また、親水性基は、本明細書でさらに詳細に記載されているスペーサー基として機能することができる。

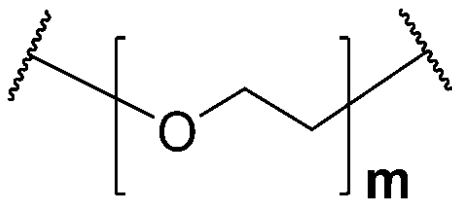
## 【 0 1 1 9】

[00128] ある特定の実施形態では、親水性基は、本明細書では H P と称される。有用な親水性基としては、本明細書に記載されているものが挙げられる。ある特定の実施形態では、親水性基は、二価ポリ(エチレングリコール)である。ある特定の実施形態では、親水性基は、式：

20

## 【 0 1 2 0】

## 【化 2 2】



30

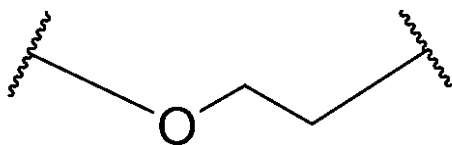
による二価ポリ(エチレングリコール)であり、式中、mは、1 ~ 13、任意選択により1 ~ 4、任意選択により2 ~ 4、または任意選択により4 ~ 8の整数である。

## 【 0 1 2 1】

[00129] 一部の実施形態では、親水性基は、以下の式：

## 【 0 1 2 2】

## 【化 2 3】



40

を有する二価ポリ(エチレングリコール)である。

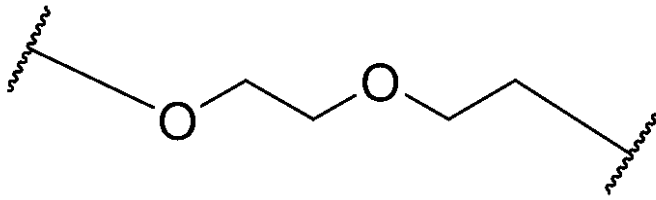
## 【 0 1 2 3】

[00130] 一部の他の実施形態では、親水性基は、以下の式：

## 【 0 1 2 4】

50

【化 2 4】



を有する二価ポリ(エチレングリコール)である。

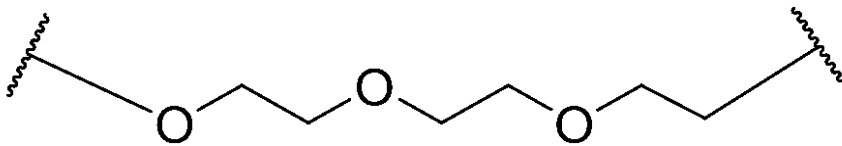
10

【0 1 2 5】

[00131] 他の実施形態では、親水性基は、以下の式：

【0 1 2 6】

【化 2 5】



20

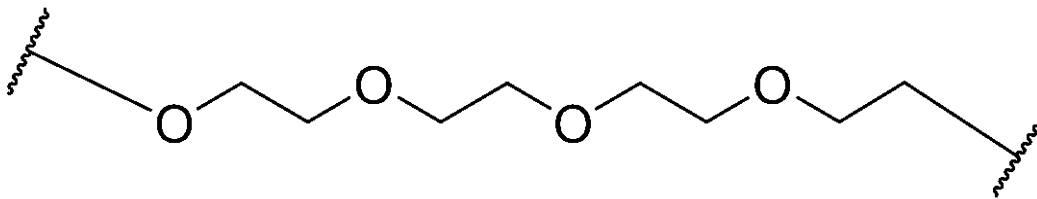
を有する二価ポリ(エチレングリコール)である。

【0 1 2 7】

[00132] 他の実施形態では、親水性基は、以下の式：

【0 1 2 8】

【化 2 6】



30

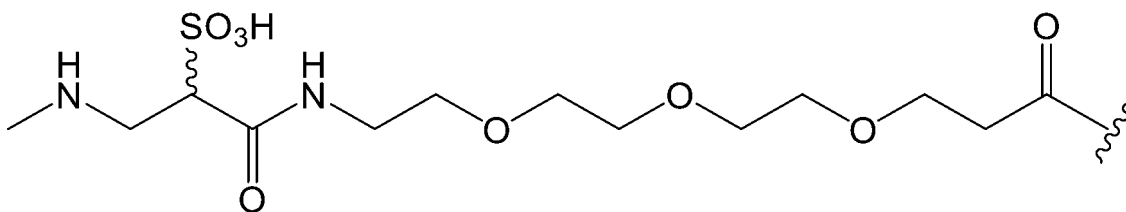
を有する二価ポリ(エチレングリコール)である。

【0 1 2 9】

[00133] 一部の実施形態では、親水性基は、式：

【0 1 3 0】

【化 2 7】



40

を有する、鎖に提示されたスルホン酸を保持することができる。

【0 1 3 1】

スペーサー基

[00134] スペーサー基は、コンジュゲート基と、本明細書に記載されている化合物の他

50

の基との離間を容易にする。この離間は、本明細書に記載の化合物と第2の化合物とのより効率的なコンジュゲーション、ならびに活性異化代謝産物のより効率的な切断をもたらすことができる。また、スペーサー基は、コンジュゲート基を安定化し、全体的な抗体-薬物コンジュゲート特性の向上をもたらすことができる。

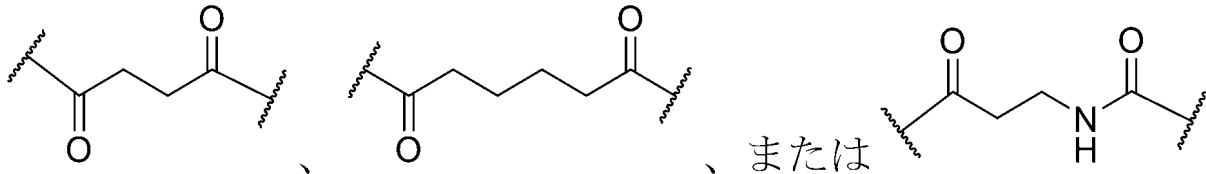
【0132】

[00135] ある特定の実施形態では、スペーサー基は、本明細書ではSPと称される。有用なスペーサー基としては、本明細書に記載されているものが挙げられる。ある特定の実施形態では、スペーサー基は、

【0133】

【化28】

10

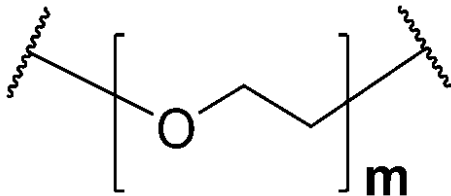


である。ある特定の実施形態では、スペーサー基、 $W^4$ 、および親水性基は一緒になって、式：

【0134】

20

【化29】



による二価ポリ(エチレングリコール)を形成し、式中、 $m$ は、1~13の、任意選択により1~4の、任意選択により2~4の、または任意選択により4~8の整数である。

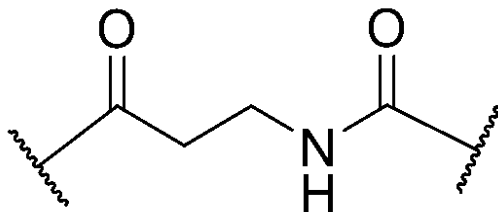
30

【0135】

[00136] 一部の実施形態では、SPは、

【0136】

【化30】



40

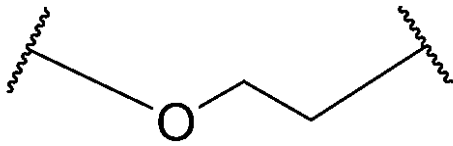
である。

【0137】

[00137] 一部の実施形態では、二価ポリ(エチレングリコール)は、以下の式：

【0138】

【化 3 1】



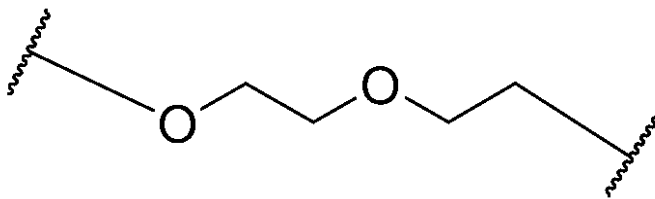
を有する。

【 0 1 3 9】

[00138] 一部の他の実施形態では、二価ポリ(エチレングリコール)は、以下の式：

【 0 1 4 0】

【化 3 2】



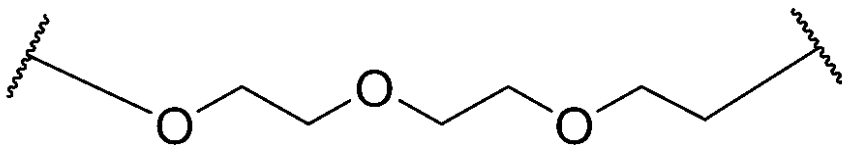
を有する。

【 0 1 4 1】

[00139] 他の実施形態では、二価ポリ(エチレングリコール)は、以下の式：

【 0 1 4 2】

【化 3 3】



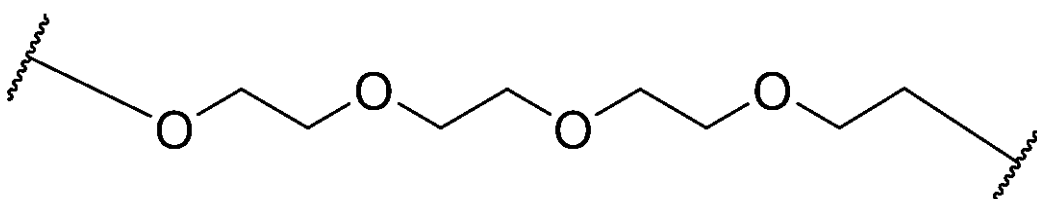
を有する。

【 0 1 4 3】

[00140] 他の実施形態では、二価ポリ(エチレングリコール)は、以下の式：

【 0 1 4 4】

【化 3 4】



を有する。

【 0 1 4 5】

[00141] 一部の実施形態では、親水性基は、式：

【 0 1 4 6】

10

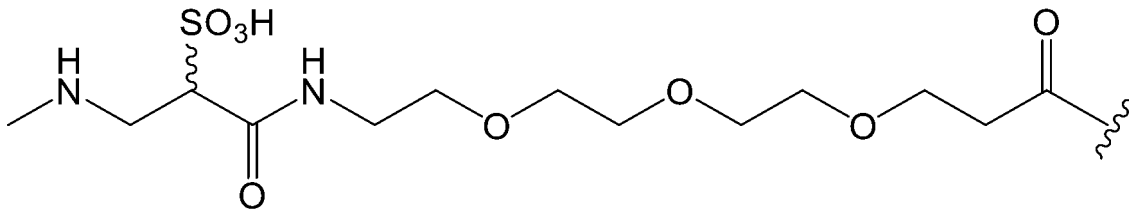
20

30

40

50

## 【化35】



を有する、鎖に提示されたスルホン酸を保持することができる。

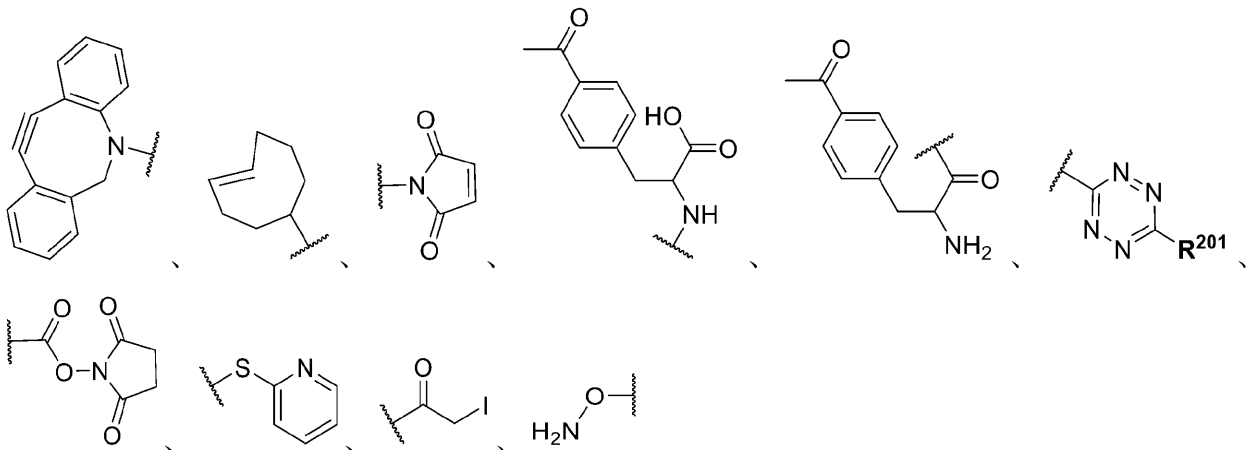
## 【0147】

コンジュゲート基およびその残基

[00142] コンジュゲート基は、本明細書に記載のペイロードと、本明細書に記載の抗体などの第2の化合物とコンジュゲーションを容易にする。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、本明細書ではRと称される。コンジュゲート基は、当業者に公知の任意の好適な反応機序により反応することができる。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、本明細書に詳細に記載の通りの、[3+2]アルキン-アジド環化付加反応、逆電子要求型Diels-Alderライゲーション反応、チオール-求電子反応、またはカルボニル-オキシアミン反応により反応する。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、アルキン、歪みアルキン、テトラジン、チオール、パラ-アセチル-フェニルアラニン残基、オキシアミン、マレイミド、またはアジドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、

## 【0148】

## 【化36】



、 $-N_3$ 、または $-SH$ であり、式中、 $R^{201}$ は低級アルキルである。一実施形態では、 $R^{201}$ は、メチル、エチル、またはプロピルである。一実施形態では、 $R^{201}$ はメチルである。追加のコンジュゲート基は、例えば、米国特許出願公開第2014/0356385号、米国特許出願公開第2013/0189287号、米国特許出願公開第2013/0251783号、米国特許第8,703,936号、米国特許第9,145,361号、米国特許第9,222,940号、および米国特許第8,431,558号に記載されている。

## 【0149】

[00143] コンジュゲーション後、コンジュゲート基の二価残基が形成され、第2の化合物の残基に結合する。二価残基の構造は、コンジュゲートを形成するために使用されるコンジュゲーション反応のタイプにより決定される。

## 【0150】

[00144] ある特定の実施形態では、コンジュゲートは、[3+2]アルキン-アジド環化付加反応により形成される場合、コンジュゲート基の二価残基は、トリアゾール環また

10

20

30

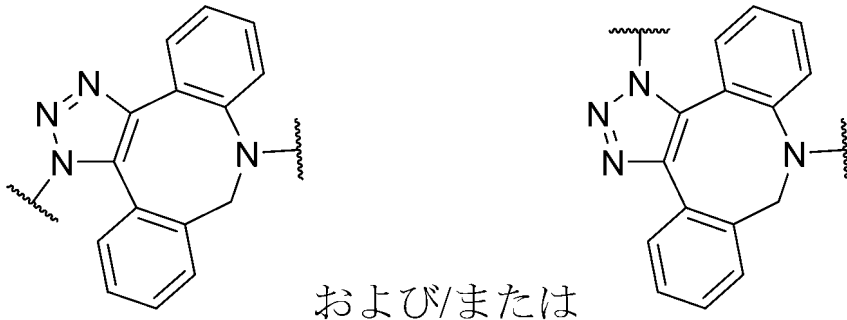
40

50



はトリアゾール環を含む縮合環式基を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートが、歪み促進型 [ 3 + 2 ] アルキン - アジド環化付加 ( SPAAC ) 反応により形成される場合、

【 0 1 5 1 】  
【 化 3 7 】



10

である。

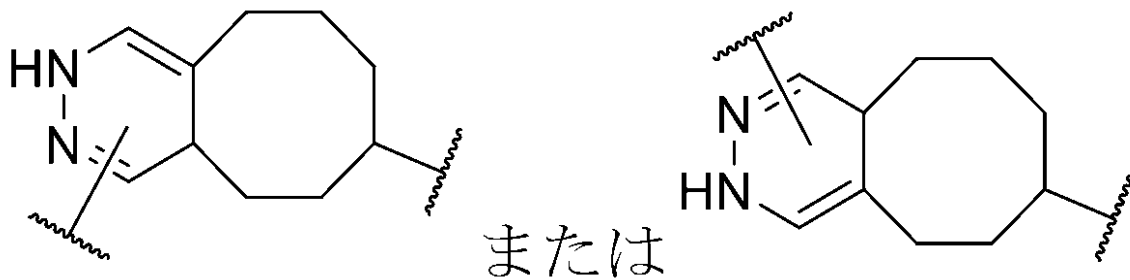
【 0 1 5 2 】

[00145] ある特定の実施形態では、コンジュゲートが、テトラジン逆電子要求型 Diels - Alder ライゲーション反応により形成される場合、コンジュゲート基の二価残基は、環に少なくとも 2 つの隣接する窒素原子を有する縮合二環式環を含む。ある特定の

20

【 0 1 5 3 】

【 化 3 8 】



30

である。

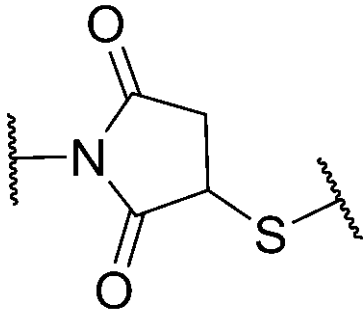
【 0 1 5 4 】

[00146] ある特定の実施形態では、コンジュゲートがチオール - マレイミド反応により形成される場合、コンジュゲート基の二価残基は、スクシンイミジレン ( succinimidylene ) および硫黄連結を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートがチオール - マレイミド反応により形成される場合、コンジュゲート基の二価残基は、

40

【 0 1 5 5 】

【化 3 9】



10

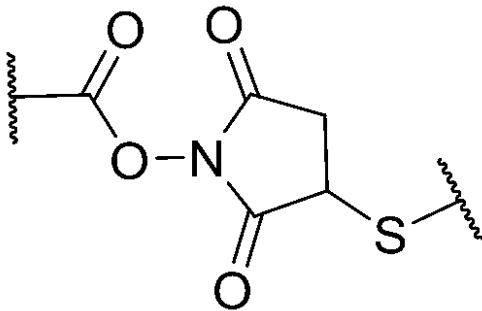
である。

【 0 1 5 6】

【00147】 ある特定の実施形態では、コンジュゲートは、以下の基：

【 0 1 5 7】

【化 4 0】



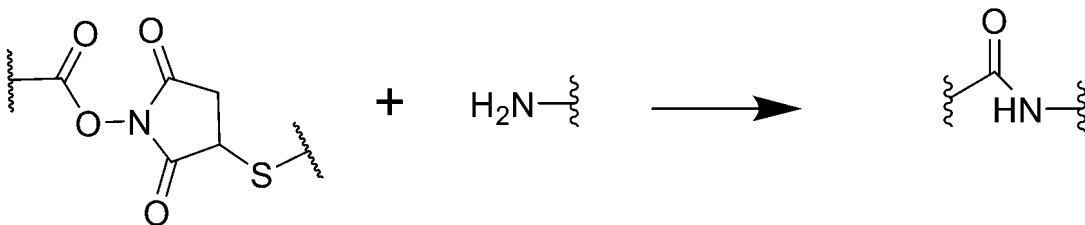
20

を使用したチオール - N - ヒドロキシスクシンイミド反応により形成される。コンジュゲートの形成に關与する反応は、以下の工程：

30

【 0 1 5 8】

【化 4 1】

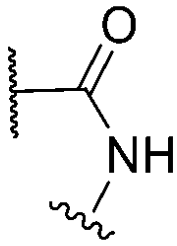


40

を含み、得られるコンジュゲート基の二価残基は、

【 0 1 5 9】

【化 4 2】



10

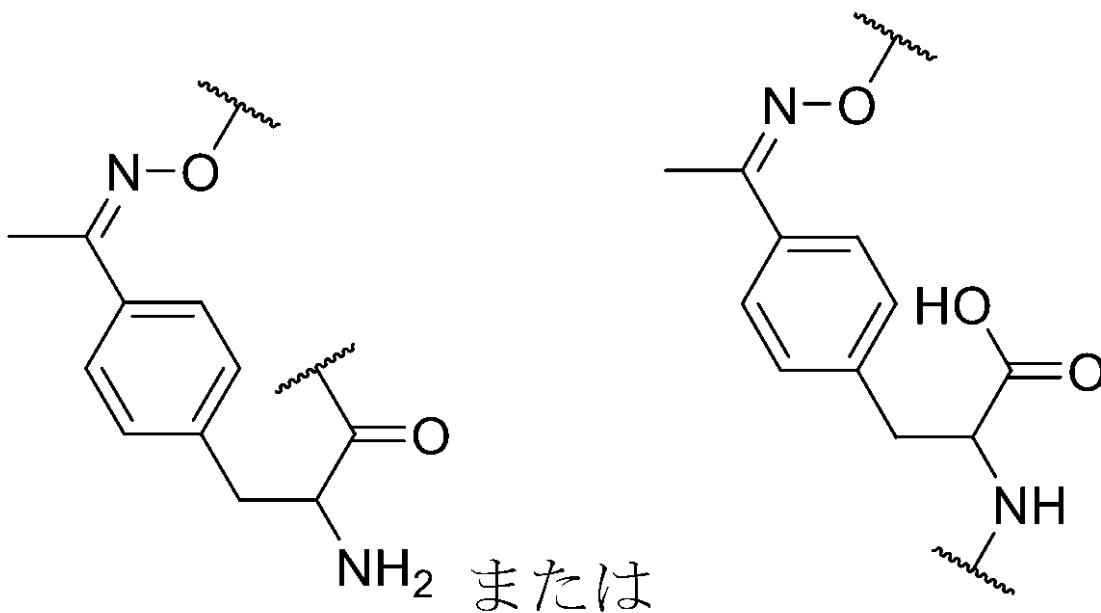
である。

【 0 1 6 0】

[00148] ある特定の実施形態では、コンジュゲートが、カルボニル - オキシアミン反応により形成される場合、コンジュゲート基の二価残基は、非天然アミノ酸の二価残基を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートがカルボニル - オキシアミン反応により形成される場合、コンジュゲート基の二価残基は、

【 0 1 6 1】

【化 4 3】



20

30

である。

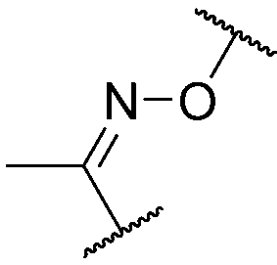
【 0 1 6 2】

[00149] ある特定の実施形態では、コンジュゲートがカルボニル - オキシアミン反応により形成される場合、コンジュゲート基の二価残基は、オキシム連結を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートがカルボニル - オキシアミン反応により形成される場合、コンジュゲート基の二価残基は、

40

【 0 1 6 3】

【化 4 4】



10

である。

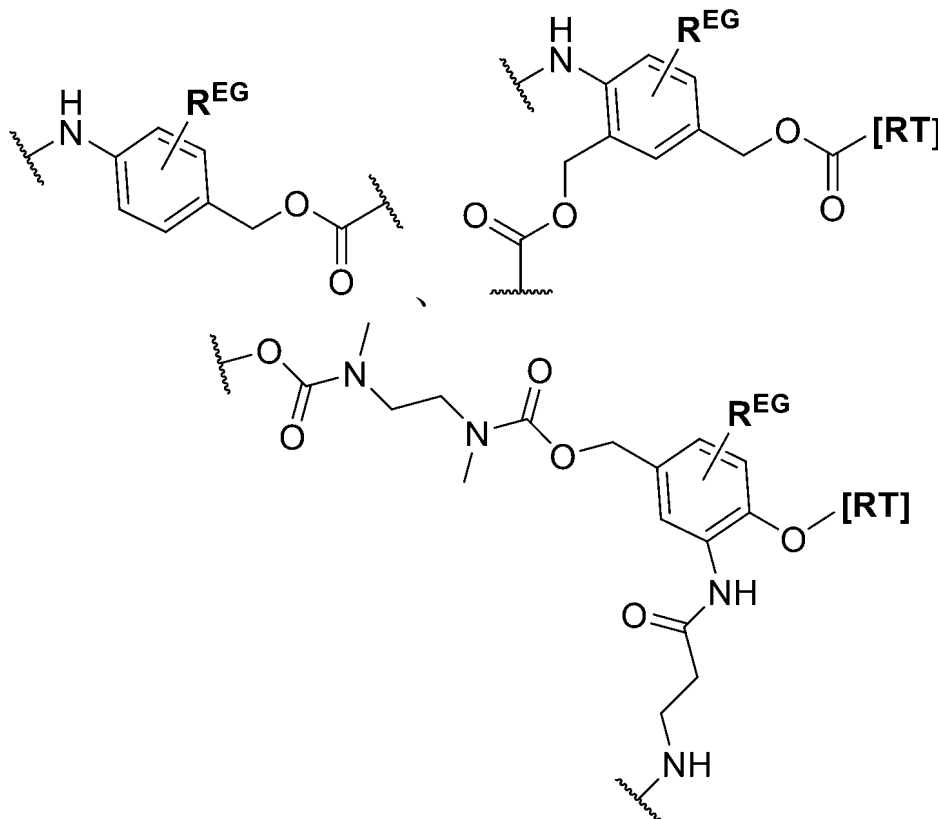
【 0 1 6 4】

[00150] 一部の実施形態では、本明細書には、式 (C1) または (C2) によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、EG は、フェニレン、カルボキシレン、アミン、またはそれらの組合せを含む。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) または (C2) によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、EG は、

【 0 1 6 5】

【化 4 5】

20



30

40

であり、式中、R<sup>EG</sup> は、水素、アルキル、ピフェニル、-CF<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-CN、フルオロ、プロモ、クロロ、アルコキシル、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルキル-C(O)O-、アルキルアミノ-C(O)-、およびジアルキルアミノC(O)-からなる群から選択される。各構造において、フェニル環には、1つ、2つ、3つ、または一部の場合では、4つのR<sup>EG</sup>基が結合しているもよい。第2および第3の構造では、当業者であれば、EGは、式C1の上記の説明に示されている通り、式C1の骨格内にはないRTに結合していることを認識するであろう。一部の実施形態では、R<sup>EG</sup>は、水素、

50

アルキル、ビフェニル、 $-CF_3$ 、アルコキシル、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルキル $-C(O)O-$ 、アルキルアミノ $-C(O)-$ 、およびジアルキルアミノ $C(O)-$ からなる群から選択される。さらなる実施形態では、 $R^{EG}$ は、水素、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、フルオロ、プロモ、およびクロロからなる群から選択される。

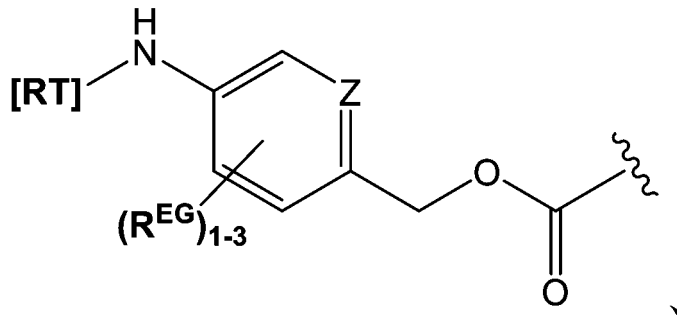
【0166】

[00151] 一部の実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、EGは、フェニレン、カルボキシレン、アミン、またはそれらの組合せを含む。一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、EGは、

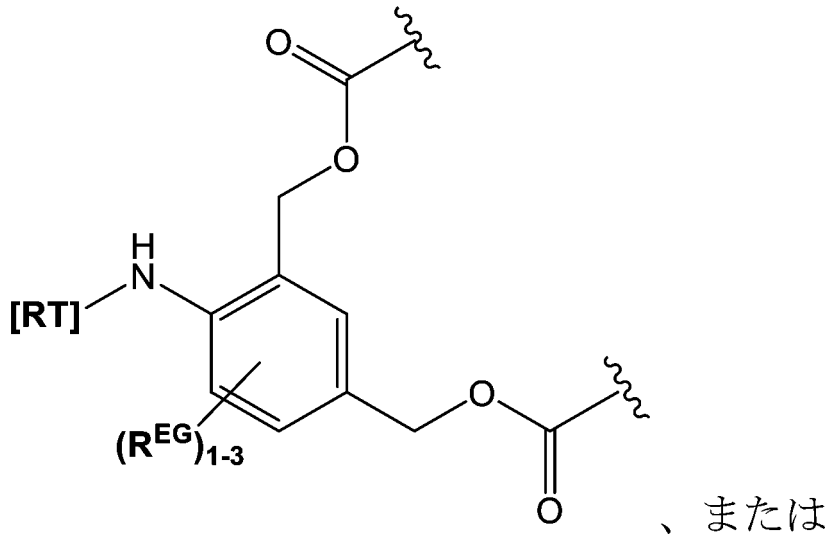
10

【0167】

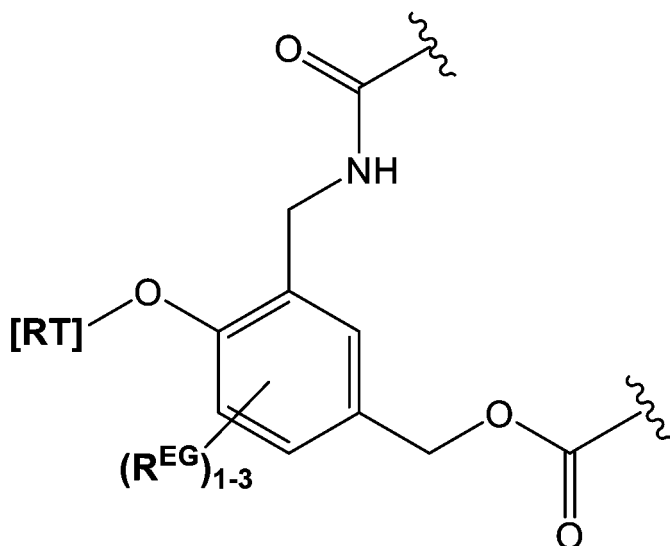
【化 4 6】



10



20



30

40

であり、式中、ZはCHまたはNであってもよく、 $R^{EG}$ は、水素、アルキル、ビフェニル、 $-CF_3$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、フルオロ、ブロモ、クロロ、アルコキシル、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルキル $-C(O)O-$ 、アルキルアミノ $-C(O)-$ 、およびジアルキルアミノ $C(O)-$ からなる群から選択される。各構造において、フェニル環には、1つ、2つ、3つ、または一部の 경우에는、4つの $R^{EG}$ 基が結合しているもよい。第2および第3の構造では、当業者であれば、EGは、式C1の上記の説明に示されている通り、式C1の骨格内にはないRTに結合していることを認識するであろう。一部の実施形態では、 $R^{EG}$ は、水素、アルキル、ビフェニル、 $-CF_3$ 、アルコキシル、ア

50

ルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルキル - C ( O ) O - 、アルキルアミノ - C ( O ) - 、およびジアルキルアミノ C ( O ) - からなる群から選択される。さらなる実施形態では、R<sup>E G</sup>は、水素、-NO<sub>2</sub>、-CN、フルオロ、プロモ、およびクロロからなる群から選択される。一部の実施形態では、EGの各R<sup>E G</sup>は、水素である。

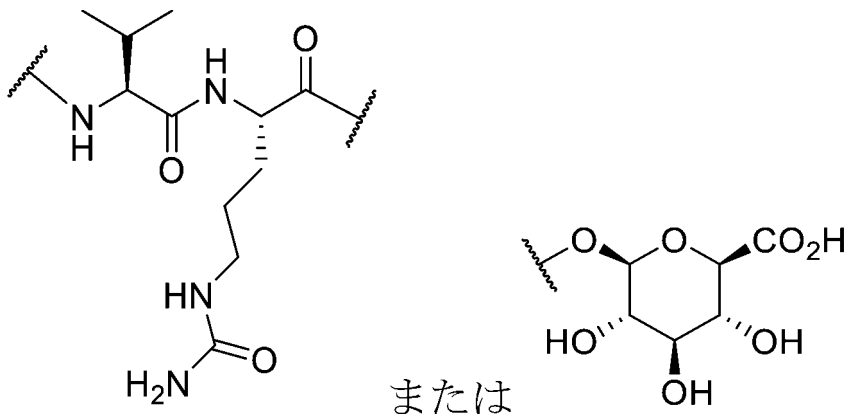
【0168】

[00152] 一部の実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、RTは、天然もしくは非天然アミノ酸の残基または糖の残基を含む。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式

10

【0169】

【化47】



20

である。当業者であれば、第1の構造は、二価であり、式 (C2) に示されている通り骨格内に結合されていてもよく、第2の構造は、一価であり、上記の式 (C1) に示されている通りEGに結合されていてもよいことを認識するであろう。

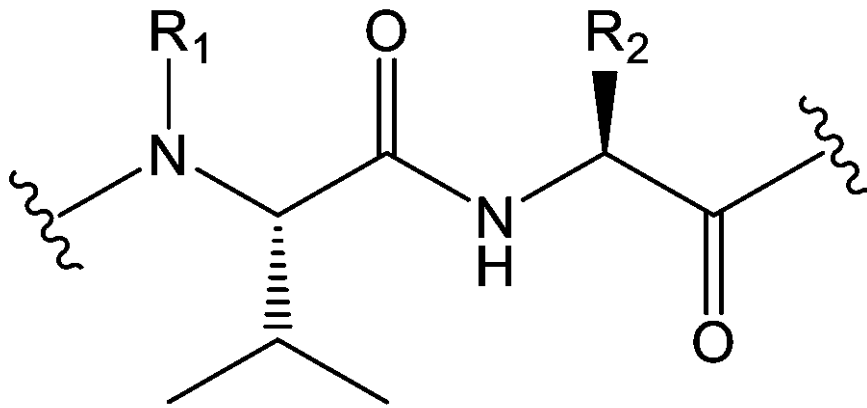
【0170】

30

[00153] 一部の実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、RTは、天然もしくは非天然アミノ酸の残基または糖の残基を含む。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式

【0171】

【化48】

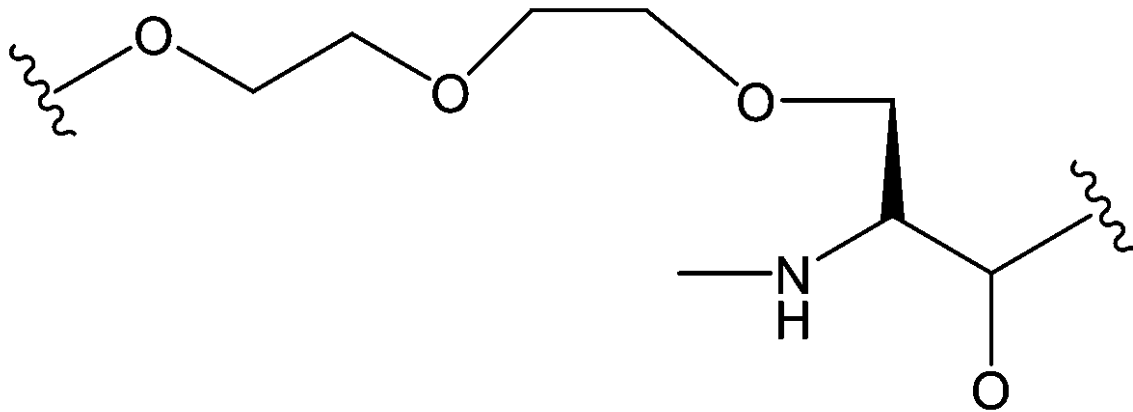


10

であり、式中、 $R^1$  は、Hまたは

【0172】

【化49】



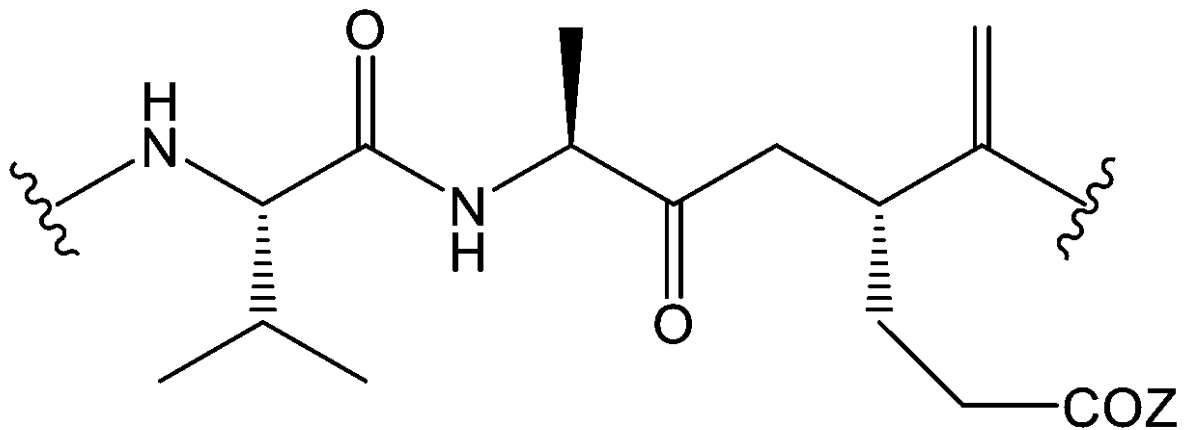
20

30

であり、 $R^2$  は、 $CH_3$ 、 $CH_2CH_2CO_2H$ 、または  $(CH_2)_3NHCONH_2$  ;

【0173】

【化50】



40

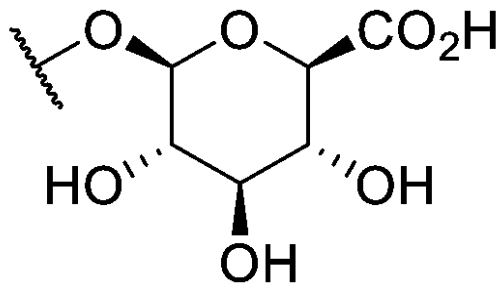
の構造を有するレグミン切断可能なAla-Ala-AsnもしくはAla-Ala-Aspペプチド(式中、ZはOHまたは $NH_2$ である);または

【0174】

50



【化 5 1】

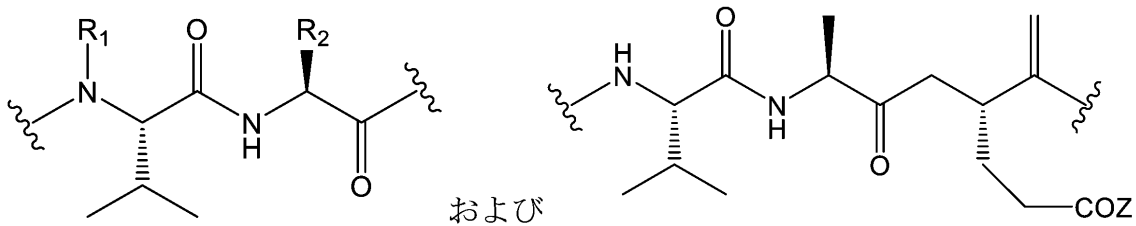


10

の構造を有する - グルクロニダーゼ切断可能な - グルクロニドである。当業者であれば、

【 0 1 7 5】

【化 5 2】

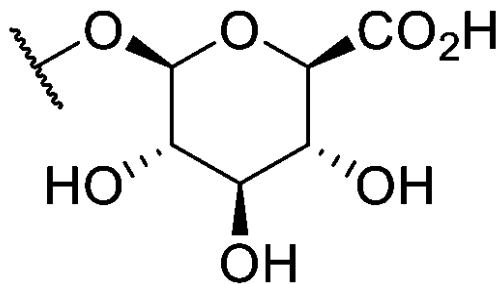


20

は、二価構造であり、式 (C1) の骨格内にまたは式 (C2) に示されている通りに結合していてもよいことを認識するであろう。構造

【 0 1 7 6】

【化 5 3】



30

は、一価であり、上記の式 (C1) に示されている通り、EG に結合していてもよい。

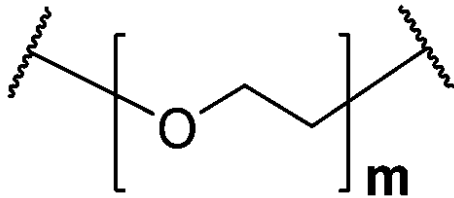
【 0 1 7 7】

[00154] 一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、HP は、ポリ(エチレングリコール)を含む。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、HP は、

40

【 0 1 7 8】

【化 5 4】



であり、式中、 $m$ は1～13の整数である。

10

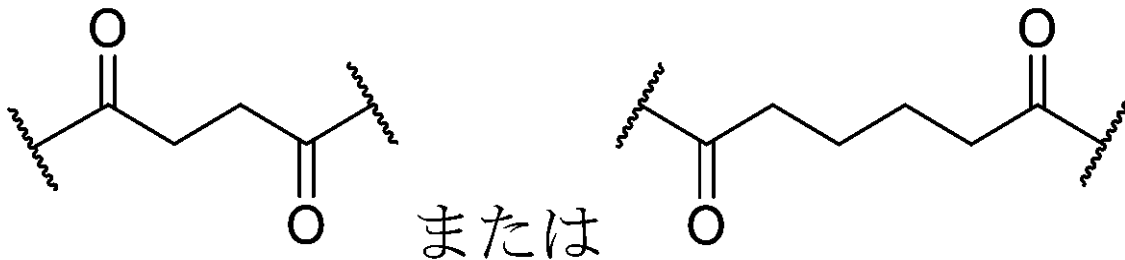
【0179】

[00155] 一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、SGは、 $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン、 $C_4 \sim C_6$ アルキレン、カルボニレン、またはそれらの組合せを含む。一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、SGは、

【0180】

【化 5 5】

20



である。

【0181】

30

[00156] 一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、 $W^1$ 、 $W^2$ 、 $W^3$ 、 $W^4$ 、および $W^5$ は、各々独立して、単結合であるか、存在しないか、または二価ケトン、二価エステル、二価エーテル、二価アミド、二価アミン、アルキレン、アリーレン、スルフィド、ジスルフィド、カルボニレン、もしくはそれらの組合せを含む。一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体提供され、式中、 $W^1$ 、 $W^2$ 、 $W^3$ 、 $W^4$ 、および $W^5$ は、各々独立して、単結合であるか、存在しないか、または -C(O)-、-O-、-C(O)NH-、-C(O)NH-アルキル-、-OC(O)NH-、-SC(O)NH-、-NH-、-NH-アルキル-、-N(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)-、-S-、-S-S-、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-、もしくはそれらの組合せを含む。

40

【0182】

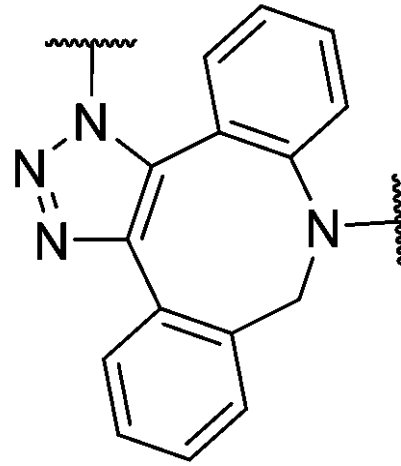
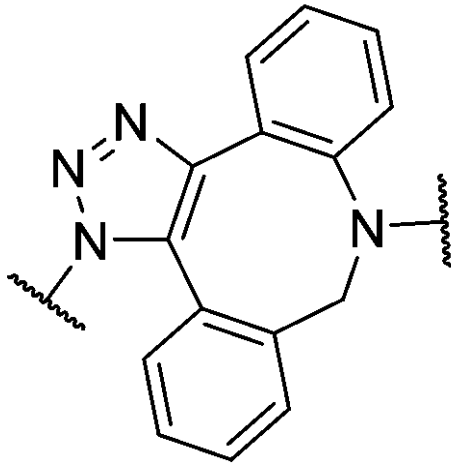
[00157] 一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体提供され、式中、Rはトリアゾール環を含む。一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体提供され、式中、Rは、トリアゾール環またはトリアゾール環を含む縮合環式基である。一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もし

50

くは互変異性体が提供され、式中、Rは、

【0183】

【化56】



または

10

である。

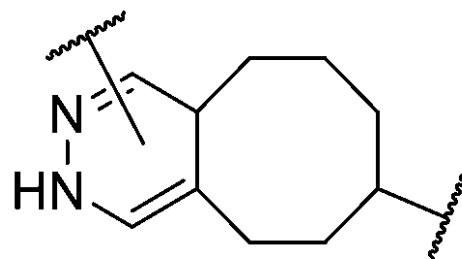
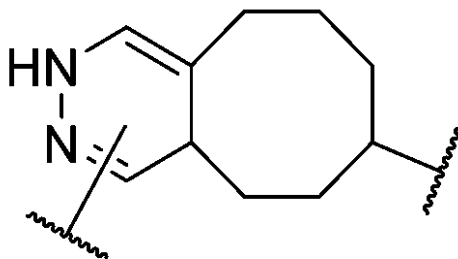
【0184】

20

[00158] 一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、Rは、環に少なくとも2つの隣接する窒素原子を有する縮合二環式環を含む。一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、Rは、

【0185】

【化57】



または

30

である。

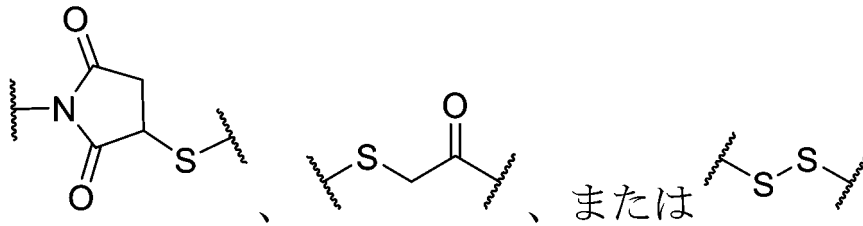
【0186】

40

[00159] 一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、Rは硫黄連結を含む。一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、Rは、

【0187】

【化58】



である。

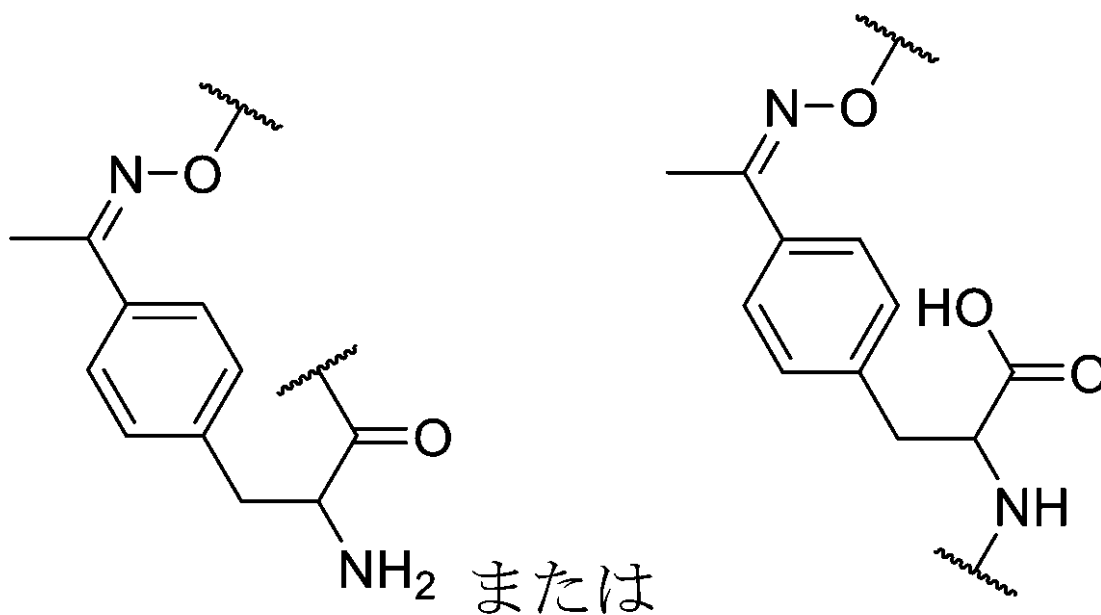
10

【0188】

[00160] 一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、Rは、非天然アミノ酸の二価残基を含む。一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、Rは、

【0189】

【化59】



20

30

である。

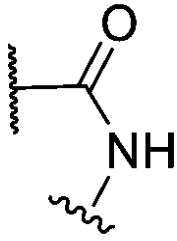
【0190】

[00161] 一実施形態では、本明細書には、オキシム連結を含む、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供される。一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、Rは、

40

【0191】

【化60】



10

である。

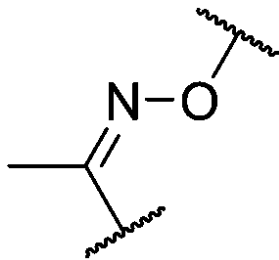
【0192】

[00162] 一実施形態では、本明細書には、オキシム連結を含む、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供される。一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、Rは、

【0193】

【化61】

20



である。

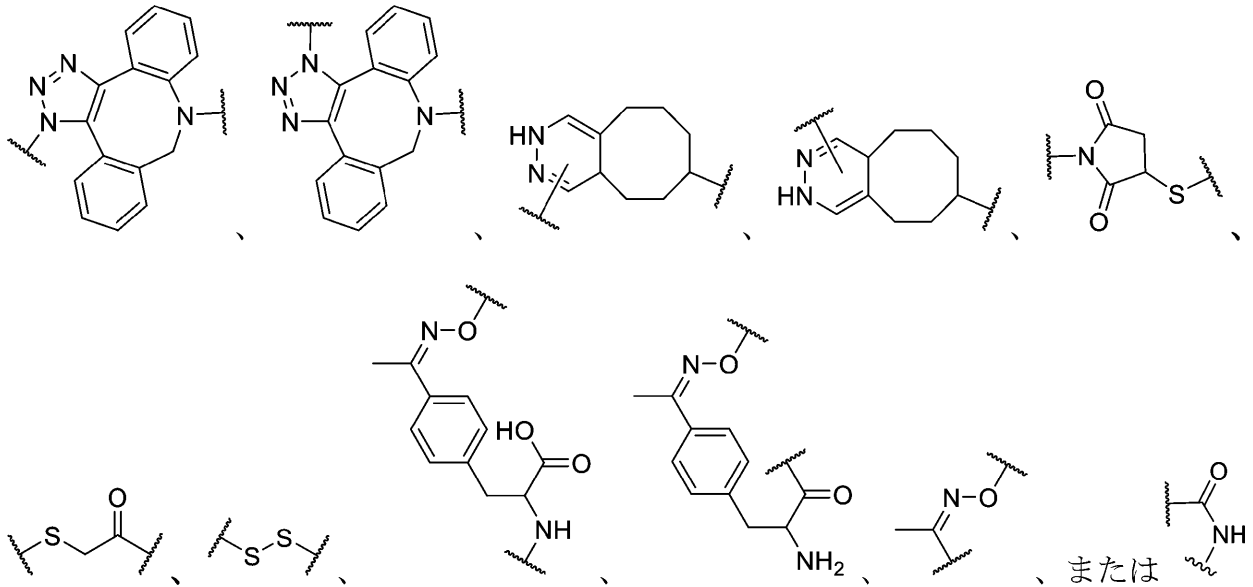
【0194】

[00163] 一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)によるコンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、Rは、

【0195】

30

## 【化 6 2】



10

である。

## 【 0 1 9 6】

20

[00164] 一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による化合物、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、本明細書に記載のペイロードとのコンジュゲーションに有用であることが知られている任意の化合物の残基、および本明細書に記載の任意選択によるリンカーである。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による化合物、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体鎖の残基である。

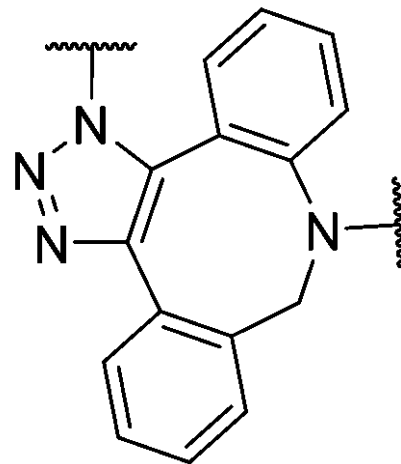
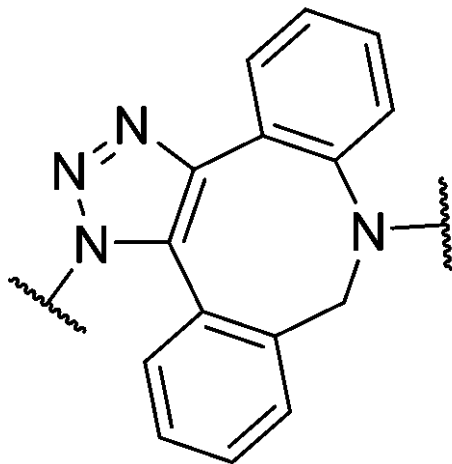
## 【 0 1 9 7】

[00165] 一態様では、本明細書には、本明細書に記載のペイロード、および抗 FOLR1 抗体に連結された本明細書に記載の任意選択によるリンカーを含む抗体コンジュゲートであり、式中、COMP は、抗体の残基である。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体の残基であり、R は、トリアゾール環またはトリアゾール環を含む縮合環式基を含む。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体の残基であり、R は、

30

## 【 0 1 9 8】

【化 6 3】



または

10

である。

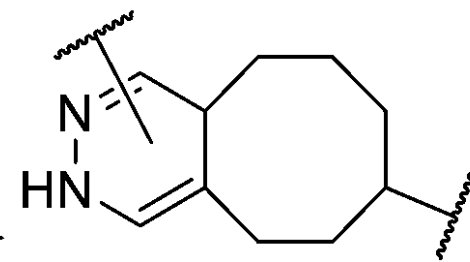
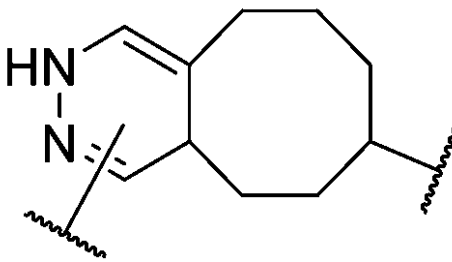
【0199】

[00166] 一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体の残基であり、R は、縮合二環式環を含み、縮合二環式環は、環に少なくとも 2 つの隣接する窒素原子を有する。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体の残基であり、R は、

20

【0200】

【化 6 4】



または

30

である。

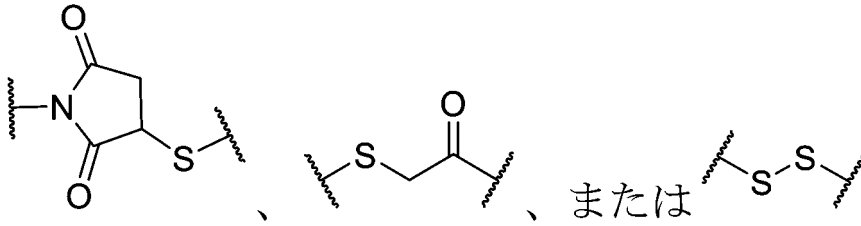
【0201】

[00167] 一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、ポリペプチドの残基であり、R は、硫黄連結を含む。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、ポリペプチドの残基であり、R は、

40

【0202】

## 【化 6 5】



である。

10

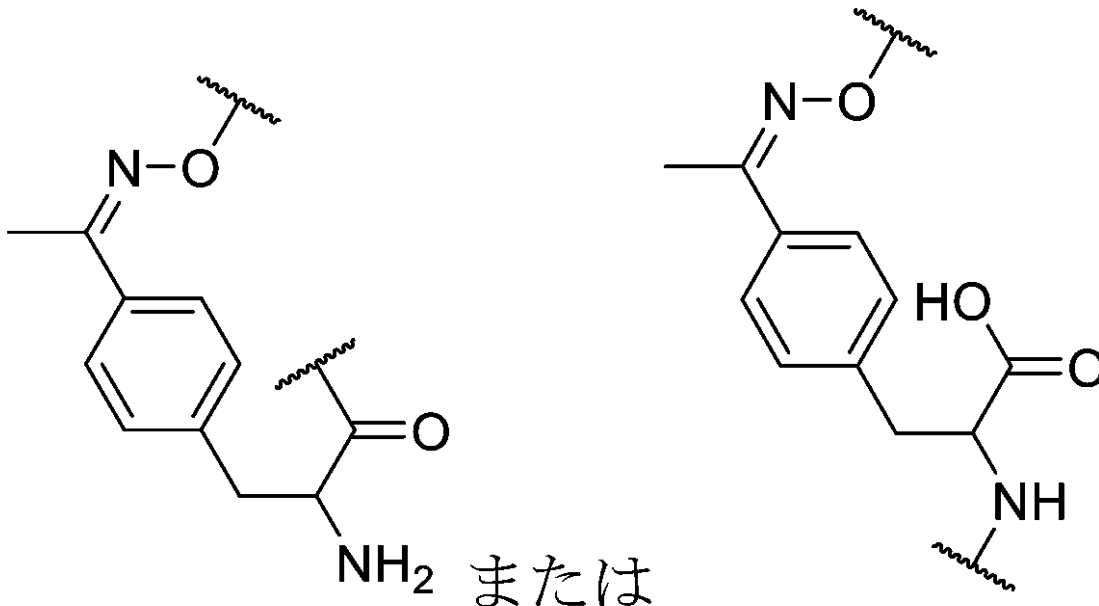
## 【 0 2 0 3】

[00168] 一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、ポリペプチドの残基であり、R は、非天然アミノ酸の二価残基を含む。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、ポリペプチドの残基であり、R は、

## 【 0 2 0 4】

## 【化 6 6】

20



30

である。

## 【 0 2 0 5】

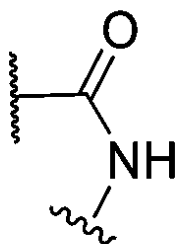
[00169] 一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、ポリペプチドの残基であり、R は、オキシム連結を含む。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、ポリペプチドの残基であり、R は、

40

## 【 0 2 0 6】



【化 6 7】



10

である。

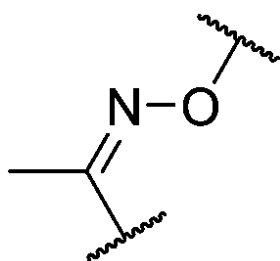
【 0 2 0 7】

[00170] 一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、ポリペプチドの残基であり、R は、オキシム連結を含む。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、ポリペプチドの残基であり、R は、

【 0 2 0 8】

【化 6 8】

20



である。

30

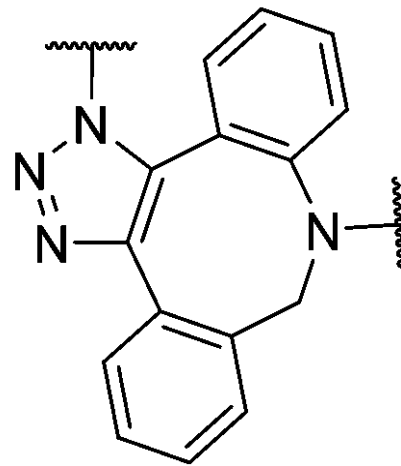
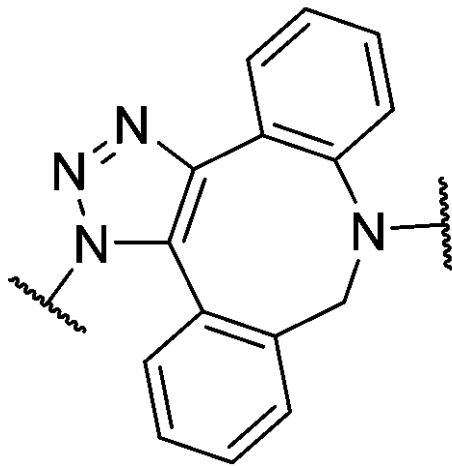
【 0 2 0 9】

[00171] 一態様では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による、抗体に連結された本明細書に記載のペイロードおよび本明細書に記載の任意選択によるリンカーを含む抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は抗体の残基である。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体の残基であり、R は、トリアゾール環またはトリアゾール環を含む縮合環式基を含む。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、

40

【 0 2 1 0】

【化69】



または

10

である。

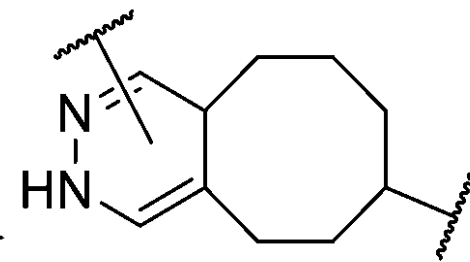
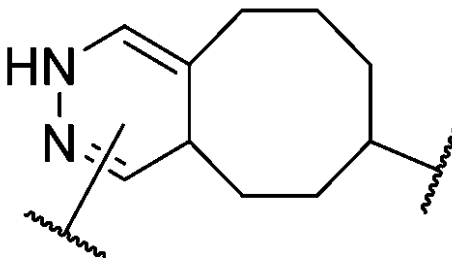
【0211】

[00172] 一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMPは、抗体の残基であり、Rは、縮合二環式環を含み、縮合二環式環は、環に少なくとも2つの隣接する窒素原子を有する。一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMPは、抗体の残基であり、Rは、

20

【0212】

【化70】



または

30

である。

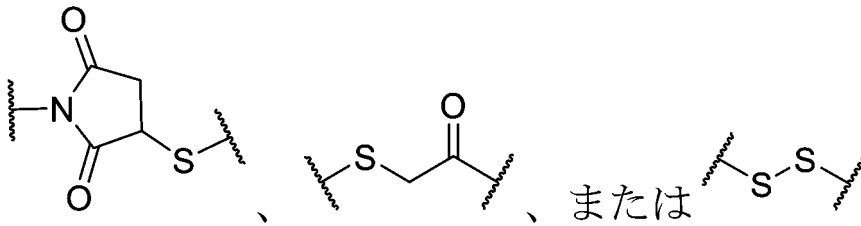
【0213】

[00173] 一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMPは、抗体の残基であり、Rは、硫黄連結を含む。一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMPは、抗体の残基であり、Rは、

40

【0214】

【化 7 1】



である。

10

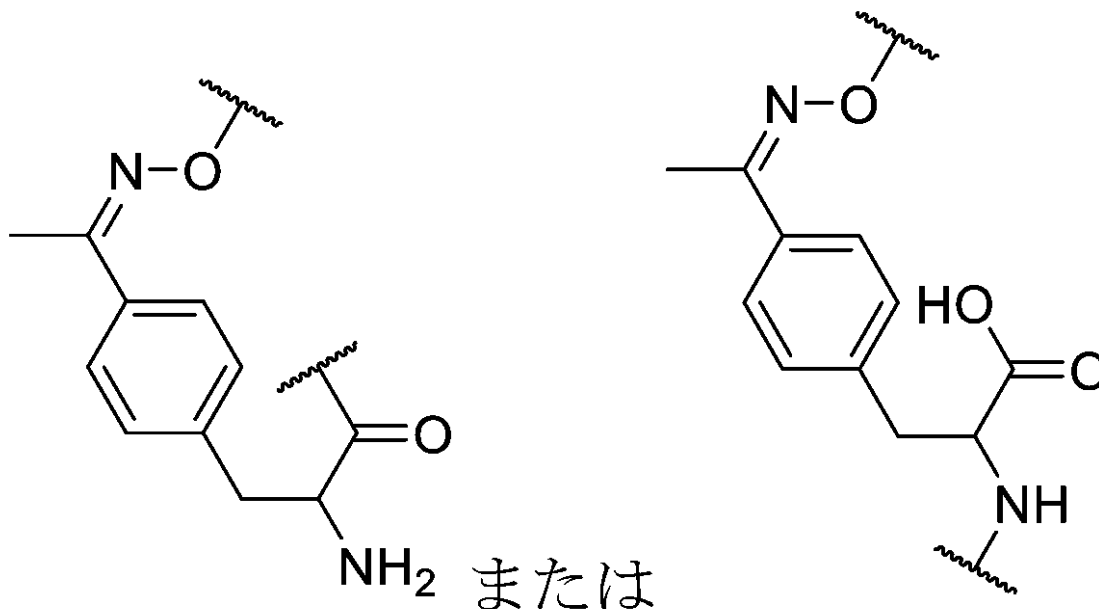
【 0 2 1 5】

[00174] 一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体の残基であり、R は、非天然アミノ酸の二価残基を含む。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体の残基であり、R は、

【 0 2 1 6】

【化 7 2】

20



30

である。

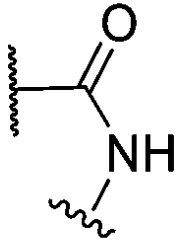
【 0 2 1 7】

[00175] 一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体の残基であり、R は、オキシム連結を含む。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体の残基であり、R は、

40

【 0 2 1 8】

## 【化73】



10

である。

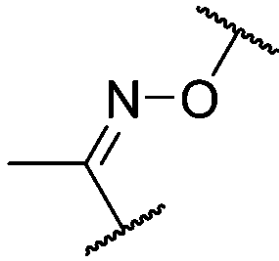
## 【0219】

[00176] 一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMPは、抗体の残基であり、Rは、オキシム連結を含む。一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMPは、抗体の残基であり、Rは、

## 【0220】

## 【化74】

20



である。

30

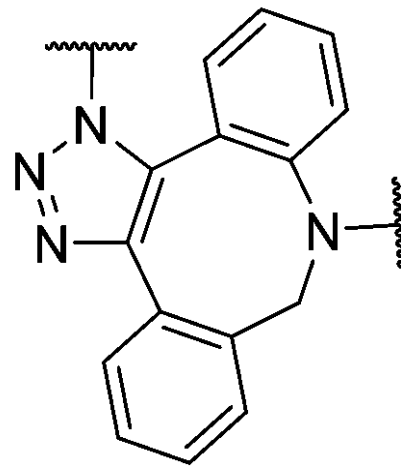
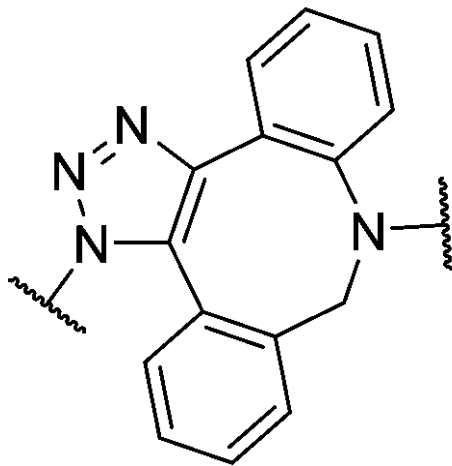
## 【0221】

[00177] 一態様では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)による、抗体鎖に連結された本明細書に記載のペイロードおよび本明細書に記載の任意選択によるリンカーを含む抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMPは抗体鎖の残基である。一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMPは、抗体の残基であり、Rは、トリアゾール環またはトリアゾール環を含む縮合環式基を含む。一実施形態では、本明細書には、式(C1)もしくは(C2)による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMPは、抗体鎖の残基であり、Rは、

40

## 【0222】

【化 7 5】



または

10

である。

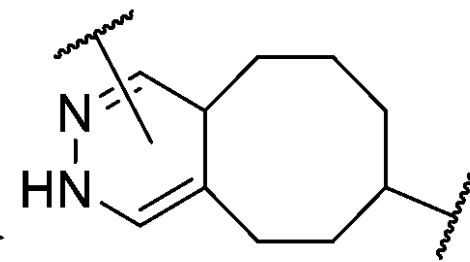
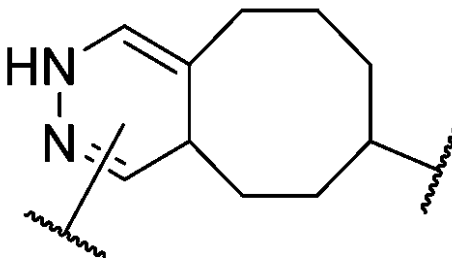
【 0 2 2 3】

[00178] 一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体鎖の残基であり、R は、縮合二環式環を含み、縮合二環式環は、環に少なくとも 2 つの隣接する窒素原子を有する。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体鎖の残基であり、R は、

20

【 0 2 2 4】

【化 7 6】



または

30

である。

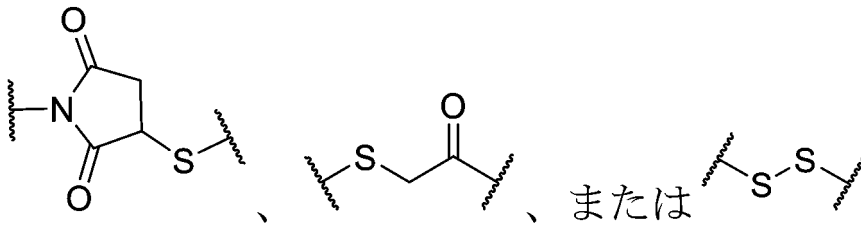
【 0 2 2 5】

[00179] 一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体鎖の残基であり、R は、硫黄連結を含む。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体鎖の残基であり、R は、

40

【 0 2 2 6】

【化 7 7】



である。

10

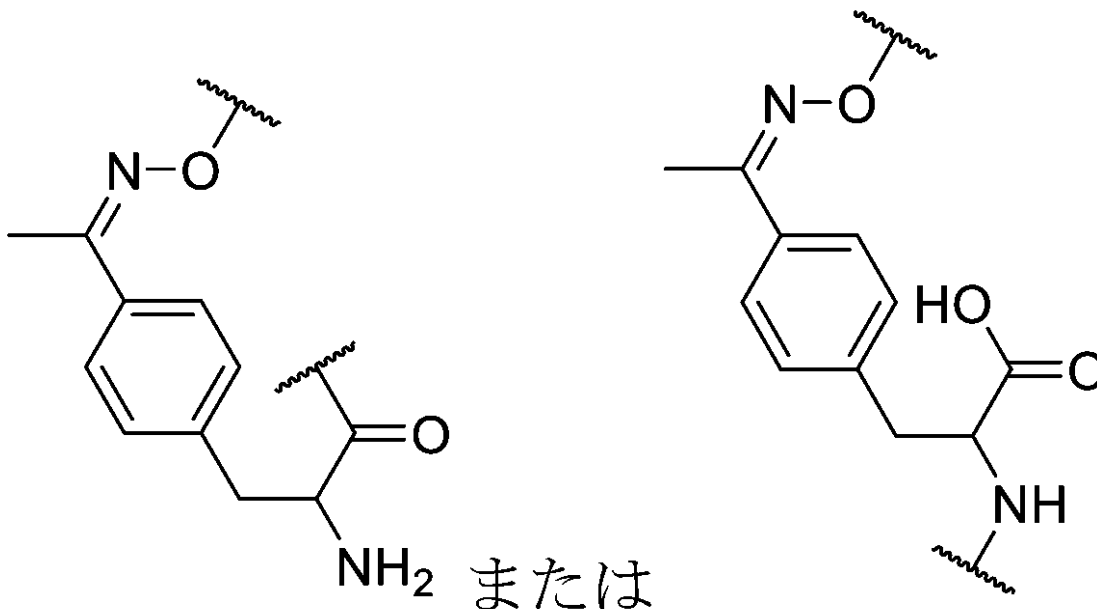
【 0 2 2 7】

[00180] 一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体鎖の残基であり、R は、非天然アミノ酸の二価残基を含む。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体鎖の残基であり、R は、

【 0 2 2 8】

【化 7 8】

20



30

である。

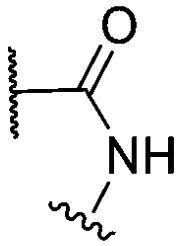
【 0 2 2 9】

[00181] 一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体鎖の残基であり、R は、オキシム連結を含む。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体鎖の残基であり、R は、

40

【 0 2 3 0】

【化 7 9】



10

である。

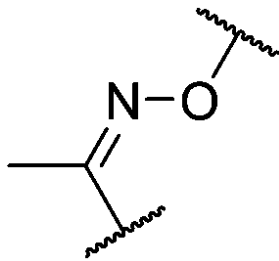
【 0 2 3 1】

[00182] 一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体鎖の残基であり、R は、オキシム連結を含む。一実施形態では、本明細書には、式 (C1) もしくは (C2) による抗体コンジュゲート、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、立体異性体、もしくは互変異性体が提供され、式中、COMP は、抗体鎖の残基であり、R は、

【 0 2 3 2】

【化 8 0】

20



である。

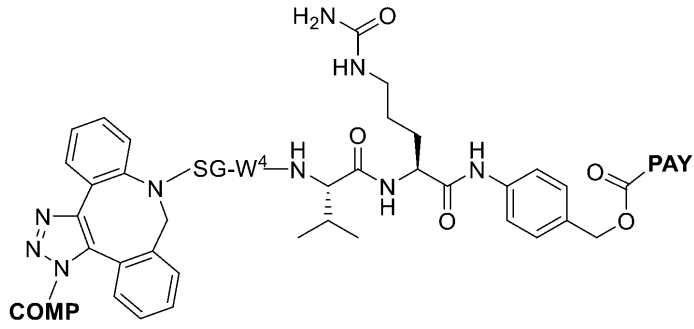
30

【 0 2 3 3】

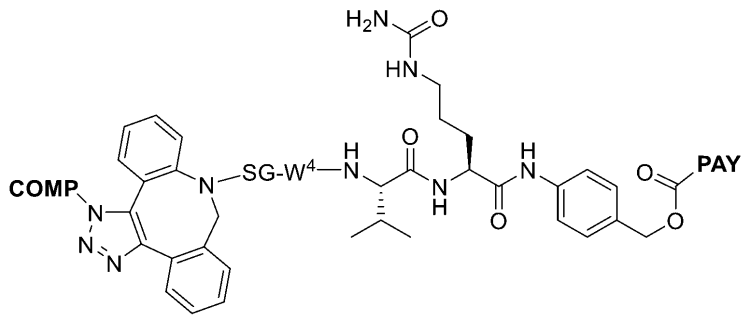
[00183] 一実施形態では、本明細書には、以下の式：

【 0 2 3 4】

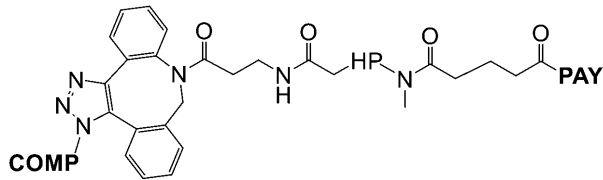
【化 8 1 - 1】



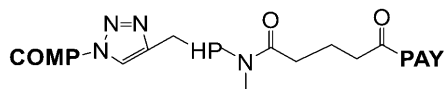
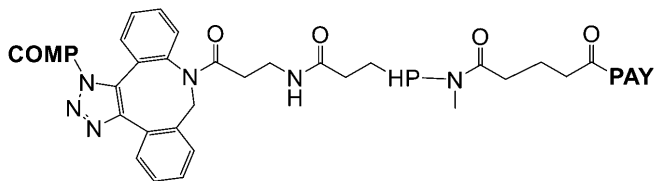
10



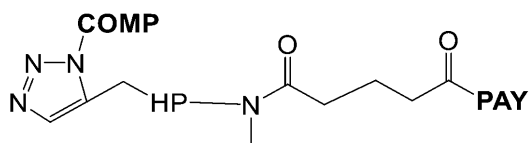
20



30



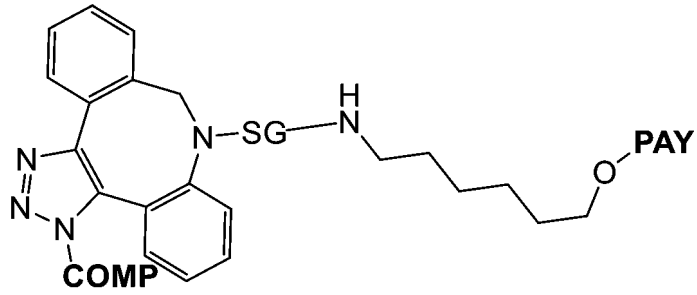
40



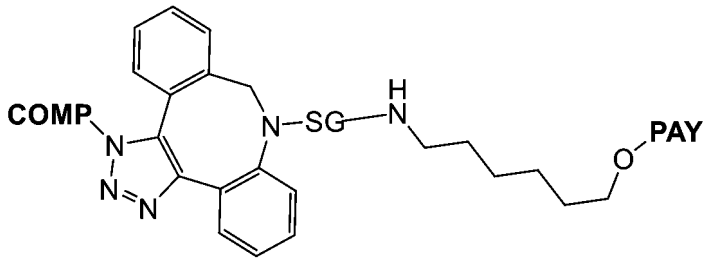
【 0 2 3 5 】



【化 8 1 - 2】



10



20

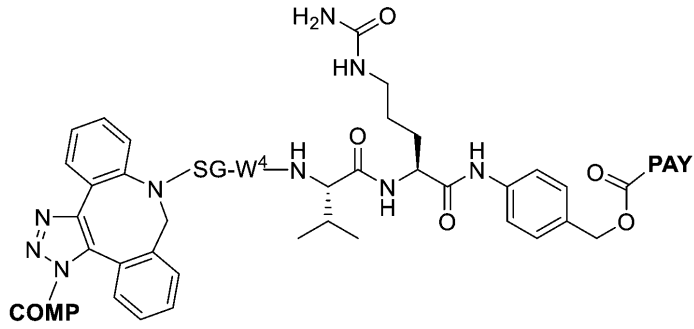
のいずれかによるコンジュゲートが提供され、式中、COMPは、抗FOLR1抗体の残基を示し、PAYはペイロード部分を示す。

【0236】

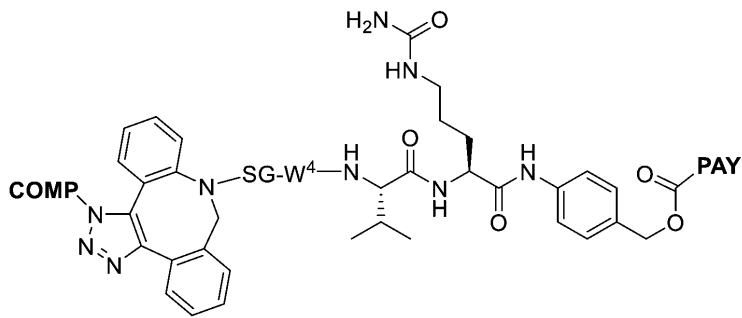
[00184] 一実施形態では、本明細書には、以下の式：

【0237】

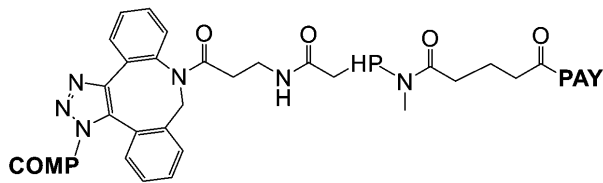
【化 8 2 - 1】



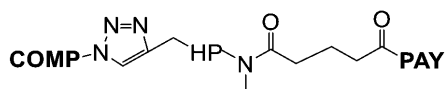
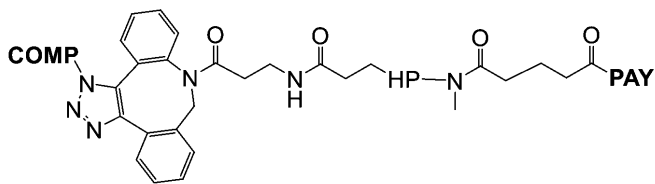
10



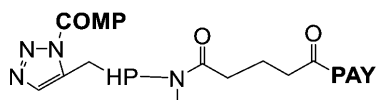
20



30

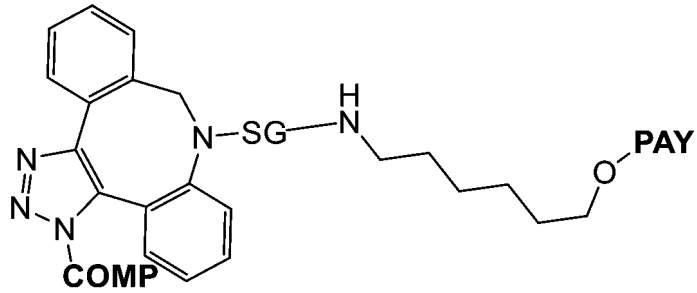


40



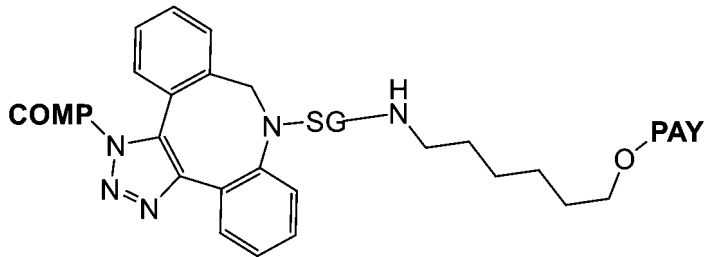
【 0 2 3 8 】

【化 8 2 - 2】



、または

10



20

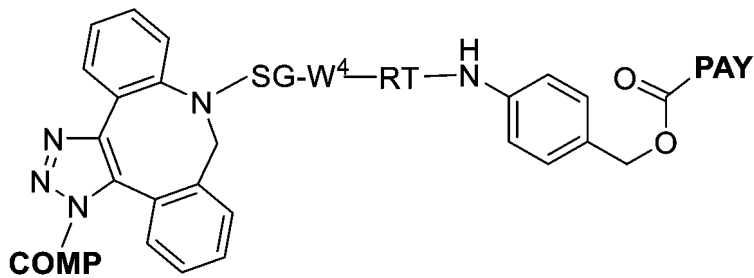
のいずれかによるコンジュゲートが提供され、式中、COMPは、抗FOLR1抗体の残基を示し、PAYはペイロード部分を示す。

【0239】

[00185] 一実施形態では、本明細書には、以下の式：

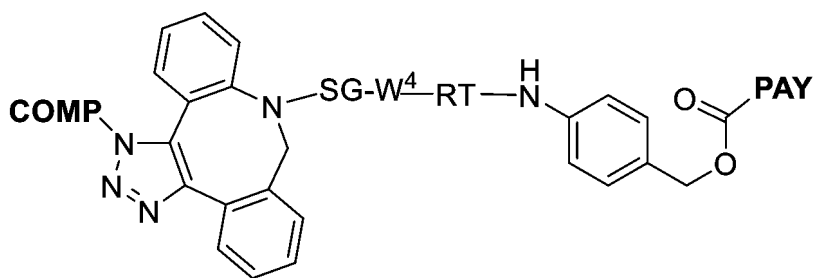
【0240】

【化 8 3】



30

または



40

のいずれかによるコンジュゲートが提供され、式中、COMPは、抗FOLR1抗体の残基を示し、PAYはペイロード部分を示す。

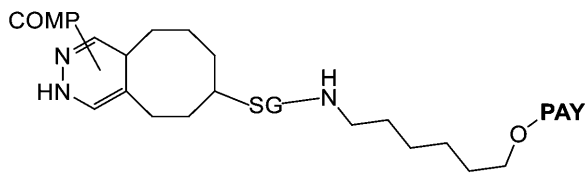
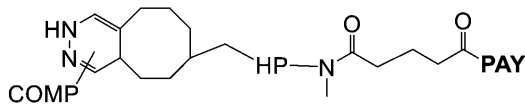
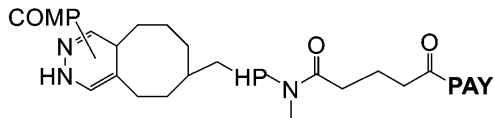
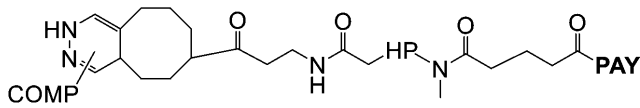
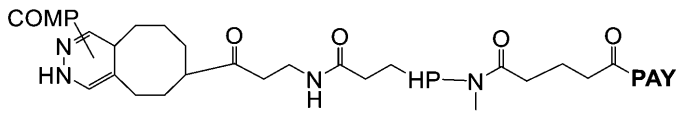
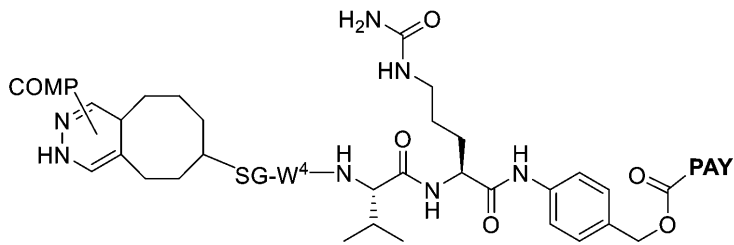
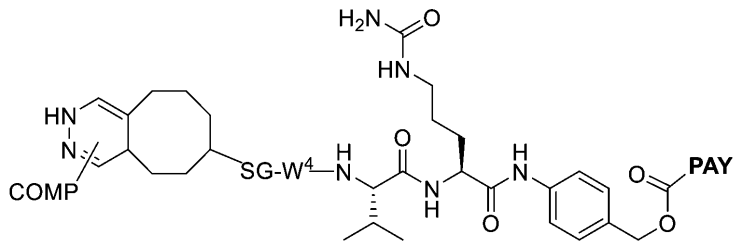
【0241】

50

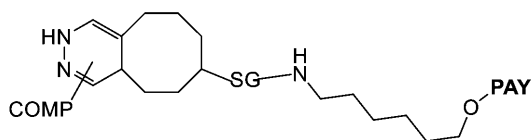
[00186] 一実施形態では、本明細書には、以下の式：

【 0 2 4 2 】

【 化 8 4 】



、または



10

20

30

40

50

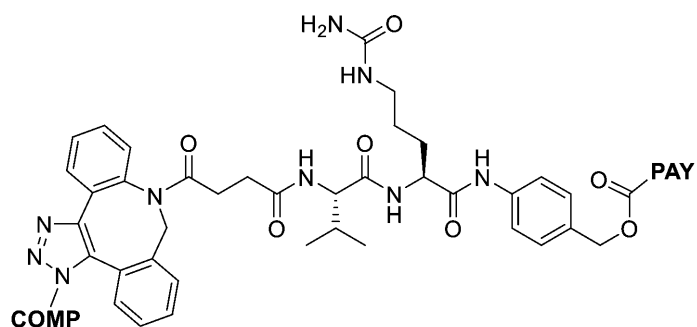
のいずれかによるコンジュゲートが提供され、式中、COMPは、抗FOLR1抗体の残基を示し、PAYはペイロード部分を示す。

【0243】

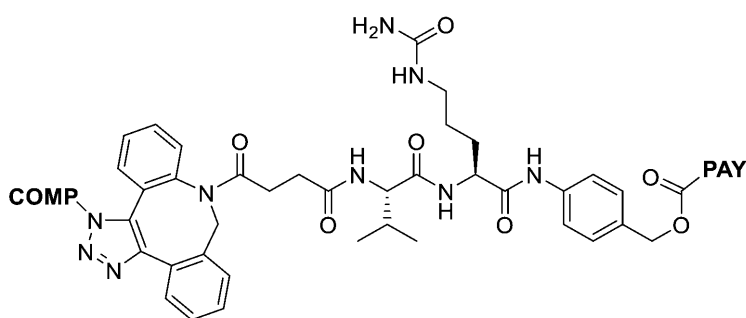
[00187] 一実施形態では、本明細書には、式101a~104b:

【0244】

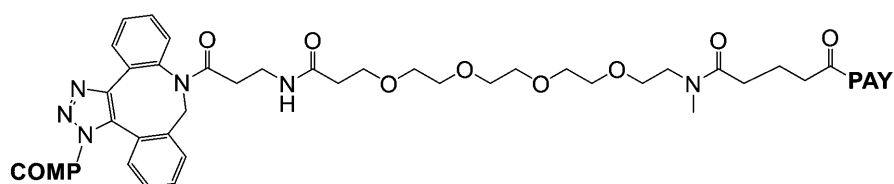
【化85-1】



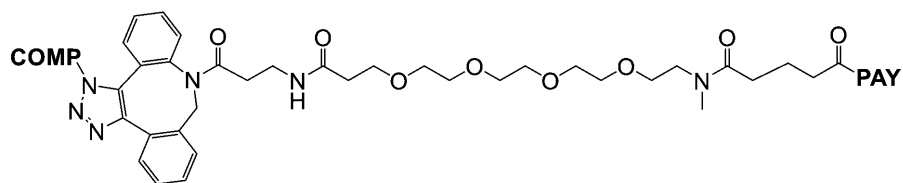
(101a)



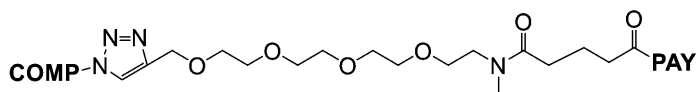
(101b)



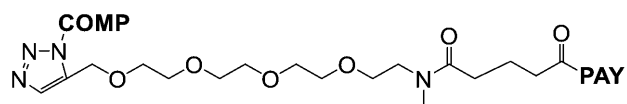
(102a)



(102b)



(103a)



(103b)

10

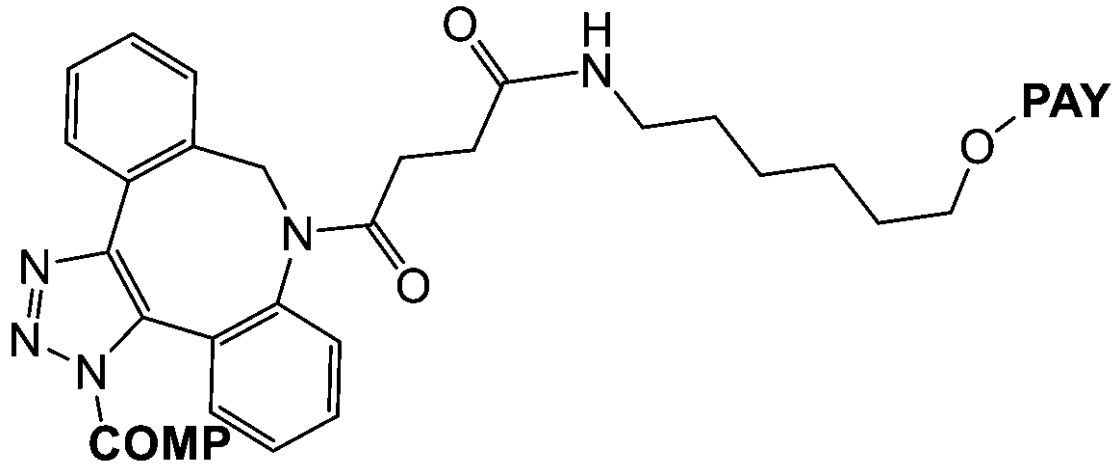
20

30

40

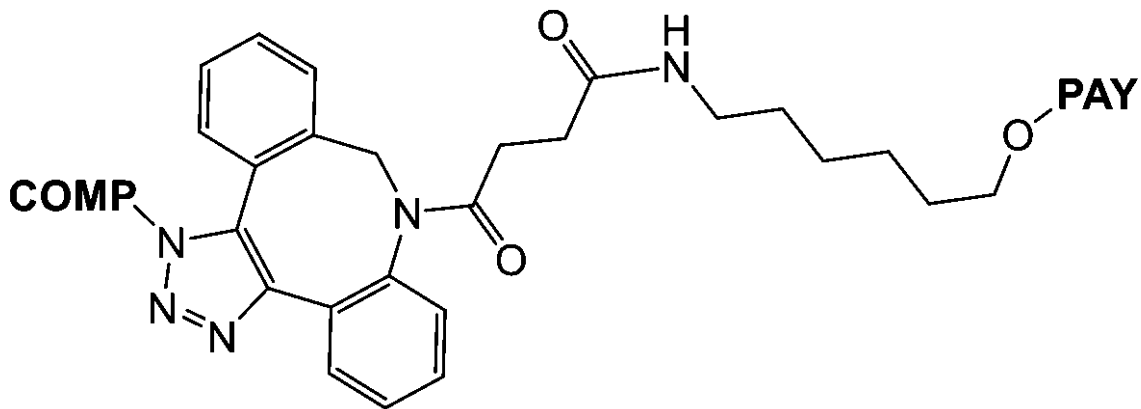
50

【 0 2 4 5 】  
【 化 8 5 - 2 】



10

(104a)



20

30

(104b)

のいずれかによるコンジュゲートが提供され、式中、COMPは、抗FOLR1抗体の残基を示し、PAYはペイロード部分を示す。

【 0 2 4 6 】

[00188] 上述の実施形態のいずれにおいても、コンジュゲートは、n個のPAY部分を含み、nは、1～8の整数である。一部の実施形態では、nは2である。一部の実施形態では、nは3である。一部の実施形態では、nは4である。一部の実施形態では、nは5である。一部の実施形態では、nは6である。一部の実施形態では、nは7である。一部の実施形態では、nは8である。

40

【 0 2 4 7 】

[00189] 特定の実施形態では、本明細書には、式101a～104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、下記の式(30)による非天然アミノ酸の残基を示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a～104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、EU付番方式による重鎖404位における、下記の式(30)による非天然アミノ酸の残基を示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a～104bのいずれかによる抗FOL

50

R1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、EU付番方式による重鎖180位における、下記の式(30)による非天然アミノ酸の残基を示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、EU付番方式による重鎖241位における、下記の式(30)による非天然アミノ酸の残基を示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、EU付番方式による重鎖222位における、下記の式(30)による非天然アミノ酸の残基を示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、Kabata付番方式またはChothia付番方式による軽鎖7位における、下記の式(30)による非天然アミノ酸の残基を示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、Kabata付番方式またはChothia付番方式による軽鎖42位における、下記の式(30)による非天然アミノ酸の残基を示す。特定の実施形態では、PAYは、マイタンシン、ヘミアステリン、アマニチン、モノメチルオーリスタチンF(MMAF)、およびモノメチルオーリスタチンE(MMAE)からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、PAYはマイタンシンである。ある特定の実施形態では、PAYはヘミアステリンである。ある特定の実施形態では、PAYはアマニチンである。ある特定の実施形態では、PAYはMMAFである。ある特定の実施形態では、PAYはMMAEである。

10

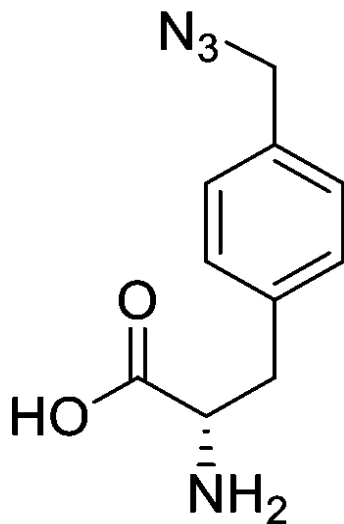
20

30

40

【0248】

【化86】



(30)

【0249】

[00190] 特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、下記の式(56)による非天然アミノ酸の残基を示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、EU付番方式による重鎖404位における、下記の式(56)による非天然アミノ酸の残基を示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOL

50

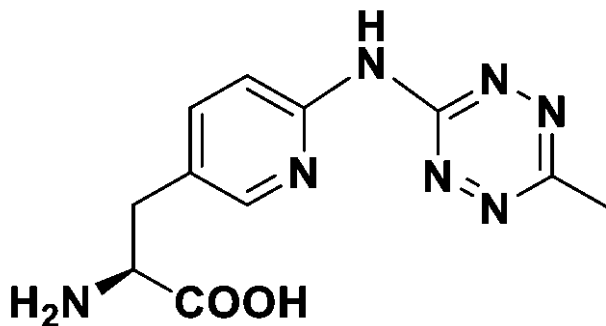
R 1 コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、EU付番方式による重鎖180位における、下記の式(56)による非天然アミノ酸の残基を示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、EU付番方式による重鎖241位における、下記の式(56)による非天然アミノ酸の残基を示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、EU付番方式による重鎖222位における、下記の式(56)による非天然アミノ酸の残基を示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、Kabata付番方式またはChothia付番方式による軽鎖7位における、下記の式(56)による非天然アミノ酸の残基を示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、Kabata付番方式またはChothia付番方式による軽鎖42位における、下記の式(56)による非天然アミノ酸の残基を示す。特定の実施形態では、PAYは、マイタンシン、ヘミアステリン、アマニチン、MMAF、およびMMAEからなる群から選択される。ある特定の実施形態では、PAYはマイタンシンである。ある特定の実施形態では、PAYはヘミアステリンである。ある特定の実施形態では、PAYはアマニチンである。ある特定の実施形態では、PAYはMMAFである。ある特定の実施形態では、PAYはMMAEである。

10

【0250】

【化87】

20



30

(56)

【0251】

[00191] 特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、パラ-アジド-L-フェニルアラニンの非天然アミノ酸残基を示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、EU付番方式による重鎖404位における非天然アミノ酸残基パラ-アジド-L-フェニルアラニンを示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、EU付番方式による重鎖180位におけるパラ-アジド-L-フェニルアラニンの非天然アミノ酸残基を示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、EU付番方式による重鎖241位における非天然アミノ酸残基パラ-アジド-L-フェニルアラニンを示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジ

40

50



ュゲートが提供され、式中、COMPは、EU付番方式による重鎖222位における非天然アミノ酸残基パラ-アジド-L-フェニルアラニンを示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、Kabata付番方式またはChothia付番方式による軽鎖7位における非天然アミノ酸残基パラ-アジド-L-フェニルアラニンを示す。特定の実施形態では、本明細書には、式101a~104bのいずれかによる抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、COMPは、Kabata付番方式またはChothia付番方式による軽鎖42位における非天然アミノ酸残基パラ-アジド-L-フェニルアラニンを示す。ある特定の実施形態では、PAYは、マイタンシン、ヘミアステリン、アマニチン、MMAF、およびMMAEからなる群から選択される。ある特定の実施形態では、PAYはマイタンシンである。ある特定の実施形態では、PAYはヘミアステリンである。ある特定の実施形態では、PAYはアマニチンである。ある特定の実施形態では、PAYはMMAFである。ある特定の実施形態では、PAYはMMAEである。

10

20

30

40

50

## 【0252】

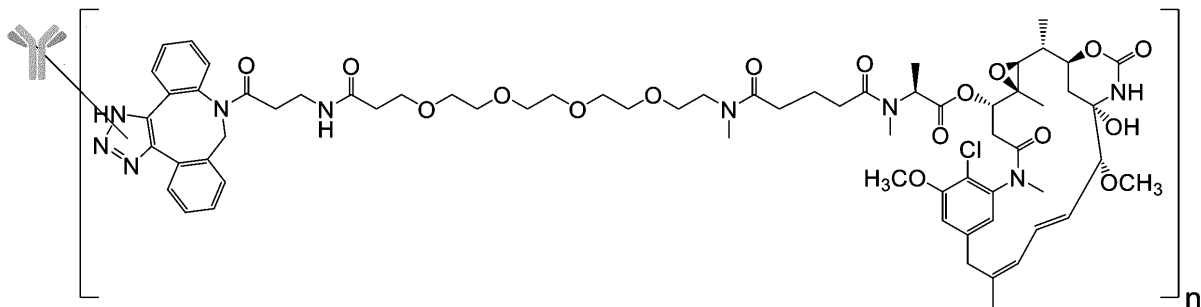
[00192] 一部の実施形態では、本明細書には、例えば、PCT公報WO2016/123582に記載の通りの修飾ヘミアステリンおよびリンカーを含む抗FOLR1コンジュゲートが提供される。例えば、コンジュゲートは、PCT公報WO2016/2016/123582に記載の通りの、式1000~1000b、1001~1001b、1002~1002b、およびI~XIXb-2、101~111b、または1~8bのいずれかを含む構造を有してもよい。修飾ヘミアステリンおよびリンカーを含むコンジュゲートの例は、下記に提供されている。

## 【0253】

[00193] 一部の実施形態では、本明細書には、コンジュゲートMの構造：

## 【0254】

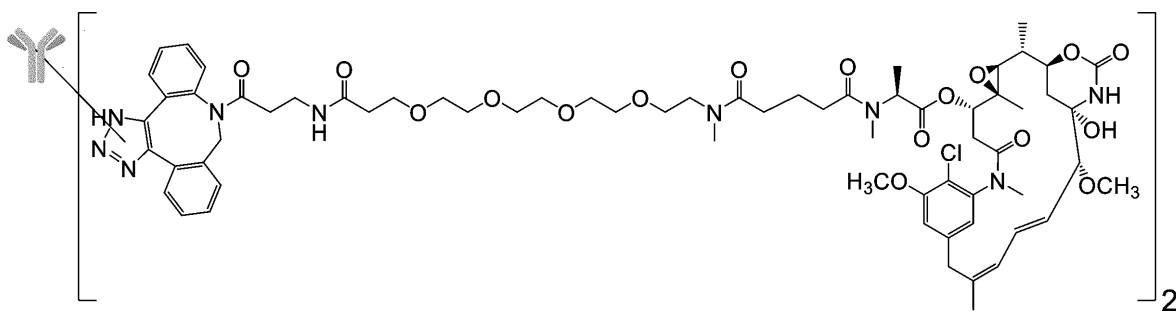
## 【化88】



を有する抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、 $n$ は1~6の整数である。一部の実施形態では、 $n$ は1~4の整数である。一部の実施形態では、 $n$ は2である。例えば、一部の実施形態では、抗FOLR1コンジュゲートは、構造：

## 【0255】

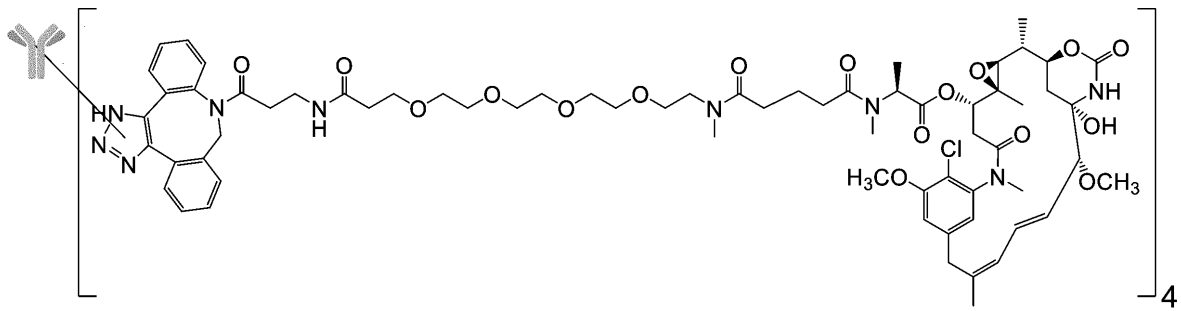
## 【化89】



を有する。一部の実施形態では、 $n$ は4である。例えば、一部の実施形態では、抗FOLR1コンジュゲートは、構造：

【 0 2 5 6 】

【 化 9 0 】



10

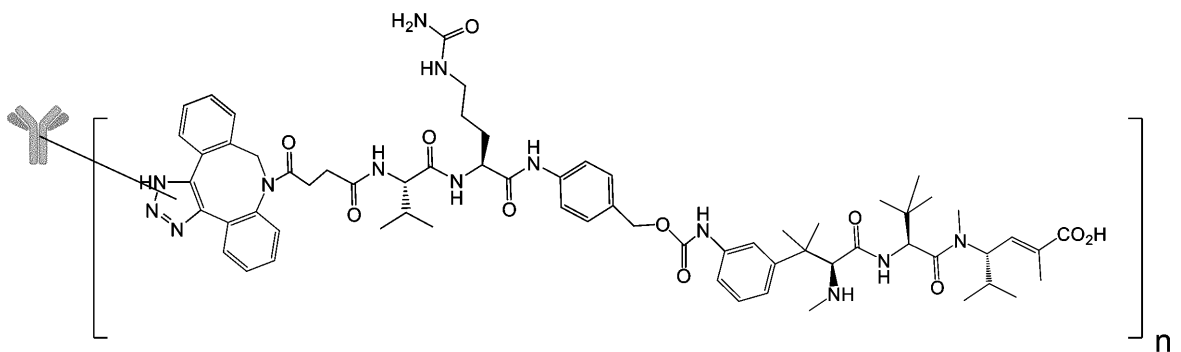
を有する。

【 0 2 5 7 】

[00194] 一部の実施形態では、本明細書には、コンジュゲートPの構造：

【 0 2 5 8 】

【 化 9 1 】



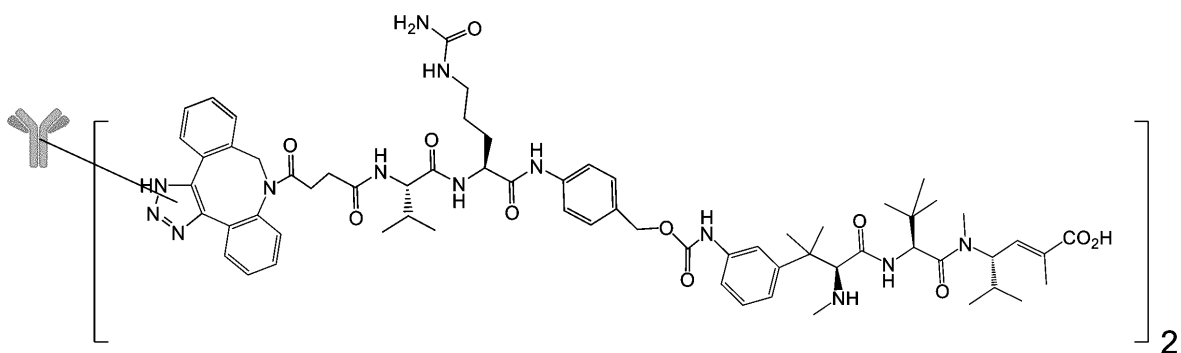
20

を有する抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、 $n$ は1～6の整数である。一部の実施形態では、 $n$ は1～4の整数である。一部の実施形態では、 $n$ は2である。例えば、一部の実施形態では、抗FOLR1コンジュゲートは構造：

【 0 2 5 9 】

30

【 化 9 2 】

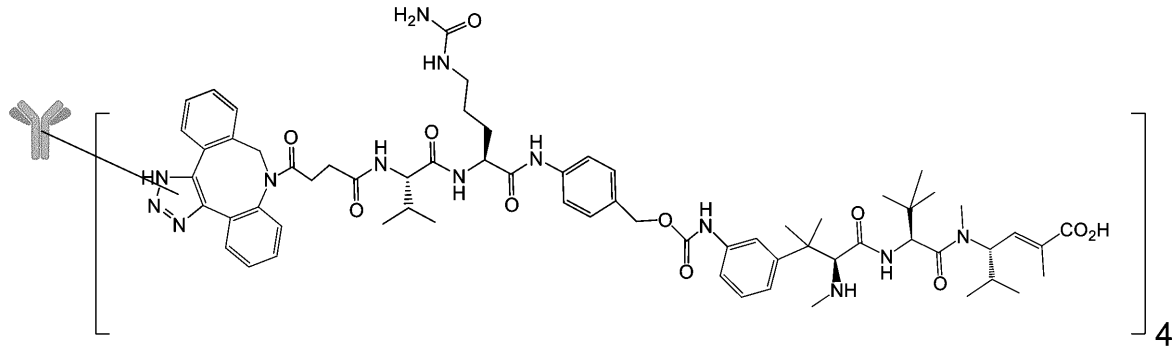


40

を有する。一部の実施形態では、 $n$ は4である。例えば、一部の実施形態では、抗FOLR1コンジュゲートは構造：

【 0 2 6 0 】

【化 9 3】



10

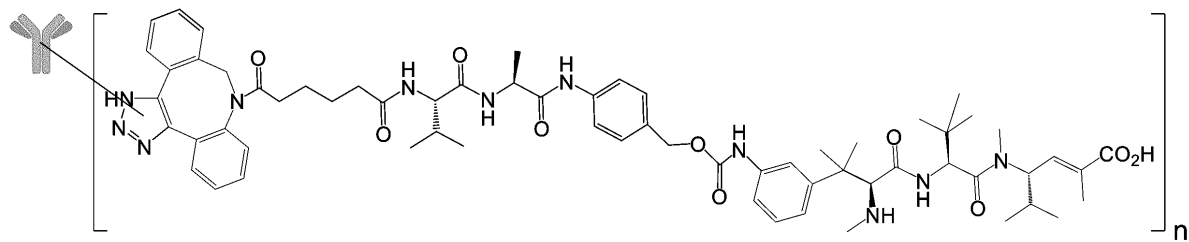
を有する。

【 0 2 6 1】

[00195] 一部の実施形態では、本明細書には、コンジュゲートQの構造：

【 0 2 6 2】

【化 9 4】

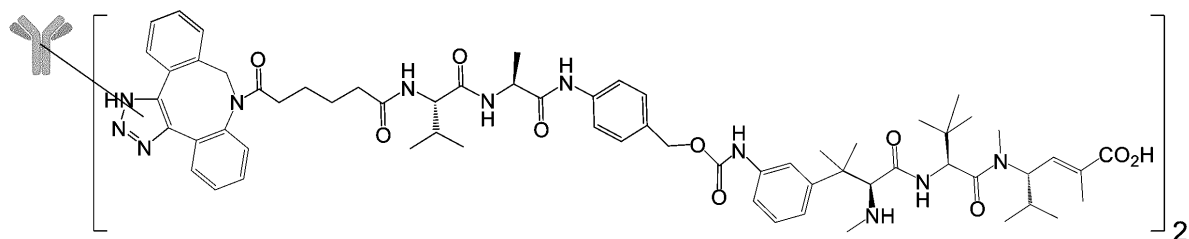


20

を有する抗FOLR1コンジュゲートが提供され、式中、 $n$ は1～6の整数である。一部の実施形態では、 $n$ は1～4の整数である。一部の実施形態では、 $n$ は2である。例えば、一部の実施形態では、抗FOLR1コンジュゲートは、構造：

【 0 2 6 3】

【化 9 5】

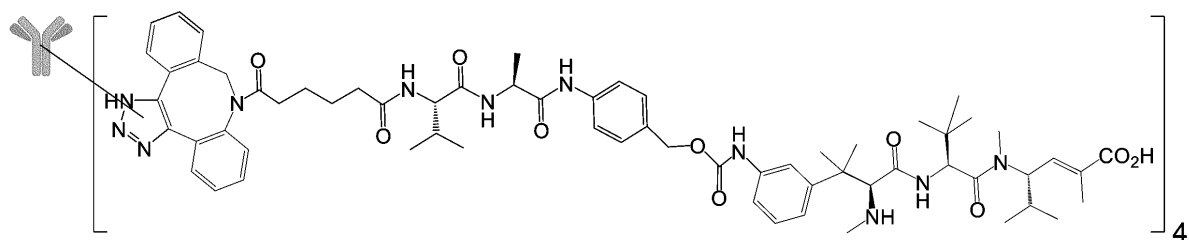


30

を有する。一部の実施形態では、 $n$ は4である。例えば、一部の実施形態では、抗FOLR1コンジュゲートは、構造：

【 0 2 6 4】

【化 9 6】



40

を有する。

50

## 【 0 2 6 5 】

[00196] 抗 F O L R 1 コンジュゲートが、コンジュゲート M、コンジュゲート P、またはコンジュゲート Q による構造を有する上述の実施形態ではいずれも、角括弧で囲まれた構造は、抗体の 1 つまたは複数の非天然アミノ酸に共有結合されていてもよく、1 つまたは複数の非天然アミノ酸は、K a b a t 付番スキームまたは K a b a t の E U 付番スキームによる H C - F 4 0 4、H C - Y 1 8 0、および L C - K 4 2 からなる群から選択される部位に位置する。一部の実施形態では、角括弧で囲まれた構造は、抗体の部位 H C - F 4 0 4 における 1 つまたは複数の非天然アミノ酸に共有結合されている。一部の実施形態では、角括弧で囲まれた構造は、抗体の部位 H C - Y 1 8 0 における 1 つまたは複数の非天然アミノ酸に共有結合されている。一部の実施形態では、角括弧で囲まれた構造は、抗体の部位 L C - K 4 2 における 1 つまたは複数の非天然アミノ酸に共有結合されている。一部の実施形態では、角括弧で囲まれた構造は、抗体の部位 H C - F 4 0 4 および H C - Y 1 8 0 における 1 つまたは複数の非天然アミノ酸に共有結合 1 されている。一部の実施形態では、少なくとも 1 つの角括弧で囲まれた構造は、抗体の部位 H C - F 4 0 4 における非天然アミノ酸に共有結合されており、少なくとも 1 つの角括弧で囲まれた構造は、抗体の部位 H C - Y 1 8 0 における非天然アミノ酸に共有結合されている。一部の実施形態では、角括弧で囲まれた構造は、抗体の部位 H C - Y 1 8 0 および L C - K 4 2 における 1 つまたは複数の非天然アミノ酸に共有結合されている。一部の実施形態では、少なくとも 1 つの角括弧で囲まれた構造は、抗体の部位 H C - Y 1 8 0 における非天然アミノ酸に共有結合されており、少なくとも 1 つの角括弧で囲まれた構造は、抗体の部位 L C - K 3 2 における非天然アミノ酸に共有結合されている。

10

20

## 【 0 2 6 6 】

## 3 . ペイロード

[00197] 上記に記載のペイロードに加えて、分子ペイロードは、当業者がポリペプチドにコンジュゲートすることを望むことが考えられる任意の分子実体であってもよい。ある特定の実施形態では、ペイロードは療法部分である。そのような実施形態では、抗体コンジュゲートを使用して、療法部分をその分子標的へと標的化することができる。ある特定の実施形態では、ペイロードは標識部分である。そのような実施形態では、抗体コンジュゲートを使用して、その標的に対するポリペプチドの結合を検出することができる。ある特定の実施形態では、ペイロードは細胞傷害性部分である。そのような実施形態では、抗体コンジュゲートを使用して、細胞傷害性部分を疾患細胞、例えばがん細胞へと標的化して、細胞の破壊または排除を開始させることができる。当業者にとって明白である他の分子ペイロードを含むコンジュゲートは、本明細書に記載のコンジュゲートの範囲内である。

30

40

50

## 【 0 2 6 7 】

[00198] ある特定の実施形態では、抗体コンジュゲートは、以下のものからなる群から選択されるペイロードを有することができる：標識、色素、ポリマー、水溶性ポリマー、ポリエチレングリコール、ポリエチレングリコールの誘導体、光架橋剤、細胞傷害性化合物、放射性核種、薬物、親和性標識、光親和性標識、反応性化合物、レジン、第 2 のタンパク質もしくはポリペプチドもしくはポリペプチドアナログ、抗体もしくは抗体断片、金属キレート剤、補因子、脂肪酸、炭水化物、ポリヌクレオチド、DNA、RNA、アンチセンスポリヌクレオチド、ペプチド、水溶性 dendrimer、シクロデキストリン、阻害性リボ核酸、生体材料、ナノ粒子、スピン標識、フルオロフォア、金属含有部分、放射性部分、新規官能基、他の分子と共有結合でもしくは非共有結合で相互作用する基、光ケージ化部分、光異性化可能な部分、ビオチン、ビオチンの誘導体、ビオチンアナログ、重原子が組み込まれた部分、化学的に切断可能な基、光切断可能な基、伸長側鎖、炭素連結糖、酸化還元活性作用剤、アミノチオ酸、毒性部分、同位体標識部分、生物物理学的プローブ、リン光基、化学発光基、高電子密度基、磁性基、挿入基、発色団、エネルギー移動作用剤、生物学的活性作用剤、検出可能な標識、小分子、またはそれらの任意の組合せ。一実施形態では、ペイロードは、標識、色素、ポリマー、細胞傷害性化合物、放射性核種、薬

物、親和性標識、レジン、タンパク質、ポリペプチド、ポリペプチドアナログ、抗体、抗体断片、金属キレート剤、補因子、脂肪酸、炭水化物、ポリヌクレオチド、DNA、RNA、ペプチド、フルオロフォア、または炭素連結糖である。別の実施形態では、ペイロードは、標識、色素、ポリマー、薬物、抗体、抗体断片、DNA、RNA、またはペプチドである。

【0268】

[00199] 有用な薬物ペイロードとしては、細胞傷害剤、細胞増殖抑制剤、または免疫調節剤が挙げられる。細胞傷害剤または免疫調節剤の有用なクラスとしては、以下のものが挙げられる：例えば、抗チューブリン剤、オーリスタチン、DNA副溝結合剤、DNA複製阻害剤、アルキル化剤（例えば、シス-プラチン、モノ（白金）錯体、ビス（白金）錯体、および三核白金錯体（tri-nuclear platinum complex）、ならびにカルボプラチンなどの白金錯体）、アントラサイクリン、抗生物質、葉酸代謝拮抗剤、代謝拮抗剤、カルモジユリン阻害剤、化学療法増感剤、デュオカルマイシン、エトポシド、フッ素化ピリミジン、イオノフォア、レキシトロブシン、メイタンシノイド、ニトロソウレア、プラチノール、孔形成化合物、プリン代謝拮抗剤、ピューロマイシン、放射線増感剤、ラパマイシン、ステロイド、タキサン、トポイソメラーゼ阻害剤、またはピンカアルカロイドなど。

10

【0269】

[00200] 個々の細胞傷害剤または免疫調節剤としては、以下のものが挙げられる：例えば、アンドロゲン、アントラマイシン（AMC）、アスパラギナーゼ、5-アザシチジン、アザチオプリン、プレオマイシン、ブスルファン、ブチオニンスルホキシイミン、カリチアマイシン、カリチアマイシン誘導体、カンプトテシン、カルボプラチン、カルムスチン（BSNU）、CC-1065、クロラムブシル、シスプラチン、コルヒチン、シクロホスファミド、シタラビン、シチジンアラビノシド、サイトカラシンB、ダカルバジン、ダクチノマイシン（以前は、アクチノマイシン）、ダウノルピシン、ダカルバジン（decarbazine）、DM1、DM4、ドセタキセル、ドキシソルピシン、エトポシド、エストロゲン、5-フルオロデオキシウリジン（5-fluorodeoxyuridine）、5-フルオロウラシル、ゲムシタピン、グラミシジンD、ヒドロキシ尿素、イダルピシン、イホスファミド、イリノテカン、ロムスチン（CCNU）、マイタンシン、メクロレタミン、メルファラン、6-メルカプトプリン、メトトレキサート、ミトラマイシン、ミトマイシンC、ミトキサントロン、ニトロイミダゾール、パクリタキセル、パリトキシン、プリカマイシン、プロカルバジン（procarbazine）、リゾキシン、ストレプトゾトシン、テニポシド（tenoposide）、6-チオグアニン、チオテパ（thioTEPA）、トポテカン、ピンブラスチン、ピンクリスチン、ピノレルピン、VP-16、およびVM-26。

20

30

【0270】

[00201] 一部の実施形態では、好適な細胞傷害剤としては、例えば、DNA副溝結合剤（例えば、エンジンおよびレキシトロブシン、CBI化合物；米国特許第6,130,237号も参照）、デュオカルマイシン、タキサン（例えば、パクリタキセルおよびドセタキセル）、ピューロマイシン、ピンカアルカロイド、CC-1065、SN-38、トポテカン、モルホリノ-ドキシソルピシン、リゾキシン、シアノモルホリノ-ドキシソルピシン、エキノマイシン、コンプレタスタチン、ネトロブシン、エポチロンAおよびB、エストラムスチン、クリプトフィシン、セマドチン、マイタンシノイド、ディスコデルモリド、エリュテロピン、ならびにミトキサントロンが挙げられる。

40

【0271】

[00202] 一部の実施形態では、ペイロードは、抗チューブリン剤である。抗チューブリン剤の例としては、これらに限定されないが、タキサン（例えば、Taxol（登録商標）（パクリタキセル）、Taxotere（登録商標）（ドセタキセル））、T67（Tularik）、およびピンカアルカロイド（vinca alkylloid）（例えば、ピンクリスチン、ピンブラスチン、ピンデシン、およびピノレルピン）が挙げられる。他の抗チューブリン剤としては、例えば、バッカチン誘導体、タキサンアナログ、エポチロン（例えば、エポチロンAおよびB）、ノコダゾール、コルヒチンおよびコルセミド（colcimid）、エストラムスチン、クリプト

50

フィシン、セマドチン、マイタンシノイド、コンプレタスタチン、ディスコデルモリド、ならびにエリユテロピンが挙げられる。

【0272】

[00203] ある特定の実施形態では、細胞傷害剤は、抗チューブリン剤の別のグループであるマイタンシノイドである。例えば、具体的な実施形態では、マイタンシノイドは、マイタンシンまたはDM-1 (ImmunoGen, Inc.; Chari et al., 1992, Cancer Res. 52:127-131も参照)であってよい。

【0273】

[00204] 一部の実施形態では、ペイロードは、オーリスタチンEまたはその誘導体などのオーリスタチンである。例えば、オーリスタチンE誘導体は、オーリスタチンEとケト酸との間で形成されるエステルであってよい。例えば、オーリスタチンEは、パラアセチル安息香酸またはベンゾイル吉草酸と反応して、それぞれAEBおよびAEVBを生成することができる。他の典型的なオーリスタチン誘導体としては、AFP (オーリスタチンフェニルアラニンフェニレンジアミン)、MMAF (モノメチルオーリスタチンF)、およびMMAE (モノメチルオーリスタチンE)が挙げられる。オーリスタチン誘導体の合成および構造は、米国特許出願公開第2003-0083263号、第2005-0238649号、および第2005-0009751号; WO04/010957、WO02/088172、および米国特許第6,323,315号; 第6,239,104号; 第6,034,065号; 第5,780,588号; 第5,665,860号; 第5,663,149号; 第5,635,483号; 第5,599,902号; 第5,554,725号; 第5,530,097号; 第5,521,284号; 第5,504,191号; 第5,410,024号; 第5,138,036号; 第5,076,973号; 第4,986,988号; 第4,978,744号; 第4,879,278号; 第4,816,444号; および第4,486,414号に記載されている。

10

20

【0274】

[00205] 一部の実施形態では、ペイロードはヘミアステリンである。本明細書に記載の抗体-薬物コンジュゲートでの使用に好適なヘミアステリンは、例えば、WO2016/2016/123582に記載されている。この文献は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0275】

[00206] 一部の実施形態では、ペイロードは、放射性同位体ではない。一部の実施形態では、ペイロードは、放射性ではない。

30

【0276】

[00207] 一部の実施形態では、ペイロードは、代謝拮抗剤である。代謝拮抗剤は、例えば、プリンアンタゴニスト (例えば、アゾチオプリンまたはミコフェノール酸モフェチル)、ジヒドロ葉酸還元酵素阻害剤 (例えば、メトトレキサート)、アシクロビル、ガンジシクロビル、ジドブジン、ピダラビン、リバパリン、アジドチミジン、シチジンアラビノシド、アマンタジン、ジデオキシウリジン、ヨードデオキシウリジン、ホスカルネット (poscarnet)、またはトリフルリジンであってよい。

【0277】

[00208] 他の実施形態では、ペイロードは、タクロリムス、シクロスポリン、FU506、またはラパマイシンである。さらなる実施形態では、薬物は、アルデスロイキン、アレムツズマブ、アリトレチノイン、アロプリノール、アルトレタミン、アミホスチン、アナストロゾール、三酸化ヒ素、ベキサロテン、ベキサロテン、カルステロン、カペシタビン、セレコキシブ、クラドリピン、ダルベポエチンアルファ、デニロイキンジフチトクス、デクスラゾキサソ、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピルピシン、エポエチンアルファ、エストラムスチン、エキセメスタン、フィルグラスチム、フロクスウリジン、フルダラビン、フルベストラント、ゲムシタビン、ゲムツズマブオゾガミシン (MYLOTARG)、ゴセレリン、イダルピシン、イホスファミド、イマチニブメシル酸塩、インターフェロンアルファ-2a、イリノテカン、レトロゾール、ロイコボリン、レバミソール、メクロレタ

40

50

ミンまたはナイトロジェンマスタード、メゲストロール、メスナ、メトトレキサート、メトキサレン、ミトマイシンC、ミトタン、フェンプロピオン酸ナンドロロン、オブレルベキン、オキサリプラチン、パミドロネート、ペガデマゼ、ペグアスバルガーゼ、ペグフィグラスチム、ペントスタチン、ピボプロマン、ブラジエノリド、プリカマイシン、ポルフィマーナトリウム、プロカルバジン、キナクリン、ラスプリカーゼ、リツキシマブ、サルグラモスチム、ストレプトゾシン、タモキシフェン、テモゾロミド、テニボシド、テストラクトン、チオグアニン、トレミフェン、トシツモマブ、トラスツズマブ (HERCEPTIN)、トレチノイン、ウラシルマスタード、バルルピシン、ピンブラスチン、ピンクリスチン、ピノレルピン、またはゾレドロネート。

【0278】

10

[00209] 一部の実施形態では、ペイロードは、免疫調節剤である。免疫調節剤は、例えば、ガングシクロビル (gancyclovir)、エタネルセプト、タクロリムス、シクロスポリン、ラパマイシン、シクロホスファミド、アザチオプリン、ミコフェノール酸モフェチル、またはメトトレキサートであってもよい。その代わりに、免疫調節剤は、例えば、グルココルチコイド (例えば、コルチゾールまたはアルドステロン) またはグルココルチコイドアナログ (例えば、プレドニゾンまたはデキサメタゾン) であってもよい。

【0279】

[00210] 一部の実施形態では、免疫調節剤は、コンジュゲートの抗腫瘍活性を増強することになるように、免疫系の成分をモジュレートする作用剤である。そのような作用剤としては、これらに限定されないが、ツール様受容体のアゴニスト (例えば、ポリ-ICLC (Hiltonol)、GLA、MEDI9197、VTX-2337 (Motolimid)、CpG (SD-101)、およびIMO-2125); STING (インターフェロン遺伝子の刺激因子) 経路のアゴニスト (例えば、MK-1454、ADU-S100、およびSB11285); RIG-I様受容体 (RLR) シグナル伝達の活性化因子 (例えば、RGT100); IDO-1 (インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ1) の阻害剤 (例えば、GDC-0919 (navoximod)、BMS-986205、およびエパカドスタット); およびPD-1経路の小分子遮断剤 (例えば、CA-170、BMS-8、BMS-202、およびAUNP12) が挙げられるであろう。

20

【0280】

[00211] 一部の実施形態では、免疫調節剤は、アリアルカルボン酸誘導体、ピラゾール含有誘導体、オキシカム誘導体、およびニコチン酸誘導体などの抗炎症剤である。抗炎症剤のクラスとしては、例えば、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、5-リボキシゲナーゼ阻害剤、およびロイコトリエン受容体アンタゴニストが挙げられる。一部の実施形態では、免疫調節剤は、例えばIL-12などのサイトカインである。

30

【0281】

[00212] 好適なシクロオキシゲナーゼ阻害剤としては、メクロフェナム酸、メフェナム酸、カプロフェン、ジクロフェナク、ジフルニサル、フェンブフェン、フェノプロフェン、インドメタシン、ケトプロフェン、ナブメトン、スリンダク、テノキシカム、およびトルメチンが挙げられる。

【0282】

[00213] 好適なりボキシゲナーゼ阻害剤としては、酸化還元阻害剤 (例えば、カテコールブタン誘導体、ノルジヒドログアイアレチン酸 (NDGA)、マソプロコール、フェニドン、イアノパレン (lanopalen)、インダゾリノン、ナファザトロム (naphazatrom)、ベンゾフラノール、アルキルヒドロキシルアミン)、および非酸化還元阻害剤 (例えば、ヒドロキシチアゾール、メトキシアルキルチアゾール、ベンゾピランおよびそれらの誘導体、メトキシテトラヒドロピラン、ボスウェル酸およびボスウェル酸のアセチル化誘導体、ならびにシクロアルキルラジカルで置換されたキノリンメトキシフェニル酢酸)、および酸化還元阻害剤の前駆体が挙げられる。

40

【0283】

[00214] 他の好適なりボキシゲナーゼ阻害剤としては、抗酸化剤 (例えば、フェノール、没食子酸プロピル、フラボノイド、および/またはフラボノイドを含む天然に存在する

50

基質、フラボンのヒドロキシル化誘導体、フラボノール、ジヒドロケルセチン、ルテオリ  
ン、ガラギン、オロボール、カルコンの誘導体、4, 2', 4' - トリヒドロキシカル  
コン、オルト - アミノフェノール、N - ヒドロキシ尿素、ベンゾフラノール、エブセレン  
、および還元性セレン含有酵素の活性を増加される種)、鉄キレート剤(例えば、ヒドロ  
キサム酸およびその誘導体、N - ヒドロキシ尿素、2 - ベンジル - 1 - ナフトール、カテ  
コール、ヒドロキシルアミン、カルノソール トロロクスC、カテコール、ナフトール、  
スルファサラジン、ジルオイトン(zyleuton)、5 - ヒドロキシアントラニル酸、および  
4 - (オメガ - アリールアルキル)フェニルアルカン酸)、イミダゾール含有化合物(例  
えば、ケトコナゾールおよびイトラコナゾール)、フェノチアジン、およびベンゾピラン  
誘導体が挙げられる。

10

## 【0284】

[00215] さらに他の好適なリポキシゲナーゼ阻害剤としては、エイコサノイドの阻害剤  
(例えば、オクタデカテトラエン酸、エイコサテトラエン酸、ドコサペンタエン酸、エイ  
コサヘキサエン酸、およびドコサヘキサエン酸、およびそれらのエステル、PGE1(プロス  
タグランジンE1)、PGA2(プロスタグランジンA2)、ビプロストール、15 - モノヒドロ  
キシエイコサテトラエン酸、15 - モノヒドロキシ - エイコサトリエン酸、および15 -  
モノヒドロキシエイコサペンタエン酸、ならびにロイコトリエンB5、C5、およびD5)、カ  
ルシウムの流れを妨害する化合物、フェノチアジン、ジフェニルブチルアミン、ペラパミ  
ル、フスコシド、クルクミン、クロロゲン酸、コーヒー酸、5, 8, 11, 14 - エイコ  
サテトラエン酸(eicosatetrayenoic acid)(ETYA)、ヒドロキシフェニルレチナミド  
、イオナパレン(lonapalen)、エスクリン、ジエチルカルバマジン、フェナントロリン  
、バイカレイン、プロキシクロミル(proxicromil)、チオエーテル、硫化ジアリル、お  
よびジ - (1 - プロペニル)スルフィドが挙げられる。

20

## 【0285】

[00216] ロイコトリエン受容体アンタゴニストとしては、以下のものが挙げられる：カ  
ルシトリオール、オンタゾラスト、Bayer Bay - x - 1005、Ciba - Ge  
igy CGS - 25019C、エブセレン、Leo Denmark ETH - 615  
、Lilly LY - 293111、Ono ONO - 4057、Terumo TMK  
- 688、Boehringer Ingelheim BI - RM - 270、Lill  
y LY213024、Lilly LY264086、Lilly LY292728  
、Ono ONO LB457、Pfizer 105696、Perdue Fred  
erick PF10042、Rhone - Poulenc Rorer RP6615  
3、SmithKline Beecham SB - 201146、SmithKlin  
e Beecham SB - 201993、SmithKline Beecham S  
B - 209247、Searle SC - 53228、Sumitamo SM1517  
8、American Home Products WAY121006、Bayer  
Bay - o - 8276、Warner - Lambert CI - 987、Warner  
- Lambert CI - 987BPC - 15LY223982、Lilly LY23  
3569、Lilly LY - 255283、MacroNex MNX - 160、Me  
rck and Co. MK - 591、Merck and Co. MK - 886、O  
no ONO - LB - 448、Purdue Frederick PF - 5901、R  
hone - Poulenc Rorer RG14893、Rhone - Poulenc  
Rorer RP66364、Rhone - Poulenc Rorer RP696  
98、Shionoogi S - 2474、Searle SC - 41930、Sear  
le SC - 50505、Searle SC - 51146、Searle SC - 52  
798、SmithKline Beecham SK&F - 104493、Leo D  
enmark SR - 2566、Tanabe T - 757、およびTeijin TE  
I - 1338。

30

40

## 【0286】

[00217] 他の有用な薬物ペイロードとしては、がんの治療に有用な化学化合物が挙げら

50



れる。化学療法剤の例としては、以下のものが挙げられる：エルロチニブ（TARCEVA（登録商標）、Genentech/OSI Pharm.）、ボルテゾミブ（VELCADE（登録商標）、Millennium Pharm.）、フルベストラント（FASLODEX（登録商標）、AstraZeneca）、スーテント（SU1248、Pfizer）、レトロゾール（FEMARA（登録商標）、Novartis）、イマチニブメシル酸塩（GLEEVEC（登録商標）、Novartis）、P T K 7 8 7 / Z K 2 2 2 5 8 4（Novartis）、オキサリプラチン（Eloxatin（登録商標）、Sanofi）、5 - F U（5 - フルオロウラシル）、ロイコボリン、ラパマイシン（シロリムス、RAPAMUNE（登録商標）、Wyeth）、ラパチニブ（TYKERB（登録商標）、GSK572016、Glaxo Smith Kline）、ロナファーニブ（SCH 66336）、ソラフェニブ（BAY43-9006、Bayer Labs）、およびゲフィチニブ（IRESSA（登録商標）、AstraZeneca）、A G 1 4 7 8、A G 1 5 7 1（SU5271; Sugen）、チオテパ  
 および C Y T O X A N（登録商標）シクロスホスファミドなどのアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファン、およびピボスルファンなどのスルホン酸アルキル；ベンゾド  
 ーパ（benzodopa）、カルボコン、メツレドopa（meturedopa）、およびウレドopa（ure  
 dopa）などのアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホル  
 アミド、トリエチレンチオホスホルアミド、およびトリメチロメラミンを含むエチレン  
 イミンおよびメチルアメラミン（methylamelamine）；アセトゲニン（特に、プラタシン  
 およびプラタシノン）；カンプトテシン（合成アナログトポテカンを含む）；プリオスタ  
 チン；カリスタチン；C C - 1 0 6 5（そのアドゼレシン、カルゼレシン、およびピセレ  
 シン合成アナログを含む）；クリプトフィシン（特に、クリプトフィシン1およびクリプ  
 トフィシン8）；ドラスタチン；デュオカルマイシン（合成アナログであるKW-2189およ  
 びCB1-TM1を含む）；エリユテロピン；パンクラチスタチン；サルコジクチン；スポン  
 ギスタチン；クロラムブシル、クロマファジン（chlomaphazine）、クロロホスファミド  
 （chlorophosphamide）、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロ  
 レタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノブエンピキン、フェネステリン、ブレドニム  
 スチン、トロホスファミド、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマスタード；カル  
 ムスチン、クロロゾトシン、ホテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、およびラニムスチ  
 ン（ranimustine）などのニトロソウレア（nitrosurea）；エンジン抗生物質（例えば  
 、カリチアマイシン、特に、ウンシアラマイシン、カリチアマイシンガンマII、およびカ  
 リチアマイシンオメガII（Angew Chem. Intl. Ed. Engl.（1994）33:183-186）などの抗  
 生物質；ジネミシンAを含むジネミシン；クロドロネートなどのビスホスホネート；エス  
 ペラミシン；ならびにネオカルチノスタチン発色団および関連色素タンパク質エンジン  
 抗生物質発色団）、アクラシノマイシン（aclacinomycin）、アクチノマイシン、アント  
 ラマイシン（authramycin）、アザセリン、プレオマイシン、カクチノマイシン、カラビ  
 シン（carabycin）、カミノマイシン（caminomycin）、カルジノフィリン、クロモマイシ  
 ン（chromomycinis）、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デトルピシン、6 - ジアゾ  
 - 5 - オキソ - L - ノルロイシン、A D R I A M Y C I N（登録商標）（ドキシソルピシン）、  
 モルホリノ - ドキシソルピシン、シアノモルホリノ - ドキシソルピシン、2 - ピロリノ -  
 ドキシソルピシン、およびデオキシドキシソルピシン）、エビルピシン、エソルピシン、イダ  
 ルピシン、マルセロマイシン、ミトマイシンCなどのミトマイシン、ミコフェノール酸、  
 ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ボルフィロマイシン、ピューロマイ  
 シン、クエラマイシン、ロドルピシン（rodorubicin）、ストレプトニグリン、ストレプ  
 トゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルピシン；メトトレキサート  
 および5 - フルオロウラシル（5-FU）などの代謝拮抗剤；デノブテリン、メトトレキサート、  
 プラジエノリドB、プテロプテリン、トリメトトレキサートなどの葉酸アナログ；フル  
 ダラビン、6 - メルカプトプリン、チアムニプリン（thiamniprine）、チオグアニンなど  
 のプリンアナログ；アンシタピン、アザシチジン、6 - アザウリジン、カルモフル、シ  
 タラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロクスウリジンな  
 どのピリミジンアナログ；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタ  
 ノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン；アミノグルテチミド、ミ  
 トタン、トリロスタンなどの抗アドレナリン剤；フォリン酸（frolinic acid）などの葉

10

20

30

40

50

酸補給物質；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレプリン酸；エニル  
 ウラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ピサントレン；エダトレキセート (edatraxa  
 te)；デホファミン (defofamine)；デメコルチン；ジアジクオン；エルホルミチン (el  
 formithine)；酢酸エリプチニウム；エポチロン；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロ  
 キシ尿素；レンチナン；ロニダイニン (lonidainine)；マイタンシンおよびアンサミト  
 シンなどのマイタンシノイド；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモール (mopi  
 danmol)；ニトラエリン (nitraerine)；ペントスタチン；フェナメット；ピラルピシン  
 ；ロソキサントロン；ポドフィリン酸；2 - エチルヒドラジド；プロカルバジン；P S K  
 (登録商標)ポリサッカリド複合体 (JHS Natural Products、ユージーン、オレゴン州)  
 ；ラゾキサン；リゾキシシン；シゾフラン (sizofuran)；スピロゲルマニウム；テヌアゾ  
 ン酸；トリアジクオン；2, 2', 2'' - トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン  
 (特に、T-2毒素、ベラクリンA、ロリジンA、およびアングイジン)；ウレタン；ピンデ  
 シン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトプロニトール；ミトラクトール；ピポプロマ  
 ン；ガシトシン (gacytosine)；アラビノシド (「Ara-C」)；シクロホスファミド；チ  
 オテパ；タキソイド、例えばT A X O L (登録商標) (パクリタキセル；Bristol-Myers  
 Squibb Oncology、プリンストン、ニュージャージー州)、A B R A X A N E (登録商標  
 ) (クレモフォルフリー)、パクリタキセルのアルブミン加工ナノ粒子製剤 (American  
 Pharmaceutical Partners、シャウムベルク、イリノイ州)、およびT A X O T E R E (登録商標  
 ) (ドセタキセル (doxetaxel)；Rhone-Poulenc Rorer、アントニー、フランス  
 )；クロラムブシル (chloranmbucil)；G E M Z A R (登録商標) (ゲムシタピン)；  
 6 - チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチンおよびカルボ  
 プラチンなどの白金アナログ；ピンラスチン；エトボシド (VP-16)；イホスファミド；  
 ミトキサントロン；ピンクリスチン；N A V E L B I N E (登録商標) (ピノレルピン)  
 ；ノバントロン；テニボシド；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；カ  
 ペシタピン (XELODA (登録商標))；イバンドロネート；C P T - 1 1；トポイソメラー  
 ゼ阻害剤 R F S 2 0 0 0；ジフルオロメチルオルニチン (DMFO)；レチノイン酸などのレ  
 チノイド；ならびに上記のものいづれかの薬学的に許容される塩、酸、および誘導体。

10

20

30

40

50

## 【0287】

[00218] 他の有用なペイロードとしては、以下のものが挙げられる：(i) 例えば、タモ  
 キシフェン (NOLVADEX (登録商標)；クエン酸タモキシフェンを含む)、ラロキシフェン  
 、ドロロキシフェン、4 - ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェ  
 ン、L Y 1 1 7 0 1 8、オナプリストン、およびF A R E S T O N (登録商標) (クエン  
 酸トレミフェン (toremifine citrate)) を含む、抗エストロゲン剤および選択的エスト  
 ロゲン受容体修飾因子 (SERM) などの、腫瘍に対するホルモン作用を調節または阻害する  
 ように作用する抗ホルモン剤；(ii) 例えば、4 (5) - イミダゾール、アミノグルテチ  
 ミド、M E G A S E (登録商標) (酢酸メゲストロール)、A R O M A S I N (登録商標  
 ) (エキセメスタン；Pfizer)、ホルメスタン (formestanie)、ファドロゾール、R I  
 V I S O R (登録商標) (ポロゾール)、F E M A R A (登録商標) (レトロゾール；No  
 vartis)、およびA R I M I D E X (登録商標) (アナストロゾール；AstraZeneca) など、  
 副腎でのエストロゲン産生を調節する酵素アロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害  
 剤；(iii) フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド、およびゴセレリン  
 などの抗アンドロゲン剤；ならびにトロキサシタピン (1, 3 - ジオキソランヌクレオシ  
 ドシトシンアナログ)；(iv) プロテインキナーゼ阻害剤；(v) 脂質キナーゼ阻害剤；  
 (vi) アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に、例えば、P K C - アルファ、R a 1 f、  
 およびH - R a s などの異常な細胞増殖に関するシグナル伝達経路の遺伝子の発現を阻  
 害するもの；(vii) V E G F 発現阻害剤 (例えば、ANGIOZYME (登録商標)) およびH E  
 R 2 発現阻害剤などのリボザイム；(viii) 遺伝子療法ワクチン、例えば、A L L O V E  
 C T I N (登録商標)、L E U V E C T I N (登録商標)、およびV A X I D (登録商標)  
 )；P R O L E U K I N (登録商標) r I L - 2；L U R T O T E C A N (登録商標) な  
 どのトポイソメラーゼ 1 阻害剤；A B A R E L I X (登録商標) r m R H などのワクチン

; (ix) ベバシズマブ (AVASTIN (登録商標)、Genentech) などの抗血管新生剤; (x) 腫瘍におけるポリ (ADPリボース) ポリメラーゼ (PARP) ファミリーのメンバーの活性を調節または阻害するように作用する作用剤 (例えば、タラゾパリブ (BMN-673)、イニパリブ (BSI201)、ペリパリブ (ABT-888)、オラパリブ (AZD-2281、商品名LYNPARZA (商標))、ルカパリブ (AG014699)、BGB-290、E7016、E7449、およびCEP-9722); (xi) 腫瘍におけるヒストンデアセチラーゼ (HDAC) ファミリーのメンバーの活性を調節または阻害するように作用する作用剤 (例えば、アベキノスタット、エンチノスタット、ギビノスタット (gavinostat)、4SC-202、ACY-241、AR-42、CG200745、CHR-2845、CHR-3996、CXD101、MPT0E028、OBP-801、SHP-141、CUDC-101、KA2507、パノビノスタット、プラシノスタット、キシノスタット、レスミノスタット、リコリノスタット); (xii) 腫瘍におけるミトコンドリア酵素イソクエン酸デヒドロゲナーゼ 2 型 (IDH2) の活性を調節または阻害するように作用する作用剤 (例えば、エナシデニブメシル酸塩 (CC-90007およびAG-221メシル酸塩); ならびに (xiii) 上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸、および誘導体。他の有用なペイロードとしては、例えば、MMP-2 (マトリックスメタロプロテアーゼ2) 阻害剤、MMP-9 (マトリックス-メタロプロテアーゼ9) 阻害剤、COX-2 (シクロオキシゲナーゼII) 阻害剤、およびVEGF受容体チロシンキナーゼ阻害剤を含む、抗血管新生剤が挙げられる。本化合物/組成物と組み合わせて使用することができる有用なマトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤の例としては、WO 96/33172、WO 96/27583、EP 818442、1004578、WO 98/07697、WO 98/03516、WO 98/34918、WO 98/34915、WO 98/33768、WO 98/30566、EP 606,046、EP 931,788、WO 90/05719、WO 99/52910、WO 99/52889、WO 99/29667、WO 99/07675、EP 945864、米国特許第5,863,949号、米国特許第5,861,510号、およびEP 780,386に記載されている。これらの文献はすべて、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。VEGF受容体チロシンキナーゼ阻害剤の例としては、4-(4-プロモ-2-フルオロアニリノ)-6-メトキシ-7-(1-メチルピペリジン-4-イルメトキシ)キナゾリン (ZD6474; WO 01/32651内の実施例2)、4-(4-フルオロ-2-メチルインドール-5-イルオキシ)-6-メトキシ-7-(3-ピロリジン-1-イルプロボキシ)キナゾリン (AZD2171; WO 00/47212内の実施例240)、パタラニブ (PTK787; WO 98/35985)、およびSU 11248 (スニチニブ; WO 01/60814)、ならびにPCT公報WO 97/22596、WO 97/30035、WO 97/32856、およびWO 98/13354に記載のものなどの化合物)が挙げられる。

#### 【0288】

[00219] ある特定の実施形態では、ペイロードは、抗体または抗体断片である。ある特定の実施形態では、ペイロード抗体または断片は、当業者により認識される免疫グロブリン遺伝子のいずれかによりコードされていてもよい。免疫グロブリン遺伝子としては、これらに限定されないが、 $\gamma$ 、 $\mu$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$  (IgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4)、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、および $\mu$ 定常領域遺伝子、ならびに免疫グロブリン可変領域遺伝子が挙げられる。この用語は、当業者により認識される完全長抗体および抗体断片ならびにそれらの変異体を含む。代表的な断片としては、これらに限定されないが、Fv、Fc、Fab、および(Fab')<sub>2</sub>、単鎖Fv (scFv)、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、二官能性ハイブリッドポリペプチド、CDR1、CDR2、CDR3、CDRの組合せ、可変領域、フレームワーク領域、および定常領域などが挙げられる。

#### 【0289】

[00220] ある特定の実施形態では、ペイロードは、1つまたは複数の水溶性ポリマーである。幅広く様々な巨大分子ポリマーおよび他の分子を、本明細書に記載のポリペプチドに連結して、ポリペプチドの生物学的特性をモジュレートし、および/または新しい生物学的特性をポリペプチドに提供することができる。こうした巨大分子ポリマーは、天然コードアミノ酸を介して、非天然コードアミノ酸を介して、または天然もしくは修飾アミノ

10

20

30

40

50

酸の任意の官能性置換基を介して、または天然もしくは修飾アミノ酸に付加された任意の置換基もしくは官能基を介してポリペプチドに連結されていてもよい。ポリマーの分子量は、これらに限定されないが、約100Da~約100,000Daまたはそれよりも大きな幅広い範囲であってもよい。

【0290】

[00221] 選択されたポリマーは、それが付着しているタンパク質が、生理学的環境などの水性環境において沈殿しないように水溶性であってもよい。ポリマーは、分岐であってもよくまたは非分岐であってもよい。好ましくは、最終産物調製物の療法使用の場合、ポリマーは、薬学的に許容されることになる。

【0291】

[00222] ある特定の実施形態では、ポリエチレングリコール分子のポリペプチド分子に対する比は様々であろう。同様に、反応混合物中のそれらの濃度も様々であろう。一般に、最適な比（過剰な未反応タンパク質またはポリマーが最小限であるという反応効率の観点で）は、選択されたポリエチレングリコールの分子量および利用可能な反応基の利用可能な数により決定することができる。分子量に関しては、典型的には、ポリマーの分子量が高いほど、タンパク質に付着することができるポリマー分子の数は少なくなる。同様に、こうしたパラメーターを最適化する際には、ポリマーの分岐を考慮に入れるべきである。一般に、分子量が高いほど（または分岐が多いほど）、ポリマー：タンパク質比は高くなる。

【0292】

[00223] 水溶性ポリマーは、これらに限定されないが、線状、さ状、または分岐状を含む、任意の構造形態であってもよい。典型的には、水溶性ポリマーは、ポリ（エチレングリコール）（PEG）などのポリ（アルキレングリコール）であるが、他の水溶性ポリマーも使用することができる。例として、PEGを使用して、ある特定の実施形態を説明する。

【0293】

[00224] PEGは、市販されているか、または当技術分野で周知の方法（Sandler and Karo, Polymer Synthesis, Academic Press, New York, Vol. 3, pages 138-161）に従ってエチレングリコールを開環重合することにより調製することができる周知の水溶性ポリマーである。「PEG」という用語は、PEGのサイズまたは末端修飾に関わりなく、任意のポリエチレングリコール分子を包含するように広義に使用され、式： $XO-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2-Y$ によりポリペプチドに連結されたものとして表すことができ、式中、 $n$ は、2~10,000であり、 $X$ は、 $H$ または $C_{1-4}$ アルキルを含むがこれらに限定されない末端修飾であり、 $Y$ は、ポリペプチドとの付着点である。

【0294】

[00225] 一部の 경우에는、PEGは、一方の末端がヒドロキシまたはメトキシで終端し、すなわち、 $X$ は、 $H$ または $CH_3$ である（「メトキシPEG」）。その代わりに、PEGは反応性基で終端し、それにより二官能性ポリマーを形成してもよい。典型的な反応性基としては、20種の通常アミノ酸に見出される官能基と反応するために一般的に使用される反応性基（マレイミド基、活性化カルボネート（ $p$ -ニトロフェニルエステルを含むがこれに限定されない）、活性化エステル（ $N$ -ヒドロキシスクシンイミド、 $p$ -ニトロフェニルエステル、およびアルデヒドを含むがこれらに限定されない）、ならびに20種の通常アミノ酸に対して不活性であるが、非天然コードアミノ酸に存在する相補的官能基と特異的に反応する官能基（アジド基、アルキン基を含むがこれらに限定されない）を挙げることができる。なお、上記式の $Y$ により示されているPEGの他方の末端は、天然に存在するアミノ酸または非天然コードアミノ酸を介して、直接的または間接的のいずれかでポリペプチドに付着されることになる。例えば、 $Y$ は、ポリペプチドのアミン基（リジンのイプシロンアミンまたは $N$ 末端を含むがこれらに限定されない）とのアミド連結、カルバメート連結、または尿素連結であってもよい。その代わりに、 $Y$ は、チオール基（システインのチオール基を含むがこれに限定されない）とのマレイミド結合であってもよい。

10

20

30

40

50

その代わりに、Yは、20種の通常アミノ酸を介しては一般的に接近可能でない残基との連結であってもよい。例えば、PEGにあるアジド基を、ポリペプチドのアルキン基と反応させて、ヒュスゲン[3+2]環化付加産物を形成してもよい。その代わりに、PEGにあるアルキン基を、本明細書に記載の修飾アミノ酸など、非天然コードアミノ酸に存在するアジド基と反応させて、類似の産物を形成してもよい。一部の実施形態では、強力な求核剤（ヒドラジン、ヒドラジド、ヒドロキシルアミン、セミカルバジドを含むがこれらに限定されないが）を、非天然コードアミノ酸に存在するアルデヒド基またはケトン基と反応させて、ヒドラゾン、オキシム、またはセミカルバゾン形成することができ、必要に応じて、それらを一部的な場合では適切な還元剤で処理することによりさらに還元することができる。その代わりに、強力な求核剤を、非天然コードアミノ酸を介してポリペプチドに組み込み、水溶性ポリマーに存在するケトン基またはアルデヒド基と優先的に反応させるために使用することができる。

10

#### 【0295】

[00226] これらに限定されないが、約100ダルトン(Da)~100,000Da、または所望の場合はそれよりも大きな分子量を含む(場合によっては0.1~50kDaまたは10~40kDaを含むがこれらに限定されない)、任意の分子量のPEGを、実際に所望の通りに使用することができる。各鎖が1~100kDaの範囲(1~50kDaまたは5~20kDaを含むがこれらに限定されない)のMWを有するPEG分子を含むがこれらに限定されない分岐鎖PEGも使用することができる。これらに限定されないが、Shearwater Polymers, Inc.のカatalogおよびNektar Therapeuticsのカatalogに、広範囲のPEG分子が記載されている。これらカatalogは参照により本明細書に組み込まれる。

20

#### 【0296】

[00227] 一般に、PEG分子の少なくとも1つの末端は、抗体との反応に使用可能である。例えば、アミノ酸側鎖と反応させるためのアルキン部分およびアジド部分を保持するPEG誘導体を使用して、本明細書に記載の通りにPEGを非天然コードアミノ酸に付着させることができる。非天然コードアミノ酸がアジドを含む場合、PEGは、典型的には、[3+2]環化付加産物の形成をもたらすためのアルキン部分、またはアミド連結の形成をもたらすためのホスフィン基を含む活性化PEG種(つまり、エステル、カルボネート)のいずれかを含むことになる。その代わりに、非天然コードアミノ酸がアルキンを含む場合、PEGは、典型的には、[3+2]ヒュスゲン環化付加産物の形成をもたらすためのアジド部分を含むことになる。非天然コードアミノ酸がカルボニル基を含む場合、PEGは、典型的には、それぞれヒドラゾン連結、オキシム連結、およびセミカルバゾン連結の形成をもたらすために、強力な求核剤(ヒドラジド、ヒドラジン、ヒドロキシルアミン、またはセミカルバジド官能性を含むがこれらに限定されない)を含むことになる。他の代替法では、本明細書に記載の反応性基の逆の方向性を使用することができる。つまり、非天然コードアミノ酸のアジド部分を、アルキンを含むPEG誘導体と反応させてもよい。

30

#### 【0297】

[00228] 一部の実施形態では、PEG誘導体を有するポリペプチド変異体は、非天然コードアミノ酸の側鎖に存在する化学的官能性と反応性である化学的官能性を含む。

40

#### 【0298】

[00229] ある特定の実施形態では、ペイロードは、約800Da~約100,000Daの平均分子量を有する水溶性ポリマー骨格を含むアジド含有またはアセチレン含有ポリマーである。水溶性ポリマーのポリマー骨格は、ポリ(エチレングリコール)であってもよい。しかしながら、これらに限定されないが、ポリ(エチレン)グリコールならびにポリ(デキストラン)およびポリ(プロピレングリコール)を含む他の関連ポリマーを含む、幅広く様々な水溶性ポリマーも使用に好適であり、PEGまたはポリ(エチレングリコール)という用語の使用は、すべてのそのような分子を包含および含むことが意図されていることが理解されるべきである。PEGという用語は、これらに限定されないが、二官

50

能性 P E G、マルチアーム P E G、誘導体化 P E G、さ状 P E G、分岐 P E G、懸垂 P E G（つまり、ポリマー骨格に懸垂されている 1 つまたは複数の官能基を有する P E G または関連ポリマー）、またはその中に分解可能な連結を有する P E G を含む、そのあらゆる形態のポリ（エチレングリコール）を含む。

【 0 2 9 9 】

[00230] ポリマー骨格は、線状であってもよくまたは分枝状であってもよい。分岐ポリマー骨格は、当技術分野で一般に公知である。典型的には、分岐ポリマーは、中央分岐コア部分、および中央分岐コアに連結された複数の線状ポリマー鎖を有する。P E G は、一般的に、グリセロール、グリセロールオリゴマー、ペンタエリスリトール、およびソルビトールなどの種々のポリオールにエチレンオキシドを付加することにより調製することができる分岐形態で使用される。また、中央分岐部分は、リジンなどの幾つかのアミノ酸に由来してもよい。分岐ポリ（エチレングリコール）は、基本形態が、 $R(-P E G-O H)_m$  として表すことができ、式中、R は、グリセロール、グリセロールオリゴマー、またはペンタエリスリトールなどのコア部分に由来し、m はアームの数を表す。また、米国特許第 5, 9 3 2, 4 6 2 号、第 5, 6 4 3, 5 7 5 号；第 5, 2 2 9, 4 9 0 号；第 4, 2 8 9, 8 7 2 号；米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 1 4 3 5 9 6 号；W O 9 6 / 2 1 4 6 9；および W O 9 3 / 2 1 2 5 9 に記載されているものなどのマルチアーム P E G 分子をポリマー骨格として使用することができる。これらの文献の各々は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

【 0 3 0 0 】

[00231] また、分岐 P E G は、 $P E G(-Y C H Z_2)_n$  により表されるさ状 P E G の形態であってもよく、式中、Y は連結基であり、Z は、規定の長さの原子の鎖により C H に連結された活性化末端基である。

20

【 0 3 0 1 】

[00232] さらに別の分岐形態である懸垂 P E G は、P E G 鎖の末端ではなく P E G 骨格に沿って、カルボキシルなどの反応性基を有する。

【 0 3 0 2 】

[00233] こうした形態の P E G に加えて、ポリマーは、弱い連結または分解可能な連結を骨格に有するように調製することもできる。例えば、加水分解を受けやすいポリマー骨格にエステル連結を有する P E G を調製することができる。本明細書に示されているように、この加水分解は、ポリマーがより低い分子量の断片へと切断されることをもたらす： $-P E G-C O_2-P E G-+H_2 O \rightarrow P E G-C O_2 H+H O-P E G-$ 。当業者であれば、ポリ（エチレングリコール）または P E G という用語は、本明細書に開示されているものを含むがそれらに限定されない当技術分野で公知のすべての形態を表すかまたは含むことが理解される。

30

【 0 3 0 3 】

[00234] 多くの他のポリマーも使用に好適である。一部の実施形態では、2 ~ 約 3 0 0 個の末端を有する水溶性ポリマーのポリマー骨格が特に好適である。好適なポリマーの例としては、これらに限定されないが、ポリ（プロピレングリコール）（「PPG」）などの他のポリ（アルキレングリコール）、それらのコポリマー（エチレングリコールおよびプロピレングリコールのコポリマーを含むがこれらに限定されない）、それらのターポリマー、およびそれらの混合物などが挙げられる。ポリマー骨格の各鎖の分子量は様々であってもよいが、典型的には約 8 0 0 D a ~ 約 1 0 0, 0 0 0 D a の、多くの場合は約 6, 0 0 0 D a ~ 約 8 0, 0 0 0 D a の範囲である。

40

【 0 3 0 4 】

[00235] 当業者であれば、実質的に水溶性である骨格の上述のリストは、決して網羅的なものではなく例示に過ぎないこと、および本明細書に記載の品質を有するすべてのポリマー材料が使用に好適であると企図されることを認識するであろう。

【 0 3 0 5 】

[00236] 一部の実施形態では、ポリマー誘導体は「多官能性」であり、これは、ポリマ

50

一骨格が、官能基で官能化または活性化された少なくとも2つの末端、おそらくは約300個もの末端を有することを意味する。多官能性ポリマー誘導体としては、これらに限定されないが、各末端が、同じであってよくまたは異なってもよい官能基に結合されている2つの末端を有する線状ポリマーが挙げられる。

【0306】

#### 4. リンカー

[00237] ある特定の実施形態では、抗体は、抗体アミノ酸とおよびペイロード基と反応することが可能な1つまたは複数のリンカーによりペイロードに連結されていてもよい。1つまたは複数のリンカーは、当業者にとって明白な任意のリンカーであってもよい。

【0307】

[00238] 「リンカー」という用語は、本明細書では、通常は化学反応の結果として形成され、典型的には共有結合連結である基または結合を指すために使用される。

【0308】

[00239] 有用なリンカーとしては、本明細書に記載されているものが挙げられる。ある特定の実施形態では、リンカーは、当業者に公知である任意の二価または多価リンカーである。有用な二価リンカーとしては、アルキレン、置換アルキレン、ヘテロアルキレン、置換ヘテロアルキレン、アリーレン、置換アリーレン、ヘテロアリーレン (heteroarlyene)、および置換ヘテロアリーレンが挙げられる。ある特定の実施形態では、リンカーは、 $C_{1-10}$  アルキレンまたは  $C_{1-10}$  ヘテロアルキレンである。一部の実施形態では、 $C_{1-10}$  ヘテロアルキレンは、PEGである。

【0309】

[00240] ある特定の実施形態では、リンカーは、加水分解的に安定である。加水分解的に安定な連結とは、連結が水中で実質的に安定であり、長期間にわたって、おそらくは無期限でさえある期間にわたって、生理学的条件下を含むがこれに限定されない条件下における有用なpH値で水と反応しないことを意味する。ある特定の実施形態では、リンカーは、加水分解的に不安定である。加水分解的に不安定なまたは分解可能な連結は、連結が、水中、または例えば血液を含む水性溶液中で分解可能であることを意味する。酵素的に不安定なまたは分解可能な連結は、連結が、1つまたは複数の酵素により分解され得ることを意味する。

【0310】

[00241] 当技術分野で理解されているように、PEGおよび関連ポリマーは、ポリマー骨格に、またはポリマー骨格とポリマー分子の末端官能基の1つもしくは複数との間のリンカー基に分解可能な連結を含んでいてもよい。例えば、PEGカルボン酸または活性化PEGカルボン酸と、生物学的活性作用剤にあるアルコール基との反応により形成されるエステル連結は、一般に、生理学的条件下で加水分解して、作用剤を放出する。

【0311】

[00242] 他の加水分解的に分解可能な連結としては、これらに限定されないが、以下のものが挙げられる：カルボネート連結；アミンおよびアルデヒドの反応に起因するイミン結合；アルコールをリン酸基と反応させることにより形成されるリン酸エステル連結；ヒドラジドおよびアルデヒドの反応産物であるヒドラゾン連結；アルデヒドおよびアルコールの反応産物であるアセタール連結；ホルメートおよびアルコールの反応産物であるオルトエステル連結；PEGなどのポリマーの末端にあるものを含むがこれに限定されないアミン基、およびペプチドのカルボキシル基により形成されるペプチド連結；ならびにポリマーの末端にあるものを含むがこれらに限定されないホスホルアミダイト基、およびオリゴヌクレオチドの5'ヒドロキシル基により形成されるオリゴヌクレオチド連結。

【0312】

[00243] 多くの異なる切断可能なリンカーが当業者に公知である。米国特許第4,618,492号、第4,542,225号、および第4,625,014号を参照。こうしたリンカー基から作用剤を放出させる機序としては、例えば、光不安定性結合の照射、および酸触媒加水分解が挙げられる。例えば、米国特許第4,671,958号は、患者の

10

20

30

40

50

補体系のタンパク質分解酵素により *in vivo* で標的部位が切断されるリンカーを含む免疫コンジュゲートの記載を含む。リンカーの長さは、ポリペプチドとそれに連結されている分子との間の所望の空間的關係性に依じて、事前に決定または選択することができる。当業者であれば、様々な放射線診断化合物、放射線療法化合物、薬物、毒素、および他の作用剤をポリペプチドに付着させるための報告されている多数の方法に照らして、所与の作用剤をポリペプチドに付着させるための好適な方法を決定できると予想される。

### 【0313】

[00244] リンカーは、広範囲の分子量または分子長を有してもよい。より大きなまたはより小さな分子量のリンカーを使用して、ポリペプチドと連結実体との間の所望の空間的關係性または立体構造を提供することができる。より長いまたはより短い分子長を有するリンカーを使用して、ポリペプチドと連結実体との間に所望の空間または可撓性を提供することもできる。同様に、特定の形状または立体構造を有するリンカーを使用して、ポリペプチドがその標的に到達する前または後のいずれかで、ポリペプチドまたは連結実体に特定の形状または立体構造を付与することができる。リンカーの各末端に存在する官能基は、所望の条件下でポリペプチドまたはペイロードの放出をモジュレートするように選択することができる。ポリペプチドと連結実体との間の空間的關係性のこうした最適化は、新しいか、モジュレートされるか、または所望である特性を分子に提供することができる。

### 【0314】

[00245] 一部の実施形態では、本明細書には、a) ポリマー骨格の少なくとも第1の末端にあるアジド、アルキン、ヒドラジン、ヒドラジド、ヒドロキシルアミン、またはカルボニル含有部分；およびb) ポリマー骨格の第2の末端にある少なくとも第2の官能基を含むダンベル構造を有する水溶性二官能性リンカーが提供される。第2の官能基は、第1の官能基と同じであってもよくまたは異なってもよい。一部の実施形態では、第2の官能基は、第1の官能基と反応性ではない。一部の実施形態では、分岐分子構造の少なくとも1つのアームを含む水溶性化合物が提供される。例えば、分岐分子構造は樹状構造であってもよい。

### 【0315】

[00246] 一部の実施形態では、リンカーは、以下ものからなる群から選択されるリンカー前駆体に由来する：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)、N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ペンタノエート(SPP)、N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ブタノエート(SPDB)、N-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルジチオ)-2-スルホ-ブタノエート(スルホ-SPDB)、N-スクシンイミジルヨードアセテート(SIA)、N-スクシンイミジル(4-ヨードアセチル)アミノベンゾエート(SIAB)、マレイミドPEG-NHS、N-スクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサンカルボキシレート(SMCC)、N-スルホスクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサンカルボキシレート(スルホ-SMCC)、または2,5-ジオキソピロリジン-1-イル17-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-5,8,11,14-テトラオキソ-4,7,10,13-テトラアザヘプタデカン-1-オエート(CX1-1)。ある特定の実施形態では、リンカーは、リンカー前駆体N-スクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサンカルボキシレート(SMCC)に由来する。

### 【0316】

[00247] 一部の実施形態では、リンカーは、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド、およびペンタペプチドからなる群から選択されるリンカー前駆体に由来する。そのような実施形態では、リンカーは、プロテアーゼにより切断することができる。代表的なジペプチドとしては、これらに限定されないが、バリン-シトルリン(vcまたはval-cit)、アラニン-フェニルアラニン(afまたはala-phe)、フェニルアラニン-リジン(fkまたはphe-lys)、フェニルアラニン-ホモリジン(phe-homolys)、およびN-メチル-バリン-シトルリン(Me-val-cit)が挙げられる。代表的なトリペプチドとしては、これら



に限定されないが、グリシン - バリン - シトルリン (gly-val-cit)、グリシン - グリシン - グリシン (gly-gly-gly)、およびグリシン - メトキシエトキシエチル)セリン - バリン (gly-val - citalanine OMESerValAla) が挙げられる。

【0317】

[00248] 一部の実施形態では、リンカーは、自壊性スペーサーを含む。ある特定の実施形態では、自壊性スペーサーは、p - アミノベンジルを含む。一部の実施形態では、p - アミノベンジルアルコールを、アミド結合を介してアミノ酸単位に付着させ、ベンジルアルコールとペイロードとの間にカルバメート、メチルカルバメート、またはカルボネートを製作する (Hamann et al. (2005) Expert Opin. Ther. Patents (2005) 15:1087-1103)。一部の実施形態では、リンカーは、p - アミノベンジロキシカルボニル (PAB) を含む。自壊性スペーサーの他の例としては、これらに限定されないが、2 - アミノイミダゾール - 5 - メタノール誘導体 (米国特許第 7, 375, 078 号; Hay et al. (1999) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237)、およびオルト - またはパラ - アミノベンジルアセタールなどの、PAB基と電子的に類似する芳香族化合物が挙げられる。一部の実施形態では、置換および非置換 4 - アミノ酪酸アミド (Rodrigues et al. (1995) Chemistry Biology 2:223)、適切に置換されたピシクロ [2.2.1] およびピシクロ [2.2.2] 環系 (Storm et al. (1972) J. Amer. Chem. Soc. 94:5815)、ならびに 2 - アミノフェニルプルピオン酸アミド (Amsberry, et al. (1990) J. Org. Chem. 55:5867) など、アミド結合加水分解時に環化を起こすスペーサーを使用することができる。薬物とグリシン残基の - 炭素との連結は、コンジュゲートに有用であり得る自壊性スペーサーの別の例である (Kingsbury et al. (1984) J. Med. Chem. 27:1447)。

10

20

【0318】

[00249] ある特定の実施形態では、リンカー前駆体を組み合わせて、より大きなリンカーを形成することができる。例えば、ある特定の実施形態では、リンカーは、ジペプチドであるバリン - シトルリンおよび p - アミノベンジロキシカルボニルを含む。これらは、citValCit - - PABリンカーとしても参照される。

【0319】

[00250] ある特定の実施形態では、ペイロードは、リンカーに連結されていてもよく、本明細書ではリンカー - ペイロードとして参照される場合があり、1つまたは複数のリンカー基は、抗体アミノ酸基と反応することが可能である。1つまたは複数のリンカーは、当業者にとって明白である任意のリンカーであってもよくまたは本明細書に示されているものであってもよい。

30

【0320】

[00251] 例えば、下記に記載のリンカー前駆体 (A) ~ (L) など、追加のリンカーが本明細書に開示されている。

【0321】

5. 抗体特異性

[00252] コンジュゲートは、ヒト葉酸受容体アルファと選択的に結合する抗体を含む。一部の態様では、抗体は、ヒト葉酸受容体アルファ (ヒトFOLR1) の細胞外ドメインと選択的に結合する。

40

【0322】

[00253] 一部の実施形態では、抗体は、ヒトFOLR1のホモログに結合する。一部の態様では、抗体は、サル、マウス、イヌ、ネコ、ラット、ウシ、ウマ、ヤギ、およびヒツジから選択される種に由来する、ヒトFOLR1のホモログに結合する。一部の態様では、ホモログは、カニクイザルホモログである。一部の態様では、ホモログは、マウスまたはマウスアナログである。

【0323】

[00254] 一部の実施形態では、抗体は、本開示で提供されるコンセンサス配列により規定される少なくとも1つのCDR配列を含む。一部の実施形態では、抗体は、本開示で提供される例示的なCDR配列、V<sub>H</sub>配列、またはV<sub>L</sub>配列、またはそれらの変異体を含む

50

。一部の態様では、変異体は、保存的アミノ酸置換を有する変異体である。

【0324】

[00255] 一部の実施形態では、抗体は、アミノ酸残基の数に換算して、特定の長さを有する1つまたは複数のCDRを有する。一部の実施形態では、抗体のChothia CDR-H1は、6、7、または8残基長である。一部の実施形態では、抗体のKabatt CDR-H1は、4、5、または6残基長である。一部の実施形態では、抗体のChothia CDR-H2は、5、6、または7残基長である。一部の実施形態では、抗体のKabatt CDR-H2は、16、17、または18残基長である。一部の実施形態では、抗体のKabatt/Chothia CDR-H3は、13、14、15、16、または17残基長である。

10

【0325】

[00256] 一部の態様では、抗体のKabatt/Chothia CDR-L1は、11、12、13、14、15、16、17、または18残基長である。一部の態様では、抗体のKabatt/Chothia CDR-L2は、6、7、または8残基長である。一部の態様では、抗体のKabatt/Chothia CDR-L3は、8、9、または10残基長である。

【0326】

[00257] 一部の実施形態では、抗体は軽鎖を含む。一部の態様では、軽鎖はカップ軽鎖である。一部の態様では、軽鎖はラムダ軽鎖である。

20

【0327】

[00258] 一部の実施形態では、抗体は重鎖を含む。一部の態様では、重鎖はIgAである。一部の態様では、重鎖はIgDである。一部の態様では、重鎖はIgEである。一部の態様では、重鎖はIgGである。一部の態様では、重鎖はIgMである。一部の態様では、重鎖はIgG1である。一部の態様では、重鎖はIgG2である。一部の態様では、重鎖はIgG3である。一部の態様では、重鎖はIgG4である。一部の態様では、重鎖はIgA1である。一部の態様では、重鎖はIgA2である。

【0328】

[00259] 一部の実施形態では、抗体は、抗体断片である。一部の態様では、抗体断片はFv断片である。一部の態様では、抗体断片はFab断片である。一部の態様では、抗体断片はF(ab')<sub>2</sub>断片である。一部の態様では、抗体断片はFab'断片である。一部の態様では、抗体断片はscFv(sFv)断片である。一部の態様では、抗体断片はscFv-Fc断片である。

30

【0329】

[0260] 一部の実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体である。一部の実施形態では、抗体は、ポリクローナル抗体である。

【0330】

[0261] 一部の実施形態では、抗体は、キメラ抗体である。一部の実施形態では、抗体は、ヒト化抗体である。一部の実施形態では、抗体は、ヒト抗体である。

【0331】

[0262] 一部の実施形態では、抗体は、親和性成熟抗体である。一部の態様では、抗体は、本開示で提供される例示的な配列に由来する親和性成熟抗体である。

40

【0332】

[00263] 本明細書で提供される抗体は、がんを含む様々な疾患および状態の治療に有用であってもよい。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、固形腫瘍のがんの治療に有用であってもよい。例えば、本明細書で提供される抗体は、結腸直腸がんの治療に有用であってもよい。

【0333】

5.1 CDR-H3配列

[00264] 一部の実施形態では、抗体は、本明細書で提供される例示的な抗体またはV<sub>H</sub>配列のCDR-H3配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-H3配

50



では、抗体は、配列番号 274 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 275 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 276 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 277 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 278 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 279 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 280 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 281 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 282 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 283 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 284 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 285 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 286 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 287 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 288 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 289 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 290 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 291 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 292 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 293 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 294 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 295 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 296 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 297 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 298 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - H3 配列を含む。

【0335】

[00266] 一部の態様では、CDR-H3 配列は、本開示で提供される例示的な CDR - H3 配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR - H3 配列は、本開示で提供される例示的な CDR - H3 配列のいずれかと少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、または 95% 同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR - H3 配列は、1、2、または 3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的な CDR - H3 配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

【0336】

#### 5.2 例示的な CDR を含む V<sub>H</sub> 配列

[00267] 一部の実施形態では、抗体は、本開示で提供される 1つまたは複数の例示的な CDR - H 配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる 1つまたは複数の CDR - H 配列を含む V<sub>H</sub> 配列、およびその変異体を含む。一部の実施形態では、CDR - H 配列は、配列番号 308 ~ 366 から選択される V<sub>H</sub> 配列に提供されている 1つまたは複数の CDR - H 配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。

【0337】

5.2.1. 例示的な Kabat CDRを含む V<sub>H</sub> 配列

[00268] 一部の実施形態では、抗体は、本開示で提供される 1 つまたは複数の例示的な Kabat CDR - H 配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる 1 つまたは複数の Kabat CDR - H 配列を含む V<sub>H</sub> 配列、およびその変異体を含む。

【0338】

## 5.2.1.1. Kabat CDR - H3

[00269] 一部の実施形態では、抗体は、CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含み、CDR - H3 配列は、本明細書に提供される例示的な抗体または V<sub>H</sub> 配列の Kabat CDR - H3 配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、Kabat CDR - H3 配列は、配列番号 308 ~ 366 に提供されている V<sub>H</sub> 配列の Kabat CDR - H3 配列である。

10

【0339】

[00270] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号 240 ~ 298 から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 240 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 241 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 242 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 243 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 244 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 245 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 246 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 247 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 248 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 249 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 250 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 251 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 252 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 253 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 254 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 255 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 256 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 257 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 258 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 259 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 260 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR - H3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 261 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat C

20

30

40

50













配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号106を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号107を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号108を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号109を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号110を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号111を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号112を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号113を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号114を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号115を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号116を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号117を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号118を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号119を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号120を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号121を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。

10

20

## 【0344】

5.2.1.4. K a b a t C D R - H 3 + K a b a t C D R - H 2

[00275] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号240～298から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 3配列、および配列番号181～239から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 2配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、K a b a t C D R - H 3配列およびK a b a t C D R - H 2配列は両方とも、本開示で提供される単一の例示的なV<sub>H</sub>配列に由来する。例えば、一部の態様では、K a b a t C D R - H 3およびK a b a t C D R - H 2は両方とも、配列番号308～366から選択される単一の例示的なV<sub>H</sub>配列に由来する。

30

## 【0345】

5.2.1.5. K a b a t C D R - H 3 + K a b a t C D R - H 1

[00276] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号240～298から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 3配列、および配列番号63～121から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるK a b a t C D R - H 1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、K a b a t C D R - H 3配列およびK a b a t C D R - H 1配列は両方とも、本開示で提供される単一の例示的なV<sub>H</sub>配列に由来する。例えば、一部の態様では、K a b a t C D R - H 3およびK a b a t C D R - H 1は両方とも、配列番号308～366から選択される単一の例示的なV<sub>H</sub>配列に由来する。

40

## 【0346】

5.2.1.6. K a b a t C D R - H 1 + K a b a t C D R - H 2

[00277] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号63～121から選択される配列を含

50

むか、からなるか、または本質的にかからなる K a b a t C D R - H 1 配列、および配列番号 1 8 1 ~ 2 3 9 から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にかからなる K a b a t C D R - H 2 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、K a b a t C D R - H 1 配列および K a b a t C D R - H 2 配列は両方とも、本開示で提供される単一の例示的な V<sub>H</sub> 配列に由来する。例えば、一部の態様では、K a b a t C D R - H 1 および K a b a t C D R - H 2 は両方とも、配列番号 3 0 8 ~ 3 6 6 から選択される単一の例示的な V<sub>H</sub> 配列に由来する。

【 0 3 4 7 】

5 . 2 . 1 . 7 . K a b a t C D R - H 1 + K a b a t C D R - H 2 + K a b a t C D R - H 3

10

[00278] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号 6 3 ~ 1 2 1 から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にかからなる K a b a t C D R - H 1 配列、配列番号 1 8 1 ~ 2 3 9 から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にかからなる K a b a t C D R - H 2 配列、および配列番号 2 4 0 ~ 2 9 8 から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にかからなる K a b a t C D R - H 3 配列を含む V<sub>H</sub> 配列を含む。一部の態様では、K a b a t C D R - H 1 配列、K a b a t C D R - H 2 配列、および K a b a t C D R - H 3 配列はすべて、本開示で提供される単一の例示的な V<sub>H</sub> 配列に由来する。例えば、一部の態様では、K a b a t C D R - H 1、K a b a t C D R - H 2、および K a b a t C D R - H 3 はすべて、配列番号 3 0 8 ~ 3 6 6 から選択される単一の例示的な V<sub>H</sub> 配列に由来する。

20

【 0 3 4 8 】

5 . 2 . 1 . 8 . 例示的な K a b a t C D R を含む V<sub>H</sub> 配列の変異体

[00279] 一部の実施形態では、本明細書で提供される V<sub>H</sub> 配列は、本開示で提供される例示的な K a b a t C D R - H 3 配列、C D R - H 2 配列、および / または C D R - H 1 配列の変異体を含む。

【 0 3 4 9 】

[00280] 一部の態様では、K a b a t C D R - H 3 配列は、本開示で提供される例示的な K a b a t C D R - H 3 配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にかからなる。一部の態様では、K a b a t C D R - H 3 配列は、本開示で提供される例示的な K a b a t C D R - H 3 配列のいずれかと少なくとも 7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、または 9 5 % 同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にかからなる。一部の態様では、K a b a t C D R - H 3 配列は、1、2、または 3 つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的な K a b a t C D R - H 3 配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にかからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保守的アミノ酸置換である。

30

【 0 3 5 0 】

[00281] 一部の態様では、K a b a t C D R - H 2 配列は、本開示で提供される例示的な K a b a t C D R - H 2 配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にかからなる。一部の態様では、K a b a t C D R - H 2 配列は、本開示で提供される例示的な K a b a t C D R - H 2 配列のいずれかと少なくとも 7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、または 9 5 % 同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にかからなる。一部の態様では、K a b a t C D R - H 2 配列は、1、2、または 3 つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的な K a b a t C D R - H 2 配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にかからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保守的アミノ酸置換である。

40

【 0 3 5 1 】

[00282] 一部の態様では、K a b a t C D R - H 1 配列は、本開示で提供される例示的な K a b a t C D R - H 1 配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にかからなる。一部の態様では、K a b a t C D R - H 1 配列は、本開示で提供される例示的な K a b a t C D R - H 1 配列のいずれかと少なくとも 7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %

50

、90%、または95%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にか  
らなる。一部の態様では、Kabat CDR-H1配列は、1、2、または3つのアミノ  
酸置換を有する、本開示で提供される例示的なKabat CDR-H1配列のいずれか  
を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保  
存的アミノ酸置換である。

【0352】

5.2.2. 例示的なChothia CDRを含むV<sub>H</sub>配列

[00283] 一部の実施形態では、抗体は、本開示で提供される1つまたは複数の例示的な  
Chothia CDR-H配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる1つま  
たは複数のChothia CDR-H配列を含むV<sub>H</sub>配列、およびその変異体を含む。

10

【0353】

5.2.2.1. Chothia CDR-H3

[00284] 一部の実施形態では、抗体は、CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含み、CD  
R-H3配列は、本明細書で提供される例示的な抗体またはV<sub>H</sub>配列のChothia  
CDR-H3配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、C  
h o t h i a C D R - H 3 配列は、配列番号308~366に提供されているV<sub>H</sub>配列  
のChothia CDR-H3配列である。

【0354】

[00285] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号240~298から選択される配列を  
含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含む  
V<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号240を含むか、からなるか、また  
は本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態  
様では、抗体は、配列番号241を含むか、からなるか、または本質的にからなるC h o  
t h i a C D R - H 3 配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号  
242を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配  
列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号243を含むか、からなる  
か、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。  
一部の態様では、抗体は、配列番号244を含むか、からなるか、または本質的にからな  
るChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、  
配列番号245を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR  
- H 3 配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号246を含むか、  
からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列  
を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号247を含むか、からなるか、または本質的  
にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、  
抗体は、配列番号248を含むか、からなるか、または本質的にからなるCh o t h i a  
C D R - H 3 配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号249を  
含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含む  
V<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号250を含むか、からなるか、また  
は本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態  
様では、抗体は、配列番号251を含むか、からなるか、または本質的にからなるC h o  
t h i a C D R - H 3 配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号  
252を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配  
列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号253を含むか、からなる  
か、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。  
一部の態様では、抗体は、配列番号254を含むか、からなるか、または本質的にからな  
るChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、  
配列番号255を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR  
- H 3 配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号256を含むか、  
からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列  
を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号257を含むか、からなるか、または本質的

20

30

40

50



を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号287を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号288を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号289を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号290を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号291を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号292を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号293を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号294を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号295を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号296を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号297を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号298を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。

10

20

【0355】

5.2.2.2. Chothia CDR-H2

[00286] 一部の実施形態では、抗体は、CDR-H2配列を含むV<sub>H</sub>配列を含み、CDR-H2配列は、本明細書で提供される例示的な抗体またはV<sub>H</sub>配列のChothia CDR-H2配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、Chothia CDR-H2配列は、配列番号308~366に提供されているV<sub>H</sub>配列のChothia CDR-H2配列である。

【0356】

[00287] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号122~180から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H2配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号122を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H2配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号123を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H2配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号124を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H2配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号125を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H2配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号126を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H2配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号127を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H2配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号128を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H2配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号129を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H2配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号130を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H2配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号131を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H2配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号132を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H2配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態

30

40

50











ら選択される単一の例示的なV<sub>H</sub>配列に由来する。

【0360】

5.2.2.5. ChothiaCDR-H3+ChothiaCDR-H1

[00291] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号240~298から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothiaCDR-H3配列、および配列番号4~62から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothiaCDR-H1配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、ChothiaCDR-H3配列およびChothiaCDR-H1配列は両方とも、本開示で提供される単一の例示的なV<sub>H</sub>配列に由来する。例えば、一部の態様では、ChothiaCDR-H3およびChothiaCDR-H1は両方とも、配列番号308~366から選択される単一の例示的なV<sub>H</sub>配列に由来する。

10

【0361】

5.2.2.6. ChothiaCDR-H1+ChothiaCDR-H2

[00292] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号4~62から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothiaCDR-H1配列、および配列番号122~180から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothiaCDR-H2配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、ChothiaCDR-H1配列およびChothiaCDR-H2配列は両方とも、本開示で提供される単一の例示的なV<sub>H</sub>配列に由来する。例えば、一部の態様では、ChothiaCDR-H1およびChothiaCDR-H2は両方とも、配列番号308~366から選択される単一の例示的なV<sub>H</sub>配列に由来する。

20

【0362】

5.2.2.7. ChothiaCDR-H1+ChothiaCDR-H2+ChothiaCDR-H3

[00293] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号4~62から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothiaCDR-H1配列、配列番号122~180から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothiaCDR-H2配列、および配列番号240~298から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothiaCDR-H3配列を含むV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、ChothiaCDR-H1配列、ChothiaCDR-H2配列、およびChothiaCDR-H3配列はすべて、本開示で提供される単一の例示的なV<sub>H</sub>配列に由来する。例えば、一部の態様では、ChothiaCDR-H1、ChothiaCDR-H2、およびChothiaCDR-H3はすべて、配列番号308~366から選択される単一の例示的なV<sub>H</sub>配列に由来する。

30

【0363】

5.2.2.8. 例示的なChothiaCDRを含むV<sub>H</sub>配列の変異体

[00294] 一部の実施形態では、本明細書で提供されるV<sub>H</sub>配列は、本開示で提供される例示的なChothiaCDR-H3配列、CDR-H2配列、および/またはCDR-H1配列の変異体を含む。

【0364】

[00295] 一部の態様では、ChothiaCDR-H3配列は、本開示で提供される例示的なChothiaCDR-H3配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、ChothiaCDR-H3配列は、本開示で提供される例示的なChothiaCDR-H3配列のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、または95%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、ChothiaCDR-H3配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なChothiaCDR-H3配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

40

【0365】

50

[00296] 一部の態様では、C h o t h i a C D R - H 2 配列は、本開示で提供される例示的なC h o t h i a C D R - H 2 配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、C h o t h i a C D R - H 2 配列は、本開示で提供される例示的なC h o t h i a C D R - H 2 配列のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、または95%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、C h o t h i a C D R - H 2 配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なC h o t h i a C D R - H 2 配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

【0366】

10

[00297] 一部の態様では、C h o t h i a C D R - H 1 配列は、本開示で提供される例示的なC h o t h i a C D R - H 1 配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、C h o t h i a C D R - H 1 配列は、本開示で提供される例示的なC h o t h i a C D R - H 1 配列のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、または95%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、C h o t h i a C D R - H 1 配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なC h o t h i a C D R - H 1 配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

【0367】

20

#### 5.3. V<sub>H</sub> 配列

[00298] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号308~366に提供されているV<sub>H</sub>配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。

【0368】

[00299] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号308~366から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号308を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号309を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号310を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号311を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号312を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号313を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号314を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号315を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号316を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号317を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号318を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号319を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号320を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号321を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号322を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号323を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号324を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号325を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号326を含むか、からなるか、または本質的にからなるV<sub>H</sub>配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号327を含むか、からなるか、または本質的にからなる

30

40

50



[00300] 一部の実施形態では、本明細書で提供されるV<sub>H</sub>配列は、本開示で提供される例示的なV<sub>H</sub>配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。

【0370】

[00301] 一部の態様では、V<sub>H</sub>配列は、本開示で提供される例示的なV<sub>H</sub>配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、V<sub>H</sub>配列は、本開示で提供される例示的なV<sub>H</sub>配列のいずれかと少なくとも85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または99.5%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。

【0371】

[00302] 一部の実施形態では、V<sub>H</sub>配列は、20個もしくはそれよりも少数の、19個もしくはそれよりも少数の、18個もしくはそれよりも少数の、17個もしくはそれよりも少数の、16個もしくはそれよりも少数の、15個もしくはそれよりも少数の、14個もしくはそれよりも少数の、13個もしくはそれよりも少数の、12個もしくはそれよりも少数の、11個もしくはそれよりも少数の、10個もしくはそれよりも少数の、9個もしくはそれよりも少数の、8個もしくはそれよりも少数の、7個もしくはそれよりも少数の、6個もしくはそれよりも少数の、5個もしくはそれよりも少数の、4個もしくはそれよりも少数の、3個もしくはそれよりも少数の、2個もしくはそれよりも少数の、または1個もしくはそれよりも少数のアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なV<sub>H</sub>配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

10

20

【0372】

#### 5.4. CDR-L3配列

[00303] 一部の実施形態では、抗体は、本明細書で提供される例示的な抗体またはV<sub>L</sub>配列のCDR-L3配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L3配列を含む。一部の態様では、CDR-L3配列は、配列番号367~369に提供されているV<sub>L</sub>配列のCDR-L3配列である。

【0373】

[00304] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号305~307から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L3配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号305を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L3配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号306を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L3配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号307を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L3配列を含む。

30

【0374】

[00305] 一部の態様では、CDR-L3配列は、本開示で提供される例示的なCDR-L3配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-L3配列は、本開示で提供される例示的なCDR-L3配列のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、または95%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-L3配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なCDR-L3配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

40

【0375】

#### 5.5. 例示的なCDRを含むV<sub>L</sub>配列

[00306] 一部の実施形態では、抗体は、本開示で提供される1つまたは複数の例示的なCDR-L配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる1つまたは複数のCDR-L配列を含むV<sub>L</sub>配列、およびその変異体を含む。

【0376】

#### 5.5.1. CDR-L3

[00307] 一部の実施形態では、抗体は、CDR-L3配列を含むV<sub>L</sub>配列を含み、CD

50

R - L 3 配列は、本明細書で提供される例示的な抗体または V<sub>L</sub> 配列の CDR - L 3 配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR - L 3 配列は、配列番号 367 ~ 369 に提供されている V<sub>L</sub> 配列の CDR - L 3 配列である。

【0377】

[00308] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号 305 ~ 307 から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - L 3 配列を含む V<sub>L</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 305 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - L 3 配列を含む V<sub>L</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 306 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - L 3 配列を含む V<sub>L</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 307 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - L 3 配列を含む V<sub>L</sub> 配列を含む。

10

【0378】

5.5.2. CDR - L 2

[00309] 一部の実施形態では、抗体は、CDR - L 2 配列を含む V<sub>L</sub> 配列を含み、CDR - L 2 配列は、本明細書で提供される例示的な抗体または V<sub>L</sub> 配列の CDR - L 2 配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR - L 2 配列は、配列番号 367 ~ 369 に提供されている V<sub>L</sub> 配列の CDR - L 2 配列である。

【0379】

[00310] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号 302 ~ 304 から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - L 2 配列を含む V<sub>L</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 302 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - L 2 配列を含む V<sub>L</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 303 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - L 2 配列を含む V<sub>L</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 304 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - L 2 配列を含む V<sub>L</sub> 配列を含む。

20

【0380】

5.5.3. CDR - L 1

[00311] 一部の実施形態では、抗体は、CDR - L 1 配列を含む V<sub>L</sub> 配列を含み、CDR - L 1 配列は、本明細書で提供される例示的な抗体または V<sub>L</sub> 配列の CDR - L 1 配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR - L 1 配列は、配列番号 367 ~ 369 に提供されている V<sub>L</sub> 配列の CDR - L 1 配列である。

30

【0381】

[00312] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号 299 ~ 301 から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - L 1 配列を含む V<sub>L</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 299 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - L 1 配列を含む V<sub>L</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 300 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - L 1 配列を含む V<sub>L</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 301 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - L 1 配列を含む V<sub>L</sub> 配列を含む。

40

【0382】

5.5.4. CDR - L 3 + CDR - L 2

[00313] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号 305 ~ 307 から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - L 3 配列、および配列番号 302 ~ 304 から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR - L 2 配列を含む V<sub>L</sub> 配列を含む。一部の態様では、CDR - L 3 配列および CDR - L 2 配列は両方とも、本開示で提供される単一の例示的な V<sub>L</sub> 配列に由来する。例えば、一部の態様では、CDR - L 3 および CDR - L 2 は両方とも、配列番号 367 ~ 369 から選択される単一の例示的な V<sub>L</sub> 配列に由来する。

【0383】

5.5.5. CDR - L 3 + CDR - L 1

50



[00314] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号305～307から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L3配列、および配列番号299～301から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L1配列を含むV<sub>L</sub>配列を含む。一部の態様では、CDR-L3配列およびCDR-L1配列は両方とも、本開示で提供される単一の例示的なV<sub>L</sub>配列に由来する。例えば、一部の態様では、CDR-L3およびCDR-L1は両方とも、配列番号367～369から選択される単一の例示的なV<sub>L</sub>配列に由来する。

【0384】

5.5.6. CDR-L1 + CDR-L2

[00315] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号299～301から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L1配列、および配列番号302～304から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L2配列を含むV<sub>L</sub>配列を含む。一部の態様では、CDR-L1配列およびCDR-L2配列は両方とも、本開示で提供される単一の例示的なV<sub>L</sub>配列に由来する。例えば、一部の態様では、CDR-L1およびCDR-L2は両方とも、配列番号367～369から選択される単一の例示的なV<sub>L</sub>配列に由来する。

10

【0385】

5.5.7. CDR-L1 + CDR-L2 + CDR-L3

[00316] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号299～301から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L1配列、配列番号302～304から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L2配列、および配列番号305～307から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L3配列を含むV<sub>L</sub>配列を含む。一部の態様では、CDR-L1配列、CDR-L2配列、およびCDR-L3配列はすべて、本開示で提供される単一の例示的なV<sub>L</sub>配列に由来する。例えば、一部の態様では、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3はすべて、配列番号367～369から選択される単一の例示的なV<sub>L</sub>配列に由来する。

20

【0386】

5.5.8. 例示的なCDR-Lを含むV<sub>L</sub>配列の変異体

[00317] 一部の実施形態では、本明細書で提供されるV<sub>L</sub>配列は、本開示で提供される例示的なCDR-L3配列、CDR-L2配列、および/またはCDR-L1配列の変異体を含む。

30

【0387】

[00318] 一部の態様では、CDR-L3配列は、本開示で提供される例示的なCDR-L3配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-L3配列は、本開示で提供される例示的なCDR-L3配列のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、または95%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-L3配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なCDR-L3配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

40

【0388】

[00319] 一部の態様では、CDR-L2配列は、本開示で提供される例示的なCDR-L2配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-L2配列は、本開示で提供される例示的なCDR-L2配列のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、または95%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-L2配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なCDR-L2配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

50

## 【 0 3 8 9 】

[00320] 一部の態様では、CDR - L 1 配列は、本開示で提供される例示的な CDR - L 1 配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR - L 1 配列は、本開示で提供される例示的な CDR - L 1 配列のいずれかと少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、または 95% 同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR - L 1 配列は、1、2、または 3 つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的な CDR - L 1 配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

## 【 0 3 9 0 】

5.6. V<sub>L</sub> 配列

[00321] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号 367 ~ 369 に提供されている V<sub>L</sub> 配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。

## 【 0 3 9 1 】

[00322] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号 367 ~ 369 から選択される配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる V<sub>L</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 367 を含むか、からなるか、または本質的にからなる V<sub>L</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 368 を含むか、からなるか、または本質的にからなる V<sub>L</sub> 配列を含む。一部の態様では、抗体は、配列番号 369 を含むか、からなるか、または本質的にからなる V<sub>L</sub> 配列を含む。

## 【 0 3 9 2 】

5.6.1. V<sub>L</sub> 配列の変異体

[00323] 一部の実施形態では、本明細書で提供される V<sub>L</sub> 配列は、本開示で提供される例示的な V<sub>L</sub> 配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。

## 【 0 3 9 3 】

[00324] 一部の態様では、V<sub>L</sub> 配列は、本開示で提供される例示的な V<sub>L</sub> 配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、V<sub>L</sub> 配列は、本開示で提供される例示的な V<sub>L</sub> 配列のいずれかと少なくとも 85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または 99.5% 同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。

## 【 0 3 9 4 】

[00325] 一部の実施形態では、V<sub>L</sub> 配列は、20 個もしくはそれよりも少数の、19 個もしくはそれよりも少数の、18 個もしくはそれよりも少数の、17 個もしくはそれよりも少数の、16 個もしくはそれよりも少数の、15 個もしくはそれよりも少数の、14 個もしくはそれよりも少数の、13 個もしくはそれよりも少数の、12 個もしくはそれよりも少数の、11 個もしくはそれよりも少数の、10 個もしくはそれよりも少数の、9 個もしくはそれよりも少数の、8 個もしくはそれよりも少数の、7 個もしくはそれよりも少数の、6 個もしくはそれよりも少数の、5 個もしくはそれよりも少数の、4 個もしくはそれよりも少数の、3 個もしくはそれよりも少数の、2 個もしくはそれよりも少数の、または 1 個もしくはそれよりも少数のアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的な V<sub>L</sub> 配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

## 【 0 3 9 5 】

5.7. 対

5.7.1. CDR - H 3 - CDR - L 3 対

[00326] 一部の実施形態では、抗体は、CDR - H 3 配列および CDR - L 3 配列を含む。一部の態様では、CDR - H 3 配列は V<sub>H</sub> の一部であり、CDR - L 3 配列は V<sub>L</sub> の一部である。

## 【 0 3 9 6 】

[00327] 一部の態様では、CDR - H 3 配列は、配列番号 240 ~ 298 を含むか、か

10

20

30

40

50



号 3 0 6 および配列番号 2 7 6 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 7 7 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 7 8 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 7 9 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 8 0 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 8 1 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 8 2 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 8 3 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 8 4 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 8 5 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 8 6 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 8 7 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 8 8 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 8 9 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 9 0 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 9 1 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 9 2 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 9 3 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 9 4 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 9 5 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 9 6 ; 配列番号 3 0 6 および配列番号 2 9 7 ; および配列番号 3 0 6 および配列番号 2 9 8 から選択される。

【 0 3 9 9 】

[00330] 一部の態様では、CDR - H 3 - CDR - L 3 対は、配列番号 3 0 7 および配列番号 2 4 0 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 4 1 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 4 2 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 4 3 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 4 4 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 4 5 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 4 6 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 4 7 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 4 8 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 4 9 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 5 0 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 5 1 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 5 2 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 5 3 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 5 4 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 5 5 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 5 6 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 5 7 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 5 8 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 5 9 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 6 0 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 6 1 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 6 2 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 6 3 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 6 4 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 6 5 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 6 6 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 6 7 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 6 8 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 6 9 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 7 0 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 7 1 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 7 2 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 7 3 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 7 4 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 7 5 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 7 6 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 7 7 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 7 8 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 7 9 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 8 0 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 8 1 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 8 2 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 8 3 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 8 4 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 8 5 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 8 6 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 8 7 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 8 8 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 8 9 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 9 0 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 9 1 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 9 2 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 9 3 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 9 4 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 9 5 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 9 6 ; 配列番号 3 0 7 および配列番号 2 9 7 ; および配列番号 3 0 7 および配列番号 2 9 8 から選択される。

【 0 4 0 0 】

5 . 7 . 1 . 1 . CDR - H 3 - CDR - L 3 対の変異体

[00331] 一部の実施形態では、本明細書で提供される CDR - H 3 - CDR - L 3 対は、本開示で提供される例示的な CDR - H 3 配列および / または CDR - L 1 配列の変異体を含む。

【 0 4 0 1 】

[00332] 一部の態様では、CDR - H 3 配列は、本開示で提供される例示的な CDR - H 3 配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR - H 3 配列は、本開示で提供される例示的な CDR - H 3 配列のいずれかと少なくとも 7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、または 9 5 % 同一性を有する配列を含むか

10

20

30

40

50

、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR - H3配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なCDR - H3配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

【0402】

[00333] 一部の態様では、CDR - L3配列は、本開示で提供される例示的なCDR - L3配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR - L3配列は、本開示で提供される例示的なCDR - L3配列のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、または95%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR - L3配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なCDR - L3配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

10

【0403】

5.7.2. CDR - H1 - CDR - L1対

[00334] 一部の実施形態では、抗体は、CDR - H1配列およびCDR - L1配列を含む。一部の態様では、CDR - H1配列はV<sub>H</sub>の一部であり、CDR - L1配列はV<sub>L</sub>の一部である。

【0404】

[00335] 一部の態様では、CDR - H1配列は、配列番号4 ~ 62を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR - H1配列であり、CDR - L1配列は、配列番号299 ~ 301を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR - L1配列である。

20

【0405】

[00336] 一部の態様では、CDR - H1配列は、配列番号63 ~ 121を含むか、からなるか、または本質的にからなるKabata CDR - H1配列であり、CDR - L1配列は、配列番号299 ~ 301を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR - L1配列である。

【0406】

5.7.2.1. CDR - H1 - CDR - L1対の変異体

[00337] 一部の実施形態では、本明細書で提供されるCDR - H1 - CDR - L1対は、本開示で提供される例示的なCDR - H1配列および/またはCDR - L1配列の変異体を含む。

30

【0407】

[00338] 一部の態様では、CDR - H1配列は、本開示で提供される例示的なCDR - H1配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR - H1配列は、本開示で提供される例示的なCDR - H1配列のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、または95%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR - H1配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なCDR - H1配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

40

【0408】

[00339] 一部の態様では、CDR - L1配列は、本開示で提供される例示的なCDR - L1配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR - L1配列は、本開示で提供される例示的なCDR - L1配列のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、または95%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR - L1配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なCDR - L1配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置

50

換は、保存的アミノ酸置換である。

【0409】

5.7.3. CDR-H2 - CDR-L2 対

[00340] 一部の実施形態では、抗体は、CDR-H2 配列および CDR-L2 配列を含む。一部の態様では、CDR-H2 配列は  $V_H$  の一部であり、CDR-L2 配列は  $V_L$  の一部である。

【0410】

[00341] 一部の態様では、CDR-H2 配列は、配列番号 122 ~ 180 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Chothia CDR-H2 配列であり、CDR-L2 配列は、配列番号 302 ~ 304 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR-L2 配列である。

10

【0411】

[00342] 一部の態様では、CDR-H1 配列は、配列番号 181 ~ 239 を含むか、からなるか、または本質的にからなる Kabat CDR-H2 配列であり、CDR-L2 配列は、配列番号 302 ~ 304 を含むか、からなるか、または本質的にからなる CDR-L2 配列である。

【0412】

5.7.3.1. CDR-H2 - CDR-L2 対の変異体

[00343] 一部の実施形態では、本明細書で提供される CDR-H2 - CDR-L2 対は、本開示で提供される例示的な CDR-H2 配列および / または CDR-L2 配列の変異体を含む。

20

【0413】

[00344] 一部の態様では、CDR-H2 配列は、本開示で提供される例示的な CDR-H2 配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-H2 配列は、本開示で提供される例示的な CDR-H2 配列のいずれかと少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、または 95% 同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-H2 配列は、1、2、または 3 つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的な CDR-H2 配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

30

【0414】

[00345] 一部の態様では、CDR-L2 配列は、本開示で提供される例示的な CDR-L2 配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-L2 配列は、本開示で提供される例示的な CDR-L2 配列のいずれかと少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、または 95% 同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-L2 配列は、1、2、または 3 つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的な CDR-L2 配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

40

【0415】

5.7.4.  $V_H$  -  $V_L$  対

[00346] 一部の実施形態では、抗体は、 $V_H$  配列および  $V_L$  配列を含む。

【0416】

[00347] 一部の態様では、 $V_H$  配列は、配列番号 308 ~ 366 を含むか、からなるか、または本質的にからなる  $V_H$  配列であり、 $V_L$  配列は、配列番号 367 ~ 369 を含むか、からなるか、または本質的にからなる  $V_L$  配列である。

【0417】

[00348] 一部の態様では、 $V_H$  -  $V_L$  対は、配列番号 367 および配列番号 308 ; 配列番号 367 および配列番号 309 ; 配列番号 367 および配列番号 310 ; 配列番号 367 および配列番号 311 ; 配列番号 367 および配列番号 312 ; 配列番号 367 およ

50



号 3 6 8 および配列番号 3 6 0 ; 配列番号 3 6 8 および配列番号 3 6 1 ; 配列番号 3 6 8 および配列番号 3 6 2 ; 配列番号 3 6 8 および配列番号 3 6 3 ; 配列番号 3 6 8 および配列番号 3 6 4 ; 配列番号 3 6 8 および配列番号 3 6 5 ; および配列番号 3 6 8 および配列番号 3 6 6 から選択される。

【 0 4 1 9 】

[00350] 一部の態様では、 $V_H - V_L$  対は、配列番号 3 6 9 および配列番号 3 0 8 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 0 9 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 1 0 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 1 1 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 1 2 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 1 3 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 1 4 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 1 5 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 1 6 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 1 7 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 1 8 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 1 9 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 2 0 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 2 1 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 2 2 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 2 3 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 2 4 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 2 5 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 2 6 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 2 7 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 2 8 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 2 9 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 3 0 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 3 1 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 3 2 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 3 3 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 3 4 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 3 5 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 3 6 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 3 7 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 3 8 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 3 9 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 4 0 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 4 1 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 4 2 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 4 3 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 4 4 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 4 5 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 4 6 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 4 7 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 4 8 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 4 9 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 5 0 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 5 1 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 5 2 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 5 3 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 5 4 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 5 5 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 5 6 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 5 7 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 5 8 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 5 9 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 6 0 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 6 1 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 6 2 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 6 3 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 6 4 ; 配列番号 3 6 9 および配列番号 3 6 5 ; および配列番号 3 6 9 および配列番号 3 6 6 から選択される。

【 0 4 2 0 】

5 . 7 . 4 . 1 .  $V_H - V_L$  対の変異体

[00351] 一部の実施形態では、本明細書で提供される  $V_H - V_L$  対は、本開示で提供される例示的な  $V_H$  配列および / または  $V_L$  配列の変異体を含む。

【 0 4 2 1 】

[00352] 一部の態様では、 $V_H$  配列は、本開示で提供される例示的な  $V_H$  配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、 $V_H$  配列は、本開示で提供される例示的な  $V_H$  配列のいずれかと少なくとも 8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 9 9 . 1 % 同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。

【 0 4 2 2 】

[00353] 一部の実施形態では、 $V_H$  配列は、2 0 個もしくはそれよりも少数の、1 9 個もしくはそれよりも少数の、1 8 個もしくはそれよりも少数の、1 7 個もしくはそれよりも少数の、1 6 個もしくはそれよりも少数の、1 5 個もしくはそれよりも少数の、1 4 個もしくはそれよりも少数の、1 3 個もしくはそれよりも少数の、1 2 個もしくはそれよりも少数の、1 1 個もしくはそれよりも少数の、1 0 個もしくはそれよりも少数の、9 個もしくはそれよりも少数の、8 個もしくはそれよりも少数の、7 個もしくはそれよりも少数



の、6個もしくはそれよりも少数の、5個もしくはそれよりも少数の、4個もしくはそれよりも少数の、3個もしくはそれよりも少数の、2個もしくはそれよりも少数の、または1個もしくはそれよりも少数のアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なV<sub>H</sub>配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

【0423】

[00354] 一部の態様では、V<sub>L</sub>配列は、本開示で提供される例示的なV<sub>L</sub>配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、V<sub>L</sub>配列は、本開示で提供される例示的なV<sub>L</sub>配列のいずれかと少なくとも85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または99.5%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。

10

【0424】

[00355] 一部の実施形態では、V<sub>L</sub>配列は、20個もしくはそれよりも少数の、19個もしくはそれよりも少数の、18個もしくはそれよりも少数の、17個もしくはそれよりも少数の、16個もしくはそれよりも少数の、15個もしくはそれよりも少数の、14個もしくはそれよりも少数の、13個もしくはそれよりも少数の、12個もしくはそれよりも少数の、11個もしくはそれよりも少数の、10個もしくはそれよりも少数の、9個もしくはそれよりも少数の、8個もしくはそれよりも少数の、7個もしくはそれよりも少数の、6個もしくはそれよりも少数の、5個もしくはそれよりも少数の、4個もしくはそれよりも少数の、3個もしくはそれよりも少数の、2個もしくはそれよりも少数の、または1個もしくはそれよりも少数のアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なV<sub>L</sub>配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

20

【0425】

5.8. 6つすべてのCDRを含む抗体

[00356] 一部の実施形態では、抗体は、CDR-H1配列、CDR-H2配列、CDR-H3配列、CDR-L1配列、およびCDR-L3配列を含む。一部の態様では、CDR配列は、V<sub>H</sub>(CDR-Hの場合)またはV<sub>L</sub>(CDR-Lの場合)の一部である。

【0426】

[00357] 一部の態様では、CDR-H1配列は、配列番号4~62を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H1配列であり、CDR-H2配列は、配列番号122~180を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H2配列であり、CDR-H3配列は、配列番号240~298を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-H3配列であり、CDR-L1配列は、配列番号299~301を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L1配列であり、CDR-L2配列は、配列番号302~304を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L2配列であり、CDR-L3配列は、配列番号305~307を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L3配列である。

30

【0427】

[00358] 一部の態様では、CDR-H1配列は、配列番号19を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H1配列であり、CDR-H2配列は、配列番号137を含むか、からなるか、または本質的にからなるChothia CDR-H2配列であり、CDR-H3配列は、配列番号255を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-H3配列であり、CDR-L1配列は、配列番号299~301を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L1配列であり、CDR-L2配列は、配列番号302~304を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L2配列であり、CDR-L3配列は、配列番号305~307を含むか、からなるか、または本質的にからなるCDR-L3配列である。

40

【0428】

[00359] 一部の態様では、CDR-H1配列は、配列番号58を含むか、からなるか、

50

または本質的にかからなる C h o t h i a C D R - H 1 配列であり、C D R - H 2 配列は、配列番号 1 7 6 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C h o t h i a C D R - H 2 配列であり、C D R - H 3 配列は、配列番号 2 9 4 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C D R - H 3 配列であり、C D R - L 1 配列は、配列番号 2 9 9 ~ 3 0 1 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C D R - L 1 配列であり、C D R - L 2 配列は、配列番号 3 0 2 ~ 3 0 4 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C D R - L 2 配列であり、C D R - L 3 配列は、配列番号 3 0 5 ~ 3 0 7 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C D R - L 3 配列である。

【 0 4 2 9 】

[00360] 一部の態様では、C D R - H 1 配列は、配列番号 6 3 ~ 1 2 1 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる K a b a t C D R - H 1 配列であり、C D R - H 2 配列は、配列番号 1 8 1 ~ 2 3 9 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる K a b a t C D R - H 2 配列であり、C D R - H 3 配列は、配列番号 2 4 0 ~ 2 9 8 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C D R - H 3 配列であり、C D R - L 1 配列は、配列番号 2 9 9 ~ 3 0 1 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C D R - L 1 配列であり、C D R - L 2 配列は、配列番号 3 0 2 ~ 3 0 4 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C D R - L 2 配列であり、C D R - L 3 配列は、配列番号 3 0 5 ~ 3 0 7 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C D R - L 3 配列である。

【 0 4 3 0 】

[00361] 一部の態様では、C D R - H 1 配列は、配列番号 7 8 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる K a b a t C D R - H 1 配列であり、C D R - H 2 配列は、配列番号 1 9 6 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる K a b a t C D R - H 2 配列であり、C D R - H 3 配列は、配列番号 2 5 5 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C D R - H 3 配列であり、C D R - L 1 配列は、配列番号 2 9 9 ~ 3 0 1 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C D R - L 1 配列であり、C D R - L 2 配列は、配列番号 3 0 2 ~ 3 0 4 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C D R - L 2 配列であり、C D R - L 3 配列は、配列番号 3 0 5 ~ 3 0 7 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C D R - L 3 配列である。

【 0 4 3 1 】

[00362] 一部の態様では、C D R - H 1 配列は、配列番号 1 1 7 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる K a b a t C D R - H 1 配列であり、C D R - H 2 配列は、配列番号 2 3 5 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる K a b a t C D R - H 2 配列であり、C D R - H 3 配列は、配列番号 2 9 4 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C D R - H 3 配列であり、C D R - L 1 配列は、配列番号 2 9 9 ~ 3 0 1 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C D R - L 1 配列であり、C D R - L 2 配列は、配列番号 3 0 2 ~ 3 0 4 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C D R - L 2 配列であり、C D R - L 3 配列は、配列番号 3 0 5 ~ 3 0 7 を含むか、からなるか、または本質的にかからなる C D R - L 3 配列である。

【 0 4 3 2 】

5 . 8 . 1 . 6 つすべての C D R を含む抗体の変異体  
 [00363] 一部の実施形態では、本明細書で提供される C D R - H 1、C D R - H 2、C D R - H 3、C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R - L 3 は、本開示で提供される例示的な C D R - H 1 配列、C D R - H 2 配列、C D R - H 3 配列、C D R - L 1 配列、C D R - L 2 配列、および / または C D R - L 3 配列の変異体を含む。

【 0 4 3 3 】

[00364] 一部の態様では、C D R - H 1 配列は、本開示で提供される例示的な C h o t h i a または K a b a t C D R - H 1 配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にかからなる。一部の態様では、C D R - H 1 配列は、本開示で提供される例示的な C h o t h i a または K a b a t C D R - H 1 配列のいずれかと少なくとも 7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、または 9 5 % 同一性を有する配列を含むか、からなるか、ま

10

20

30

40

50

たは本質的にからなる。一部の態様では、CDR-H1配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なChothiaまたはKabatt CDR-H1配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

【0434】

[00365] 一部の態様では、CDR-H2配列は、本開示で提供される例示的なChothiaまたはKabatt CDR-H2配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-H2配列は、本開示で提供される例示的なChothiaまたはKabatt CDR-H2配列のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、または95%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-H2配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なChothiaまたはKabatt CDR-H2配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

10

【0435】

[00366] 一部の態様では、CDR-H3配列は、本開示で提供される例示的なCDR-H3配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-H3配列は、本開示で提供される例示的なCDR-H3配列のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、または95%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-H3配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なCDR-H3配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

20

【0436】

[00367] 一部の態様では、CDR-L1配列は、本開示で提供される例示的なCDR-L1配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-L1配列は、本開示で提供される例示的なCDR-L1配列のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、または95%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-L1配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なCDR-L1配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

30

【0437】

[00368] 一部の態様では、CDR-L2配列は、本開示で提供される例示的なCDR-L2配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-L2配列は、本開示で提供される例示的なCDR-L2配列のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、または95%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-L2配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なCDR-L2配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

40

【0438】

[00369] 一部の態様では、CDR-L3配列は、本開示で提供される例示的なCDR-L3配列の変異体を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-L3配列は、本開示で提供される例示的なCDR-L3配列のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、または95%同一性を有する配列を含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、CDR-L3配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を有する、本開示で提供される例示的なCDR-L3配列のいずれかを含むか、からなるか、または本質的にからなる。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

50

## 【0439】

## 5.9. コンセンサス配列

[00370] 一部の実施形態では、本明細書には、コンセンサス配列により規定される1つまたは複数の配列を含む抗FOLR1抗体が提供される。各コンセンサス配列は、少なくとも部分的には、本開示で提供される2つまたはそれよりも多くの有用な抗FOLR1 CDR配列の1つまたは複数のアラインメントに基づく。そのようなアラインメントに基づく、当業者であれば、CDRのある特定の位置では異なるアミノ酸残基が有用であり得ることを認識するであろう。したがって、各コンセンサス配列は、2つまたはそれよりも多くの有用な抗FOLR1 CDR配列を包含する。

## 【0440】

[00371] 一部の実施形態では、抗体は、本明細書で提供されるコンセンサスCDR配列のうちの1つ~6つを含む。一部の実施形態では、抗体は、本明細書で提供されるコンセンサスCDR配列のうちの2つ~6つを含む。一部の実施形態では、抗体は、本明細書で提供されるコンセンサスCDR配列のうちの3つ~6つを含む。一部の実施形態では、抗体は、本明細書で提供されるコンセンサスCDR配列のうちの4つ~6つを含む。一部の実施形態では、抗体は、本明細書で提供されるコンセンサスCDR配列のうちの5つ~6つを含む。一部の実施形態では、抗体は、本明細書で提供されるコンセンサスCDR配列のうちの6つを含む。一部の実施形態では、抗体は、CDR-Lコンセンサス配列を含むV<sub>L</sub>を含む。一部の実施形態では、抗体は、CDR-Hコンセンサス配列を含むV<sub>H</sub>を含む。一部の実施形態では、抗体は、CDR-Hコンセンサス配列を含むV<sub>H</sub>およびCDR-Lコンセンサス配列を含むV<sub>L</sub>を含む。

10

20

## 【0441】

## 5.9.1. CDR-H3コンセンサス配列

[00372] 一部の実施形態では、抗体は、コンセンサス配列G - <sub>2</sub> - <sub>3</sub> - <sub>4</sub> - W - <sub>6</sub> - <sub>7</sub> - G - <sub>9</sub> - <sub>10</sub> - Y - <sub>12</sub> - <sub>13</sub> - <sub>14</sub> - Yにより規定されるCDR-H3配列を含み、式中、<sub>2</sub>は、G、S、A、F、H、R、T、またはYであり、<sub>3</sub>は、W、L、またはYであり、<sub>4</sub>は、S、A、F、Y、H、またはDであり、<sub>6</sub>は、R、P、Q、またはKであり、<sub>7</sub>は、S、A、またはHであり、<sub>9</sub>は、Y、H、またはMであり、<sub>10</sub>は、G、S、D、またはWであり、<sub>12</sub>は、YまたはFであり、<sub>13</sub>は、L、I、Q、またはMであり、<sub>14</sub>は、DまたはEである。

30

## 【0442】

[00373] 一部の実施形態では、抗体は、コンセンサス配列G - <sub>2</sub> - <sub>3</sub> - <sub>4</sub> - W - <sub>6</sub> - <sub>7</sub> - G - <sub>9</sub> - <sub>10</sub> - Y - <sub>12</sub> - <sub>13</sub> - <sub>14</sub> - Yにより規定されるCDR-H3配列を含み、式中、<sub>2</sub>はGまたはSであり、<sub>3</sub>はWであり、<sub>4</sub>はSまたはHであり、<sub>6</sub>はRまたはPであり、<sub>7</sub>はSであり、<sub>9</sub>はYまたはMであり、<sub>10</sub>は、G、S、またはDであり、<sub>12</sub>はYであり、<sub>13</sub>はLであり、<sub>14</sub>はDである。

## 【0443】

## 5.9.2. Chothia CDR-H1コンセンサス配列

[00374] 一部の実施形態では、抗体は、コンセンサス配列<sub>1</sub> - <sub>2</sub> - <sub>3</sub> - <sub>4</sub> - <sub>5</sub> - <sub>6</sub> - <sub>7</sub>により規定されるChothia CDR-H1配列を含み、式中、<sub>1</sub>はGまたはSであり、<sub>2</sub>はFまたはSであり、<sub>3</sub>はNであり、<sub>4</sub>はIまたはTであり、<sub>5</sub>は、S、R、G、T、N、またはDであり、<sub>6</sub>は、N、K、T、R、H、Y、L、M、Q、またはVであり、<sub>7</sub>は、Y、H、S、N、K、F、またはQである。

40

## 【0444】

[00375] 一部の実施形態では、抗体は、コンセンサス配列<sub>1</sub> - <sub>2</sub> - <sub>3</sub> - <sub>4</sub> - <sub>5</sub> - <sub>6</sub> - <sub>7</sub>により規定されるChothia CDR-H1配列を含み、式中、<sub>1</sub>はGであり、<sub>2</sub>はFであり、<sub>3</sub>はNであり、<sub>4</sub>はIまたはTであり、<sub>5</sub>は、S、R、またはTであり、<sub>6</sub>はNまたはTであり、<sub>7</sub>は、Y、K、またはQである。

## 【0445】

50

## 5.9.3. Chothia CDR-H2 コンセンサス配列

[00376] 一部の実施形態では、抗体は、コンセンサス配列  $1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6$  により規定される Chothia CDR-H2 配列を含み、式中、 $1$  は、Y、T、F、S、または A であり、 $2$  は P であり、 $3$  は、N、I、V、R、Y、F、G、L、Q、または S であり、 $4$  は D または P であり、 $5$  は G または D であり、 $6$  は、Y、I、T、N、F、S、または M である。

【0446】

[00377] 一部の実施形態では、抗体は、コンセンサス配列  $1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6$  により規定される Chothia CDR-H2 配列を含み、式中、 $1$  は Y または F であり、 $2$  は P であり、 $3$  は、N、I、または R であり、 $4$  は D であり、 $5$  は G であり、 $6$  は Y または I である。

10

【0447】

## 5.9.4. Kabat CDR-H1 コンセンサス配列

[00378] 一部の実施形態では、抗体は、コンセンサス配列  $1 - 2 - 3 - 4 - 5$  により規定される Kabat CDR-H1 配列を含み、式中、 $1$  は、N、K、T、R、H、Y、L、M、Q、または V であり、 $2$  は、Y、H、S、N、K、F、または Q であり、 $3$  は S または Y であり、 $4$  は I であり、 $5$  は H である。

【0448】

[00379] 一部の実施形態では、抗体は、コンセンサス配列  $1 - 2 - 3 - 4 - 5$  により規定される Kabat CDR-H1 配列を含み、式中、 $1$  は N または T であり、 $2$  は、Y、K、または Q であり、 $3$  は S であり、 $4$  は I であり、 $5$  は H である。

20

【0449】

## 5.9.5. Kabat CDR-H2 コンセンサス配列

[00380] 一部の実施形態では、抗体は、コンセンサス配列  $1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - D - Y - A - D - 14 - 15 - 16 - G$  により規定される Kabat CDR-H2 配列を含み、式中、 $1$  は、G、E、D、W、S、または V であり、 $2$  は I または V であり、 $3$  は、Y、T、F、S、または A であり、 $4$  は P であり、 $5$  は、N、I、V、R、Y、F、G、L、Q、または S であり、 $6$  は D または P であり、 $7$  は G または D であり、 $8$  は、Y、I、T、N、F、S、または M であり、 $9$  は T または N であり、 $14$  は、S、R、または N であり、 $15$  は V または M であり、 $16$  は K または E である。

30

【0450】

[00381] 一部の実施形態では、抗体は、コンセンサス配列  $1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - D - Y - A - D - 14 - 15 - 16 - G$  により規定される Kabat CDR-H2 配列を含み、式中、 $1$  は、G、E、または D であり、 $2$  は I であり、 $3$  は Y または F であり、 $4$  は P であり、 $5$  は、N、I、または R であり、 $6$  は D であり、 $7$  は G であり、 $8$  は Y または I であり、 $9$  は T であり、 $14$  は S であり、 $15$  は V であり、 $16$  は K である。

40

【0451】

## 6. 生殖系列

[00382] 一部の実施形態では、葉酸受容体アルファと特異的に結合する抗体は、特定の生殖系列遺伝子またはその変異体によりコードされる可変領域を含む抗体である。本明細書で提供される例示的な抗体は、重鎖可変領域生殖系列遺伝子 VH1-18、VH3-33、VH2-5、VH2-70、および VH4-30-4 またはそれらの変異体；ならびに軽鎖可変領域生殖系列遺伝子 V1-5、V3-11、V2-20、V1-33、および V1-16、またはそれらの変異体によりコードされる可変領域を含む。

【0452】

[00383] 当業者であれば、本明細書で提供される CDR 配列は、他の可変領域生殖系列遺伝子またはその変異体によりコードされる可変領域と組み合わせた場合にも有用であり

50

得ることを認識するであろう。特に、本明細書で提供されるCDR配列は、上記に挙げられている可変領域生殖系列遺伝子と構造的に類似する可変領域生殖系列遺伝子またはそれらの変異体によりコードされる可変領域と組み合わせた場合に有用であってもよい。例えば、一部の実施形態では、本明細書で提供されるCDR-H配列は、 $V_H1$ 、 $V_H2$ 、 $V_H3$ 、または $V_H4$ ファミリー、またはそれらの変異体から選択される可変領域生殖系列遺伝子によりコードされる可変領域と組み合わせてもよい。一部の実施形態では、本明細書で提供されるCDR-L配列は、 $V_L1$ 、 $V_L2$ 、または $V_L3$ 、またはそれらの変異体から選択される可変領域生殖系列遺伝子によりコードされる可変領域と組み合わせてもよい。

#### 【0453】

##### 7. 親和性

[00384] 一部の実施形態では、 $K_D$ により示される通り、葉酸受容体アルファに対する抗体の親和性は、約 $10^{-5}$  M未満、約 $10^{-6}$  M未満、約 $10^{-7}$  M未満、約 $10^{-8}$  M未満、約 $10^{-9}$  M未満、約 $10^{-10}$  M未満、約 $10^{-11}$  M未満、または約 $10^{-12}$  M未満である。一部の実施形態では、抗体の親和性は、約 $10^{-7}$  Mから $10^{-11}$  Mの間である。一部の実施形態では、抗体の親和性は、約 $10^{-7}$  Mから $10^{-10}$  Mの間である。抗体の親和性は、約 $10^{-7}$  Mから $10^{-9}$  Mの間である。一部の実施形態では、抗体の親和性は、約 $10^{-7}$  Mから $10^{-8}$  Mの間である。一部の実施形態では、抗体の親和性は、 $10^{-8}$  Mから $10^{-11}$  Mの間である。一部の実施形態では、抗体の親和性は、約 $10^{-8}$  Mから $10^{-10}$  Mの間である。一部の実施形態では、抗体の親和性は、約 $10^{-9}$  Mから $10^{-11}$  Mの間である。一部の実施形態では、抗体の親和性は、約 $10^{-9}$  Mから $10^{-10}$  Mの間である。

#### 【0454】

[00385] 一部の実施形態では、表面プラズモン共鳴法により25で決定され、 $K_D$ により示される、ヒト葉酸受容体アルファに対する抗体の親和性は、約 $0.36 \times 10^{-9}$  M ~ 約 $2.21 \times 10^{-9}$  Mである。一部の実施形態では、表面プラズモン共鳴法により25で決定され、 $K_D$ により示される、ヒト葉酸受容体アルファに対する抗体の親和性は、約 $8.55 \times 10^{-10}$  M ~ 約 $1.70 \times 10^{-8}$  Mである。一部の実施形態では、表面プラズモン共鳴法により25で決定され、 $K_D$ により示される、ヒト葉酸受容体アルファに対する抗体の親和性は、約 $5.71 \times 10^{-10}$  M ~ 約 $2.58 \times 10^{-8}$  Mである。一部の実施形態では、ヒト葉酸受容体アルファに対する抗体の親和性は、下記の例においてヒト葉酸受容体アルファに対して報告されている $K_D$ 値のいずれかの近似値である。

#### 【0455】

[00386] 一部の実施形態では、抗体は、少なくとも約 $10^4 \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$ の $k_a$ を有する。一部の実施形態では、抗体は、少なくとも約 $10^5 \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$ の $k_a$ を有する。一部の実施形態では、抗体は、少なくとも約 $10^6 \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$ の $k_a$ を有する。一部の実施形態では、抗体は、少なくとも約 $10^7 \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$ の $k_a$ を有する。一部の実施形態では、抗体は、少なくとも約 $10^8 \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$ の $k_a$ を有する。一部の実施形態では、抗体は、少なくとも約 $10^9 \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$ の $k_a$ を有する。一部の実施形態では、抗体は、約 $10^4 \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$  ~ 約 $10^{10} \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$ の間の $k_a$ を有する。一部の実施形態では、抗体は、約 $10^5 \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$ から約 $10^{10} \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$ の間の $k_a$ を有する。一部の実施形態では、抗体は、約 $10^6 \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$ から約 $10^{10} \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$ の間の $k_a$ を有する。一部の実施形態では、抗体は、約 $10^7 \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$ から約 $10^{10} \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$ の間の $k_a$ を有する。

#### 【0456】

[00387] 一部の実施形態では、抗体は、ヒト葉酸受容体アルファに付随する場合、表面プラズモン共鳴法により25で決定して、約 $4.44 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$  ~ 約 $1.61 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$ の $k_a$ を有する。一部の実施形態では、抗体は、ヒト葉酸受容体アルファに付随する場合、表面プラズモン共鳴法により25で決定して、約2.9

10

20

30

40

50

$0 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1} \sim \text{約} 9.64 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \times \text{秒}^{-1}$  の  $k_a$  を有する。一部の実施形態では、抗体は、ヒト葉酸受容体アルファに付随する場合、下記の例においてヒト葉酸受容体アルファに対して報告されている  $k_a$  値のいずれかと近似する  $k_a$  を有する。

【0457】

[00388] 一部の実施形態では、抗体は、約  $10^{-5} \text{ 秒}^{-1}$  またはそれよりも低い  $k_d$  を有する。一部の実施形態では、抗体は、約  $10^{-4} \text{ 秒}^{-1}$  またはそれよりも低い  $k_d$  を有する。一部の実施形態では、抗体は、約  $10^{-3} \text{ 秒}^{-1}$  またはそれよりも低い  $k_d$  を有する。一部の実施形態では、抗体は、約  $10^{-2} \text{ 秒}^{-1}$  から約  $10^{-5} \text{ 秒}^{-1}$  の間の  $k_d$  を有する。一部の実施形態では、抗体は、約  $10^{-2} \text{ 秒}^{-1}$  から約  $10^{-4} \text{ 秒}^{-1}$  の間の  $k_d$  を有する。一部の実施形態では、抗体は、約  $10^{-3} \text{ 秒}^{-1}$  から約  $10^{-5} \text{ 秒}^{-1}$  の間の  $k_d$  を有する。

10

【0458】

[00389] 一部の実施形態では、抗体は、ヒト葉酸受容体アルファから解離する場合、表面プラズモン共鳴法により 25 で決定して、約  $8.66 \times 10^{-4} \text{ 秒}^{-1} \sim \text{約} 1.08 \times 10^{-2} \text{ 秒}^{-1}$  の  $k_d$  を有する。一部の実施形態では、抗体は、ヒト葉酸受容体アルファから解離する場合、表面プラズモン共鳴法により 25 で決定して、約  $2.28 \times 10^{-4} \text{ 秒}^{-1} \sim \text{約} 4.82 \times 10^{-1} \text{ 秒}^{-1}$  の  $k_d$  を有する。一部の実施形態では、抗体は、ヒト葉酸受容体アルファから解離する場合、下記の例においてヒト葉酸受容体アルファに対して報告されている  $k_d$  値のいずれかに近似する  $k_d$  を有する。

20

【0459】

[00390] 一部の実施形態では、表面プラズモン共鳴法により 25 で決定され、 $K_D$  により示される、カニクイザル葉酸受容体アルファに対する抗体の親和性は、約  $0.19 \times 10^{-9} \text{ M} \sim \text{約} 2.84 \times 10^{-9} \text{ M}$  である。一部の実施形態では、カニクイザル葉酸受容体アルファに対する抗体の親和性は、下記の例においてカニクイザル葉酸受容体アルファに対して報告されている  $K_D$  値のいずれかの近似値である。

【0460】

[00391] 一部の実施形態では、表面プラズモン共鳴により 25 で決定され、 $K_D$  により示される、マウス葉酸受容体アルファに対する抗体の親和性は、約  $0.5 \times 10^{-9} \text{ M} \sim \text{約} 9.07 \times 10^{-8} \text{ M}$  である。一部の実施形態では、マウス葉酸受容体アルファに対する抗体の親和性は、下記の例においてマウス葉酸受容体アルファに対して報告されている  $K_D$  値のいずれかの近似値である。

30

【0461】

[00392] 一部の態様では、 $K_D$ 、 $k_a$ 、および  $k_d$  は、25 で決定される。一部の実施形態では、 $K_D$ 、 $k_a$ 、および  $k_d$  は、表面プラズモン共鳴法により決定される。一部の実施形態では、 $K_D$ 、 $k_a$ 、および  $k_d$  は、本明細書で提供される実施例に記載の方法に従って決定される。

【0462】

## 8. エピトープピン

[00393] 一部の実施形態では、抗体は、配列番号 308 ~ 366 のいずれかを包含する抗体と同じエピトープに結合する。一部の実施形態では、抗体は、上記の  $V_H - V_L$  対のいずれかを包含する抗体と同じエピトープに結合する。一部の実施形態では、抗体は、配列番号 308 ~ 366 のいずれかを包含する抗体とエピトープ結合を競合する。一部の実施形態では、抗体は、上記の  $V_H - V_L$  対のいずれかを包含する抗体とエピトープ結合を競合する。

40

【0463】

## 9. グリコシル化変異体

[00394] ある特定の実施形態では、抗体は、グリコシル化の程度を増加、減少、または排除するように変更されていてもよい。ポリペプチドのグリコシル化は、典型的には、「N-連結型」または「O-連結型」のいずれかである。

【0464】

50

[00395] 「N - 連結型」グリコシル化は、アスパラギン残基の側鎖に対する炭水化物部分の付着を指す。トリペプチド配列であるアスパラギン - X - セリンおよびアスパラギン - X - スレオニン（式中、Xはプロリン以外の任意のアミノ酸である）は、アスパラギン側鎖に対する炭水化物部分の酵素的付着の認識配列である。したがって、ポリペプチドにこうしたトリペプチド配列のいずれかが存在することにより、潜在的なグリコシル化部位が作出される。

【0465】

[00396] 「O - 連結型」グリコシル化は、糖であるN - アセチルガラクトサミン、ガラクトース、またはキシロースの1つの、ヒドロキシアミノ酸に対する、最も一般的にはセリンまたはスレオニンに対する付着を指すが、5 - ヒドロキシプロリンまたは5 - ヒドロキシリジンも使用することができる。

10

【0466】

[00397] 抗体に対するN - 連結型グリコシル化部位の付加または欠失は、上記に記載のトリペプチド配列の1つまたは複数が作出または除去されるようにアミノ酸配列を変更することにより達成することができる。O - 連結型グリコシル化部位の付加または欠失は、1つまたは複数のセリン残基またはスレオニン残基を、抗体の配列内でまたは配列に対して（該当する場合）付加、欠失、または置換することにより達成することができる。

【0467】

10 . Fc変異体

[00398] ある特定の実施形態では、アミノ酸修飾を、本明細書で提供される抗体のFc領域へと導入して、Fc領域変異体を生成してもよい。ある特定の実施形態では、Fc領域変異体は、すべてではないが一部のエフェクター機能を保有する。そのような抗体は、例えば、*in vivo*での抗体の半減期は重要であるが、ある特定のエフェクター機能が不必要であるかまたは有害である応用において有用であり得る。エフェクター機能の例としては、補体依存性細胞傷害性（CDC）および抗体介在性補体媒介性細胞傷害（antibody-directed complement-mediated cytotoxicity）（ADCC）が挙げられる。エフェクター機能が変更された数多くの置換または置換または欠失は、当技術分野で公知である。

20

【0468】

[00399] 一部の実施形態では、Fcは、C<sub>H</sub>3配列の少なくとも1つに1つまたは複数の修飾を含む。一部の実施形態では、Fcは、C<sub>H</sub>2配列の少なくとも1つに1つまたは複数の修飾を含む。例えば、Fcは、V262E、V262D、V262K、V262R、V262S、V264S、V303R、およびV305Rからなる群から選択される1つまたは変更を含んでもよい。一部の実施形態では、Fcは、単一のポリペプチドである。一部の実施形態では、Fcは、複数のペプチド、例えば、2つのポリペプチドである。Fc領域における代表的な修飾は、例えば、2017年6月14日に出願された国際特許出願PCT/US2017/037545に記載されている。

30

【0469】

[00400] CDC活性および/またはADCC活性の変更は、*in vitro*アッセイおよび/または*in vivo*アッセイを使用して確認することができる。例えば、Fc受容体（FcR）結合アッセイを実施して、FcR結合を測定することができる。ADCを媒介する主要な細胞であるNK細胞は、FcRIIIのみを発現するが、単球は、FcRI、FcRII、およびFcRIIIを発現する。造血細胞上でのFcR発現は、Ravetch and Kinet, *Ann. Rev. Immunol.*, 1991, 9: 457 - 492に要約されている。この文献はその全体が参照により組み込まれる。

40

【0470】

[00401] 目的の分子のADCC活性を評価するための*in vitro*アッセイの非限定的な例としては、米国特許第5,500,362号および第5,821,337号；Hellstrom et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1986, 83: 7059 - 7063；Hellstrom et al., *Pro*

50



c. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 1985, 82: 1499 - 1502 ; ならびに Bruggemann et al., J. Exp. Med., 1987, 166: 1351 - 1361 に提供されている。これらの文献の各々は、その全体が参照により組み込まれる。そのようなアッセイに有用なエフェクター細胞としては、末梢血単核細胞 (PBMC) およびナチュラルキラー (NK) 細胞が挙げられる。その代わりにまたはそれに加えて、目的の分子の ADCC 活性は、Clynes et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 1998, 95: 652 - 656 に開示されているものなどの動物モデルを使用して *in vivo* で評価することができる。この文献はその全体が参照により組み込まれる。

【0471】

10

[00402] また、C1q 結合アッセイを実施して、抗体が C1q に結合することができず、したがって CDC 活性を欠如することを確認してもよい。C1q 結合アッセイの例としては、WO2006/029879 および WO2005/100402 に記載されているものが挙げられる。これらの文献の各々は、その全体が参照により組み込まれる。

【0472】

[00403] 補体活性化アッセイとしては、例えば、Gazzano - Santoro et al., J. Immunol. Methods, 1996, 202: 163 - 171 ; Cragg et al., Blood, 2003, 101: 1045 - 1052 ; および Cragg and Glennie, Blood, 2004, 103: 2738 - 2743 に記載されているものが挙げられる。これらの文献の各々は、その全体が参照により組み込まれる。

20

【0473】

[00404] また、FcRn 結合および *in vivo* クリアランス (半減期決定) は、例えば、Petkova et al., Intl. Immunol., 2006, 18: 1759 - 1769 に記載の方法を使用して測定することができる。この文献はその全体が参照により組み込まれる。

【0474】

#### 11. 修飾アミノ酸

[00405] 抗体コンジュゲートが修飾アミノ酸を含む場合、修飾アミノ酸は、従事者が好適であるとみなす任意の修飾アミノ酸であってもよい。特定の実施形態では、修飾アミノ酸は、リンカー前駆体またはペイロード前駆体と共有結合を形成するのに有用な反応性基を含む。ある特定の実施形態では、修飾アミノ酸は非天然アミノ酸である。ある特定の実施形態では、反応性基は、アミノ、カルボキシ、アセチル、ヒドラジノ、ヒドラジド、セミカルバジド、スルファニル、アジド、およびアルキニルからなる群から選択される。修飾アミノ酸は、例えば、WO2013/185115 および WO2015/006555 にも記載されている。これらの文献の各々は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

30

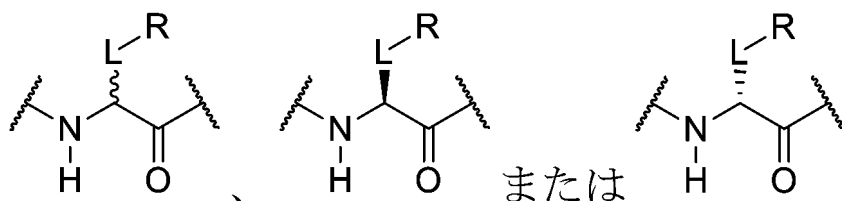
【0475】

[00406] ある特定の実施形態では、アミノ酸残基は、以下の式：

【0476】

40

【化97】



のいずれかによる。

当業者であれば、抗体は、一般に、L-アミノ酸で構成されることを認識するであろう。

50

しかしながら、非天然アミノ酸の場合、本方法および組成物は、部位特異的位置において L -、D -、またはラセミ非天然アミノ酸を使用する能力を従事者に提供する。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の非天然アミノ酸としては、天然アミノ酸の D 型および天然アミノ酸のラセミ型が挙げられる。

【 0 4 7 7 】

[00407] 上記の式では、波線は、抗体のポリペプチド鎖の残りに接続する結合を示す。こうした非天然アミノ酸は、天然アミノ酸が同じポリペプチド鎖に組み込まれる場合と全く同様に、ポリペプチド鎖に組み込むことができる。ある特定の実施形態では、非天然アミノ酸は、式に示されている通り、アミド結合を介してポリペプチド鎖に組み込まれる。

【 0 4 7 8 】

[00408] 上記の式では、R は、そのアミノ酸残基が天然アミノ酸残基と同一でない限り、任意の官能基を示し、限定されない。ある特定の実施形態では、R は、疎水性基、親水性基、極性基、酸性基、塩基性基、キレート基、反応性基、療法部分、または標識部分であってもよい。ある特定の実施形態では、R は、 $R^1NR^2R^3$ 、 $R^1C(=O)R^2$ 、 $R^1C(=O)OR^2$ 、 $R^1N_3$ 、 $R^1C(CH_3)$  からなる群から選択される。こうした実施形態では、 $R^1$  は、結合、アルキレン、ヘテロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレンからなる群から選択される。 $R^2$  および  $R^3$  は、各々独立して、水素、アルキル、およびヘテロアルキルからなる群から選択される。

【 0 4 7 9 】

[00409] 一部の実施形態では、非天然コードアミノ酸は、20種の通常アミノ酸には見出されない官能基（アジド基、ケトン基、アルデヒド基、およびアミノオキシ基を含むがこれらに限定されない）と効率的におよび選択的に反応して、安定なコンジュゲートを形成する側鎖官能基を含む。例えば、アジド官能基を含む非天然コードアミノ酸を含む抗原結合性ポリペプチドを、ポリマー（ポリ（エチレングリコール）を含むがこれに限定されない）と、またはその代わりにアルキン部分を含む第2のポリペプチドと、安定なコンジュゲートを形成するように反応させて、アジド官能基およびアルキン官能基の選択的反応をもたらす、ヒュスゲン [ 3 + 2 ] 環化付加産物を形成することができる。

【 0 4 8 0 】

[00410] 本発明での使用に好適であり得、水溶性ポリマーとの反応に有用である代表的な非天然コードアミノ酸としては、これらに限定されないが、カルボニル、アミノオキシ、ヒドラジン、ヒドラジド、セミカルバジド、アジド、およびアルキン反応性基を有するものが挙げられる。一部の実施形態では、非天然コードアミノ酸は、サッカリド部分を含む。そのようなアミノ酸の例としては、N - アセチル - L - グルコサミニル - L - セリン、N - アセチル - L - ガラクトサミニル - L - セリン、N - アセチル - L - グルコサミニル - L - スレオニン、N - アセチル - L - グルコサミニル - L - アスパラギン、および O - マンノサミニル - L - セリンが挙げられる。そのようなアミノ酸の例としては、アミノ酸とサッカリドとの間の天然に存在する N - 連結または O - 連結が、これらに限定されないが、アルケン、オキシム、チオエーテル、およびアミドなどを含む、天然では通常は見出されない共有結合連結により置き換えられている例も挙げられる。また、そのようなアミノ酸の例としては、2 - デオキシ - グルコースおよび 2 - デオキシガラクトースなど、天然に存在するタンパク質には通常は見出されないサッカリドが挙げられる。

【 0 4 8 1 】

[00411] 本明細書で提供される非天然コードアミノ酸の多くは、例えば、Sigma - Aldrich（セントルイス、米国ミズーリ州）、Novabiochem（EMD Biosciencesの一部門、ダルムシュタット、ドイツ）、またはPeptech（パーリントン、米国マサチューセッツ州）から市販されている。市販されていないものは、任意選択により、本明細書で提供されている通りに、または当業者に公知の標準的な方法を使用して合成される。有機合成技法については、例えば、Fessenden および Fessenden による Organic Chemistry（1982, Second Edition, Willard Grant Press, Boston Mass.）；March による Advanced Organic C

10

20

30

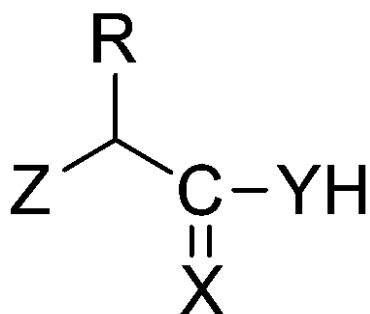
40

50

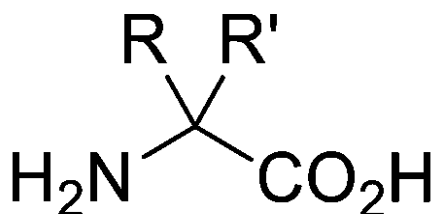
chemistry (Third Edition, 1985, Wiley and Sons, New York) ; ならびに Carey および Sundberg による Advanced Organic Chemistry (Third Edition, Parts A and B, 1990, Plenum Press, New York) を参照。また、米国特許出願公開第 2003/0082575 号および第 2003/0108885 号も参照。これらの文献は参照により組み込まれる。非天然側鎖を含む非天然アミノ酸に加えて、本発明での使用に好適であり得る非天然アミノ酸は、任意選択により、これらに限定されないが、式 I I および I I I の構造：

【0482】

【化98】



10



20

により示されている通りのものを含む修飾骨格構造も含み、式中、Z は、典型的には、OH、NH<sub>2</sub>、SH、NH-R'、または S-R' を含み、X および Y は、同じであってもよくまたは異なってもよく、典型的には S または O を含み、R および R' は、任意選択により同じであるかまたは異なり、典型的には、式 I を有する非天然アミノ酸に関して上記で説明されている R 基の成分と同じリストならびに水素から選択される。例えば、本発明の非天然アミノ酸は、任意選択により、式 I I および I I I により示されている通り、アミノ基またはカルボキシル基に置換を含む。このタイプの非天然アミノ酸としては、これらに限定されないが、通常の 20 種の天然アミノ酸に対応する側鎖または非天然側鎖を有する -ヒドロキシ酸、 -チオ酸、 -アミノチオカルボキシレートが挙げられるが、これらに限定されない。加えて、炭素の置換としては、任意選択により、これらに限定されないが、D-グルタメート、D-アラニン、D-メチル-O-チロシン、およびアミノ酪酸などの、L-アミノ酸、D-アミノ酸、または - -二置換アミノ酸が挙げられる。他の構造的代替物としては、プロリンアナログ、ならびに 3 員、4 員、6 員、7 員、8 員、および 9 員環プロリンアナログなどの環式アミノ酸；置換 -アラニンおよび -アミノ酪酸などの P および y アミノ酸が挙げられる。

30

40

【0483】

[00412] 多くの非天然アミノ酸は、チロシン、グルタミン、およびフェニルアラニンなどの天然アミノ酸に基づいており、本発明での使用に好適である。チロシンアナログとしては、これらに限定されないが、パラ置換チロシン、オルト置換チロシン、およびメタ置換チロシンが挙げられ、置換チロシンは、これらに限定されないが、ケト基（アセチル基を含むがこれに限定されない）、ベンゾイル基、アミノ基、ヒドラジン、ヒドロキシアミン、チオール基、カルボキシ基、イソプロピル基、メチル基、C<sub>6</sub>~C<sub>20</sub>直鎖もしくはは

50

分岐炭化水素、飽和もしくは不飽和炭化水素、O-メチル基、ポリエーテル基、ニトロ基、またはアルキニル基などを含む。加えて、多置換アリール環も企図される。本発明での使用に好適であり得るグルタミンアナログとしては、これらに限定されないが、 $\beta$ -ヒドロキシ誘導体、 $\alpha$ -置換誘導体、環式誘導体、およびアミド置換グルタミン誘導体が挙げられる。本発明での使用に好適であり得る例示的なフェニルアラニンアナログとしては、これらに限定されないが、パラ置換フェニルアラニン、オルト置換フェニルアラニン (phenylalanine)、およびメタ置換フェニルアラニンが挙げられ、置換基は、これらに限定されないが、ヒドロキシ基、メトキシ基、メチル基、アリル基、アルデヒド、アジド、ヨード、プロモ、ケト基 (アセチル基を含むがこれに限定されない)、ベンゾイル、またはアルキニル基などを含む。本発明での使用に好適であり得る非天然アミノ酸の具体的な例としては、これらに限定されないが、p-アセチル-L-フェニルアラニン、O-メチル-L-チロシン、L-3-(2-ナフチル)アラニン、3-メチル-フェニルアラニン、O-4-アリル-L-チロシン、4-プロピル-L-チロシン、トリ-O-アセチル-GlcNAc-セリン、L-Dopa、フッ素化フェニルアラニン、イソプロピル-L-フェニルアラニン、p-アジド-L-フェニルアラニン、p-アジド-メチル-L-フェニルアラニン、p-アシル-L-フェニルアラニン、p-ベンゾイル-L-フェニルアラニン、L-ホスホセリン、ホスホノセリン、ホスホノチロシン、p-ヨード-フェニルアラニン、p-プロモフェニルアラニン、p-アミノ-L-フェニルアラニン、イソプロピル-L-フェニルアラニン、およびp-プロパルギルオキシ-フェニルアラニンなどが挙げられる。本発明での使用に好適であり得る様々な非天然アミノ酸の構造の例は、例えば、「In vivo incorporation of unnatural amino acids」と題するWO2002/085923に提供されている。追加のメチオニンアナログについては、Kick et al., (2002) Incorporation of azides into recombinant proteins for chemoselective modification by the Staudinger ligation, PNAS 99:19-24も参照。

10

20

## 【0484】

[00413] 本発明での使用に好適な非天然アミノ酸の多くは、例えば、Sigma (米国) またはAldrich (ミルウォーキー、米国ウィスコンシン州) から市販されている。市販されていないものは、本明細書で提供されている通りに、または種々の刊行物で提供されている通りに、または当業者に公知の標準的な方法を使用して、任意選択により合成される。有機合成技法については、例えば、FessendenおよびFessendenによるOrganic Chemistry (1982, Second Edition, Willard Grant Press, Boston Mass.); MarchによるAdvanced Organic Chemistry (Third Edition, 1985, Wiley and Sons, New York); ならびにCareyおよびSundbergによるAdvanced Organic Chemistry (Third Edition, Parts A and B, 1990, Plenum Press, New York)を参照。非天然アミノ酸の合成が記載されている追加の刊行物としては、以下のものが挙げられる: 例えば、「In vivo incorporation of Unnatural Amino Acids」と題するWO2002/085923; Matsoukas et al., (1995) J. Med. Chem., 38, 4660-4669; King, F. E. & Kidd, D. A. A. (1949) A New Synthesis of Glutamine and of  $\beta$ -Dipeptides of Glutamic Acid from Phthylated Intermediates. J. Chem. Soc., 3315-3319; Friedman, O. M. & Chatterji, R. (1959) Synthesis of Derivatives of Glutamine as Model Substrates for Anti-Tumor Agents. J. Am. Chem. Soc. 81, 3750-3752; Craig, J. C. et al. (1988) Absolute Configuration of the Enantiomers of 7-Chloro-4[[

30

40

50

4 - ( diethylamino ) - 1 - methylbutyl] amino] quinoline ( Chloroquine ) . J . Org . Chem . 53 , 1167 - 1170 ; Azoulay , M . , Vilmont , M . & Frappier , F . ( 1991 ) Glutamine analogues as Potential Antimalarials , Eur . J . Med . Chem . 26 , 201 - 5 ; Koskinen , A . M . P . & Rapoport , H . ( 1989 ) Synthesis of 4 - Substituted Prolines as Conformationally Constrained Amino Acid Analogues . J . Org . Chem . 54 , 1859 - 1866 ; Christie , B . D . & Rapoport , H . ( 1985 ) Synthesis of Optically Pure P  
 ipecolates from L - Asparagine . Application to the Total Synthesis of ( + ) - Apovincamine through Amino Acid Decarbonylation and Iminium Ion Cyclization . J . Org . Chem . 1989 : 1859 - 1866 ; Barton et al . , ( 1987 ) Synthesis of Novel  $\alpha$  - Amino - Acids and Derivatives Using Radical Chemistry : Synthesis of L - and D -  $\alpha$  - Amino - Adipic Acids , L -  $\alpha$  - aminopimelic Acid and Appropriate Unsaturated Derivatives . Tetrahedron Lett . 43 : 4297 - 43  
 08 ; および Subasinghe et al . , ( 1992 ) Quisqualic acid analogues : synthesis of beta - heterocyclic 2 - aminopropanoic acid derivatives and their activity at a novel quisqualate - sensitized site . J . Med . Chem . 35 : 4602 - 7 .  
 また、2003年12月22日に出願された「Protein Arrays」と題する米国特許出願第10/744,899号および2002年12月22日に出願された第60/435,821号を参照。

10

20

【0485】

[00414] カルボニル反応性基を有するアミノ酸は、中でも求核付加またはアルドール縮合反応により分子（PEGまたは他の水溶性分子を含むがこれらに限定されない）を連結するための様々な反応を可能にする。

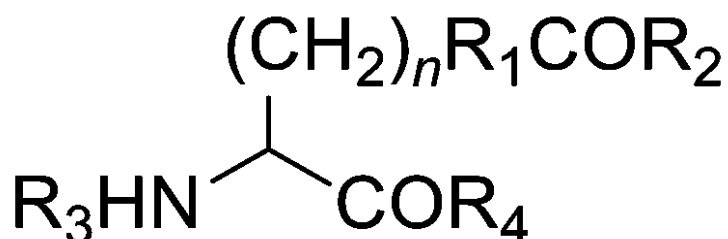
30

【0486】

[00415] 代表的なカルボニル含有アミノ酸は、

【0487】

【化99】



40

として表すことができ、式中、 $n$ は0～10であり、 $\text{R}_1$ は、アルキル、アリール、置換アルキル、または置換アリールであり、 $\text{R}_2$ は、H、アルキル、アリール、置換アルキル、および置換アリールであり、 $\text{R}_3$ は、H、アミノ酸、ポリペプチド、またはアミノ末端修飾基であり、 $\text{R}_4$ は、H、アミノ酸、ポリペプチド、またはカルボキシ末端修飾基である。一部の実施形態では、 $n$ は1であり、 $\text{R}_1$ はフェニルであり、 $\text{R}_2$ は、単純なアルキ

50

ル（つまり、メチル、エチル、またはプロピル）であり、ケトン部分は、アルキル側鎖に対してパラ位に配置されている。一部の実施形態では、 $n$ は1であり、 $R_1$ はフェニルであり、 $R_2$ は、単純なアルキル（つまり、メチル、エチル、またはプロピル）であり、ケトン部分は、アルキル側鎖に対してメタ位に配置されている。

【0488】

[00416] 一部の例では、隣接するヒドロキシル基およびアミノ基を保持する非天然コードアミノ酸を、「遮蔽」アルデヒド官能性としてポリペプチドに組み込むことができる。例えば、5-ヒドロキシリジンは、イブシロンアミンに隣接するヒドロキシル基を保持する。アルデヒドを生成するための反応条件は、典型的には、ポリペプチド内の他の部位での酸化を回避するために穏やかな条件下で、モル過剰量のメタ過ヨウ素酸ナトリウムを添加することを含む。酸化反応のpHは、典型的には約7.0である。典型的な反応は、ポリペプチドの緩衝溶液に約1.5モル過剰量のメタ過ヨウ素酸ナトリウムを添加し、続いて暗所で約10分間インキュベートすることを含む。例えば、米国特許第6,423,685号を参照。この文献は、参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0489】

[00417] カルボニル官能性は、水性溶液中の穏やかな条件下で、ヒドラジン含有試薬、ヒドラジド含有試薬、ヒドロキシルアミン含有試薬、またはセミカルバジド含有試薬と選択的に反応して、それぞれ、生理学的条件下で安定である対応するヒドラゾン連結、オキシム連結、またはセミカルバゾン連結を形成することができる。例えば、Jencks, W. P., J. Am. Chem. Soc. 81, 475-481 (1959); Shao, J. and Tam, J. P., J. Am. Chem. Soc. 117: 3893-3899 (1995)を参照。さらに、カルボニル基の独特な反応性は、他のアミノ酸側鎖の存在下での選択的修飾を可能にする。例えば、Cornish, V. W., et al., J. Am. Chem. Soc. 118: 8150-8151 (1996); Geoghegan, K. F. & Stroh, J. G., Bioconj. Chem. 3: 138-146 (1992); Mahal, L. K., et al., Science 276: 1125-1128 (1997)を参照。

20

【0490】

[00418] ヒドラジン、ヒドラジド、またはセミカルバジドなどの求核基を含む非天然コードアミノ酸は、様々な求電子基と反応して、コンジュゲートの形成を可能にする（PEGまたは他の水溶性ポリマーを含むがこれらに限定されない）。

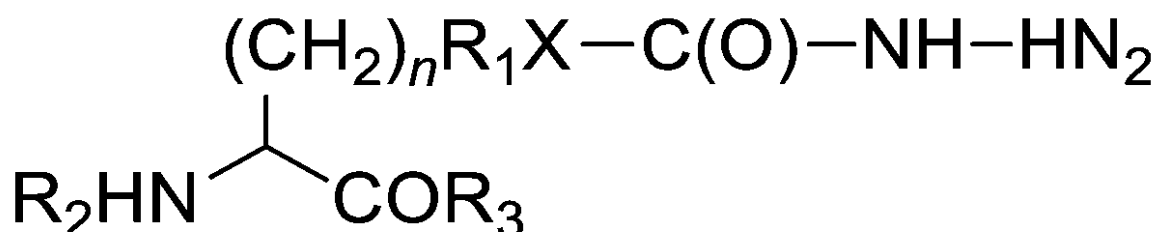
30

【0491】

[00419] 代表的なヒドラジン含有アミノ酸、ヒドラジド含有アミノ酸、またはセミカルバジド含有アミノ酸は、

【0492】

【化100】



40

として表すことができ、式中、 $n$ は0~10であり、 $R_1$ は、アルキル、アリール、置換アルキル、もしくは置換アリールであるか、または存在せず、 $X$ は、O、N、S、または存在せず、 $R_2$ は、H、アミノ酸、ポリペプチド、またはアミノ末端修飾基であり、 $R_3$ は、H、アミノ酸、ポリペプチド、またはカルボキシ末端修飾基である。

【0493】

50

[00420] 一部の実施形態では、 $n$ は4であり、 $R_1$ は存在せず、 $X$ はNである。一部の実施形態では、 $n$ は2であり、 $R_1$ は存在せず、 $X$ は存在しない。一部の実施形態では、 $n$ は1であり、 $R_1$ はフェニルであり、 $X$ はOであり、酸素原子は、アリール環にある脂肪族基に対してパラ位に配置されている。

【0494】

[00421] ヒドラジド含有アミノ酸、ヒドラジン含有アミノ酸、およびセミカルバジド含有アミノ酸は、商業的供給元から入手可能である。例えば、L-グルタメート-ヒドラジドは、Sigma Chemical (セントルイス、ミズーリ州)から入手可能である。市販されていない他のアミノ酸は、当業者により調製することができる。例えば、米国特許第6,281,211号を参照。この文献は、参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0495】

[00422] ヒドラジド官能性、ヒドラジン官能性、またはセミカルバジド官能性を保持する非天然コードアミノ酸を含むポリペプチドは、アルデヒドまたは同様の化学反応性を有する他の官能基を含む様々な分子と効率的におよび選択的に反応することができる。例えば、Shao, J. and Tam, J., J. Am. Chem. Soc. 117: 3893-3899 (1995)を参照。ヒドラジド官能基、ヒドラジン官能基、およびセミカルバジド官能基は、その独特な反応性のため、20種の通常アミノ酸に存在する求核基(セリンもしくはスレオニンのヒドロキシル基、またはリジンおよびN末端のアミノ基を含むがこれらに限定されない)と比較して、アルデヒド、ケトン、および他の求電子基に対して著しくより反応的である。

20

【0496】

[00423] アミノオキシ(ヒドロキシルアミンとも呼ばれる)基を含む非天然コードアミノ酸は、様々な求電子基と反応して、コンジュゲート(PEGまたは他の水溶性ポリマーを含むがこれらに限定されない)を形成することが可能である。ヒドラジン、ヒドラジド、およびセミカルバジドと同様に、アミノオキシ基の増強された求核性は、アルデヒドまたは同様の化学反応性を有する他の官能基を含む様々な分子との効率的および選択的な反応を可能にする。例えば、Shao, J. and Tam, J., J. Am. Chem. Soc. 117: 3893-3899 (1995); H. Hang and C. Bertozzi, Acc. Chem. Res. 34: 727-736 (2001)を参照。しかしながら、ヒドラジン基との反応の結果は、対応するヒドラゾンであるが、アミノオキシ基と、ケトンなどのカルボニル含有基との反応からは、一般に、オキシムが生じる。

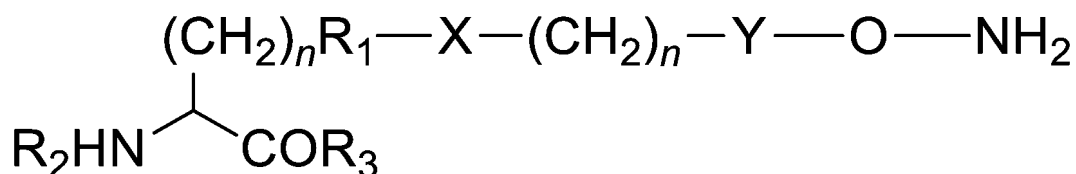
30

【0497】

[00424] アミノオキシ基を含む代表的なアミノ酸は、

【0498】

【化101】



40

として表すことができ、式中、 $n$ は0~10であり、 $R_1$ は、アルキル、アリール、置換アルキル、もしくは置換アリールであるか、または存在せず、 $X$ は、O、N、S、または存在せず、 $m$ は、0~10であり、 $Y = C(O)$ または存在せず、 $R_2$ は、H、アミノ酸、ポリペプチド、またはアミノ末端修飾基であり、 $R_3$ は、H、アミノ酸、ポリペプチド、またはカルボキシ末端修飾基である。一部の実施形態では、 $n$ は1であり、 $R_1$ はフェニルであり、 $X$ はOであり、 $m$ は1であり、 $Y$ は存在する。一部の実施形態では、 $n$ は2であり、 $R_1$ および $X$ は存在せず、 $m$ は0であり、 $Y$ は存在しない。

【0499】

50

[00425] アミノオキシ含有アミノ酸は、容易に入手可能なアミノ酸前駆体（ホモセリン、セリン、およびスレオニン）から調製することができる。例えば、M. Carrasco and R. Brown, *J. Org. Chem.* 68: 8853 - 8858 (2003) を参照。L-2-アミノ-4-(アミノオキシ)酪酸などの、ある特定のアミノオキシ含有アミノ酸は、天然源から単離されている (Rosenthal, G. et al., *Life Sci.* 60: 1635-1641 (1997))。当業者であれば、他のアミノオキシ含有アミノ酸を調製することができる。

#### 【0500】

[00426] アジド官能基およびアルキン官能基は、それらの独特な反応性のため、ポリペプチドおよび他の生物学的分子の選択的修飾に極めて有用である。有機アジド、特に脂肪族アジド、およびアルキンは、一般的な反応性化学条件に対して一般に安定である。特に、アジド官能基およびアルキン官能基は両方とも、天然に存在するポリペプチドに見出される20種の通常アミノ酸の側鎖（つまり、R基）に対して不活性である。しかしながら、近傍に接近すると、アジド基およびアルキン基の「バネ仕掛け」性質が発揮され、ヒュスゲン[3+2]環化付加反応により選択的におよび効率的に反応して、対応するトリアゾールが生成される。例えば、Chin J., et al., *Science* 301: 964 - 7 (2003); Wang, Q., et al., *J. Am. Chem. Soc.* 125, 3192 - 3193 (2003); Chin, J.W., et al., *J. Am. Chem. Soc.* 124: 9026 - 9027 (2002) を参照。

10

#### 【0501】

[00427] ヒュスゲン環化付加反応は、求核置換ではなく選択的環化付加反応を伴うため（例えば、Padwa, A., in *COMPREHENSIVE ORGANIC SYNTHESIS*, Vol. 4, (ed. Trost, B. M., 1991), p. 1069-1109; Huisgen, R. in *1,3-DIPOLAR CYCLOADDITION CHEMISTRY*, (ed. Padwa, A., 1984), p. 1-176を参照）、アジド含有側鎖およびアルキン含有側鎖を保持する非天然コードアミノ酸を組み込むことにより、得られるポリペプチドを、非天然コードアミノ酸の位置で選択的に修飾することが可能になる。アジド含有抗体またはアルキン含有抗体が関与する環化付加反応は、*in situ*にてCu(II)をCu(I)へと還元するための還元剤の存在下でCu(II)（触媒量のCuSO<sub>4</sub>の形態を含むがそれに限定されない）を触媒量で添加することにより、水性条件下で室温にて実施することができる。例えば、Wang, Q., et al., *J. Am. Chem. Soc.* 125, 3192 - 3193 (2003); Tornoe, C.W., et al., *J. Org. Chem.* 67: 3057 - 3064 (2002); Rostovtsev, et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 41: 2596 - 2599 (2002) を参照。代表的な還元剤としては、これらに限定されないが、アスコルビン酸塩、金属銅、キニーネ、ヒドロキノン、ビタミンK、グルタチオン、システイン、Fe<sup>2+</sup>、Co<sup>2+</sup>、および印加電位が挙げられる。

20

30

#### 【0502】

[00428] 一部の 경우에는、アジドとアルキンとの間にあるヒュスゲン[3+2]環化付加反応が所望である場合、抗原結合性ポリペプチドは、アルキン部分を含む非天然コードアミノ酸を含み、アミノ酸に付着させようとする水溶性ポリマーは、アジド部分を含む。その代わりに、逆の反応（つまり、アミノ酸にあるアジド部分と、水溶性ポリマーに存在するアルキン部分との）も実施することができる。

40

#### 【0503】

[00429] また、アジド官能基は、アリアルエステルを含み、アリアルホスフィン部分で適切に官能化されている水溶性ポリマーと選択的に反応して、アミド連結を生成することができる。アリアルホスフィン基は、アジドを*in situ*で還元し、得られたアミンは、次いで近傍のエステル連結と効率的に反応して、対応するアミドを生成する。例えば、E. Saxon and C. Bertozzi, *Science* 287, 2007 - 2010 (2000) を参照。アジド含有アミノ酸は、アルキルアジド（2-アミノ-6-アジド-1-ヘキサン酸を含むがこれに限定されない）またはアリアルアジド（p-

50



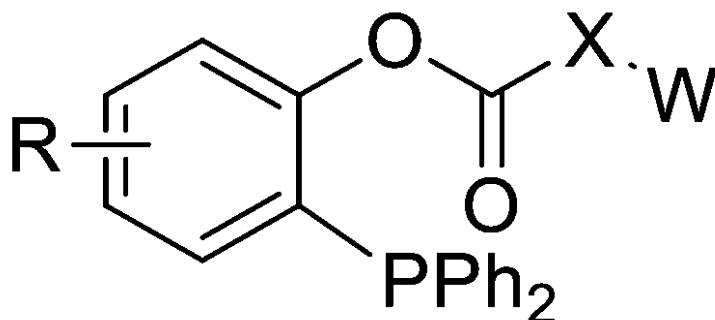
アジド - フェニルアラニン) のいずれであってもよい。

【0504】

[00430] アリールエステルおよびホスフィン部分を含む代表的な水溶性ポリマーは、

【0505】

【化102】



10

として表すことができ、式中、Xは、O、N、S、または存在しなくともよく、Phはフェニルであり、Wは水溶性ポリマーであり、Rは、H、アルキル、アリール、置換アルキル、および置換アリール基であってもよい。代表的なR基としては、これらに限定されないが、 $-CH_2$ 、 $-C(CH_3)_3$ 、 $-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、ハロゲン、 $-C(O)R'$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-CN$ 、および $-NO_2$ が挙げられる。R'、R''、R'''、およびR''''は、各々独立して、水素、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、これらに限定されないが、1~3つのハロゲンで置換されたアリールを含む置換または非置換アリール、置換もしくは非置換アルキル、アルコキシもしくはチオアルコキシ基、またはアリールアルキル基を指す。本発明の化合物が1つよりも多くのR基を含む場合、例えば、R基の各々は、こうした基の1つよりも多くが存在する場合、各R'、R''、R'''、およびR''''基と同様に、独立して選択される。R'およびR''は、同じ窒素原子に付着している場合、窒素原子と一緒に、5員、6員、または7員環を形成することができる。例えば、 $-NR'R''$ としては、これらに限定されないが、1-ピロリジニルおよび4-モル

20

30

【0506】

[00431] また、アジド官能基は、チオエステルを含み、アリールホスフィン部分で適切に官能化されている水溶性ポリマーと選択的に反応して、アミド連結を生成することができる。アリールホスフィン基は、アジドを *in situ* で還元し、得られたアミンは、次いでチオエステル連結と効率的に反応して、対応するアミドを生成する。チオエステル

40

【0507】

【化103】



として表すことができ、式中、 $n$ は1～10であり、 $X$ は、O、N、S、または存在しなくてもよく、Phはフェニルであり、Wは水溶性ポリマーである。

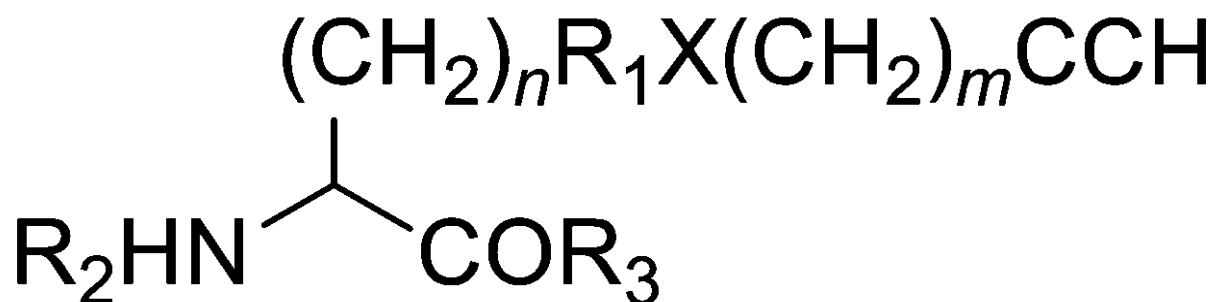
10

【0508】

[00432] 代表的なアルキン含有アミノ酸は、

【0509】

【化104】



20

として表すことができ、式中、 $n$ は0～10であり、 $R_1$ は、アルキル、アリール、置換アルキル、もしくは置換アリールであるか、または存在せず、 $X$ は、O、N、S、または存在せず、 $m$ は、0～10であり、 $R_2$ は、H、アミノ酸、ポリペプチド、またはアミノ末端修飾基であり、 $R_3$ は、H、アミノ酸、ポリペプチド、またはカルボキシ末端修飾基である。一部の実施形態では、 $n$ は1であり、 $R_1$ はフェニルであり、 $X$ は存在せず、 $m$ は0であり、アセチレン部分は、アルキル側鎖に対してパラ位に配置されている。一部の実施形態では、 $n$ は1であり、 $R_1$ はフェニルであり、 $X$ はOであり、 $m$ は1であり、プロパルギルオキシ基は、アルキル側鎖に対してパラ位に配置されている（つまり、O-プロパルギル-チロシン）。一部の実施形態では、 $n$ は1であり、 $R_1$ および $X$ は存在せず、 $m$ は0である（つまり、プロパルグリシン（propargylglycine））。

30

【0510】

[00433] アルキン含有アミノ酸は市販されている。例えば、プロパルギルグリシンは、Peptech（パーリントン、マサチューセッツ州）から市販されている。その代わりに、アルキン含有アミノ酸は、標準的な方法に従って調製することができる。例えば、例えば、*p*-プロパルギルオキシフェニルアラニンは、Deiters, A., et al., J. Am. Chem. Soc. 125: 11782 - 11783 (2003)に記載の通りに合成することができ、4-アルキニル-L-フェニルアラニンは、Kayser, B., et al., Tetrahedron 53(7): 2475 - 2484 (1997)に記載の通りに合成することができる。当業者であれば、他のアルキン含有アミノ酸を調製することができる。

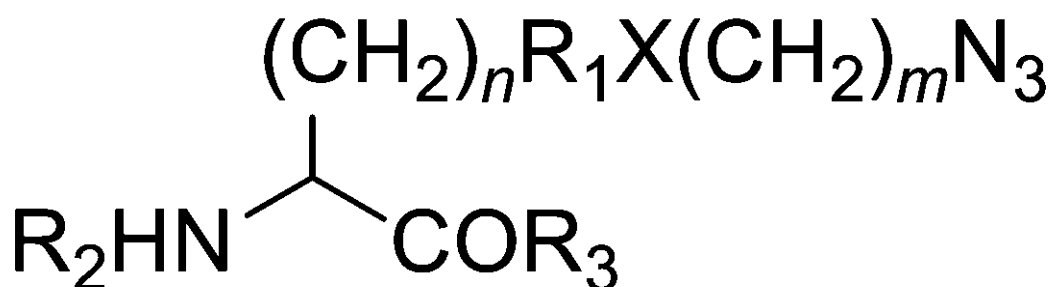
40

【0511】

[00434] 代表的なアジド含有アミノ酸は、

【0512】

【化 1 0 5】



10

として表すことができ、式中、 $n$ は0から10であり、 $\text{R}_1$ は、アルキル、アリール、置換アルキル、置換アリール、または存在せず； $\text{X}$ は、O、N、S、または存在せず、 $m$ は0～10であり、 $\text{R}_2$ は、H、アミノ酸、ポリペプチド、またはアミノ末端修飾基であり、 $\text{R}_3$ は、H、アミノ酸、ポリペプチド、またはカルボキシ末端修飾基である。一部の実施形態では、 $n$ は1であり、 $\text{R}_1$ はフェニルであり、 $\text{X}$ は存在せず、 $m$ は0であり、アジド部分は、アルキル側鎖に対してパラ位に配置されている。一部の実施形態では、 $n$ は0～4であり、 $\text{R}_1$ および $\text{X}$ は存在せず、 $m=0$ である。一部の実施形態では、 $n$ は1であり、 $\text{R}_1$ はフェニルであり、 $\text{X}$ はOであり、 $m$ は2であり、P-アジドエトキシ部分は、アルキル側鎖に対してパラ位に配置されている。

20

【0513】

[00435] アジド含有アミノ酸は、商業的供給元から入手可能である。例えば、4-アジドフェニルアラニンは、Chem-Implex International, Inc. (ウッドデール、イリノイ州)から得ることができる。市販されていないアジド含有アミノ酸の場合、アジド基は、これらに限定されないが、好適な脱離基(ハロゲン化物、メシレート、トシレートを含むがこれらに限定されない)を置き換えることまたは好適に保護されたラク톤を開環することを含む、当業者に公知の標準的な方法を使用して比較的容易に調製することができる。例えば、MarchによるAdvanced Organic Chemistry (Third Edition, 1985, Wiley and Sons, New York)を参照。

30

【0514】

[00436] ベータ置換アミノチオール官能基は、その独特な反応性のため、アルデヒド基を含むポリペプチドおよび他の生物学的分子の、チアゾリジンの形成による選択的修飾に極めて有用である。例えば、J. Shao and J. Tam, J. Am. Chem. Soc. 1995, 117(14)3893-3899を参照。一部の実施形態では、ベータ置換アミノチオールアミノ酸を抗体に組み込み、次いでアルデヒド官能性を含む水溶性ポリマーと反応させることができる。一部の実施形態では、水溶性ポリマー、薬物コンジュゲート、または他のペイロードを、ベータ置換アミノチオールアミノ酸を含む抗体ポリペプチドと、チアゾリジンの形成によりカップリングすることができる。

【0515】

[00437] 有用な非天然アミノ酸の特定の例としては、これらに限定されないが、以下のものが挙げられる：p-アセチル-L-フェニルアラニン、O-メチル-L-チロシン、L-3-(2-ナフチル)アラニン、3-メチル-フェニルアラニン、O-4-アリル-L-チロシン、4-プロピル-L-チロシン、トリ-O-アセチル-GlcNAc-b-セリン、L-Dopa、フッ素化フェニルアラニン、イソプロピル-L-フェニルアラニン、p-アジド-メチル-L-フェニルアラニン、p-アジド-L-フェニルアラニン、p-アシル-L-フェニルアラニン、p-ベンゾイル-L-フェニルアラニン、L-ホスホセリン、ホスホチロシン、ホスホチロシン、p-ヨード-フェニルアラニン、p-プロモフェニルアラニン、p-アミノ-L-フェニルアラニン、イソプロピル-L-フェニルアラニン、およびp-プロパルギルオキシ-フェニルアラニン。さらなる有用な例としては、N-アセチル-L-グルコサミン-L-セリン、N-アセチル-L-ガラクトサ

40

50

ミニル - L - セリン、N - アセチル - L - グルコサミニル - L - スレオニン、N - アセチル - L - グルコサミニル - L - アスパラギン、および O - マンノサミニル - L - セリンが挙げられる。

【0516】

[00438] 特定の実施形態では、非天然アミノ酸は、p - アセチル - フェニルアラニン、p - エチニル - フェニルアラニン、p - プロパルギルオキシフェニルアラニン、p - アジド - メチル - フェニルアラニン、および p - アジド - フェニルアラニンから選択される。1つの特に有用な非天然アミノ酸は、p - アジドフェニルアラニンである。このアミノ酸残基は、例えばアルキニル基を保持する化合物とのヒュスゲン [ 3 + 2 ] 環化付加 (cylo addition) 反応 (いわゆる「クリック」化学反応) を容易にすることが当業者に公知である。この反応により、当業者であれば、非天然アミノ酸の部位特異的位置で抗体と容易におよび迅速にコンジュゲートさせることができる。

10

【0517】

[00439] ある特定の実施形態では、第1の反応性基は、アルキニル部分 (これに限定されないが、非天然アミノ酸 p - プロパルギルオキシフェニルアラニンを含み、プロパルギル基は、アセチレン部分とも呼ばれることがある) であり、第2の反応性基は、アジド部分であり、[ 3 + 2 ] 環化付加化学を使用することができる。ある特定の実施形態では、第1の反応性基は、アジド部分 (非天然アミノ酸 p - アジド - L - フェニルアラニンを含むがこれに限定されない) であり、第2の反応性基はアルキニル部分である。

20

【0518】

[00440] 上記の式では、各 L は、二価リンカーを表わす。二価リンカーは、当業者に公知の任意の二価リンカーであってもよい。一般に、二価リンカーは、官能性部分 R および非天然アミノ酸の類似反応性基 (例えば、アルファ炭素) と共有結合を形成することが可能である。有用な二価リンカー 結合、アルキレン、置換アルキレン、ヘテロアルキレン、置換ヘテロアルキレン、アリーレン、置換アリーレン、ヘテロアリーレン、および置換ヘテロアリーレン。ある特定の実施形態では、L は、C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub> アルキレンまたは C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub> ヘテロアルキレンである。

【0519】

[00441] 本明細書に記載の方法および組成物に使用される非天然アミノ酸は、以下の4つの特性のうち少なくとも1つを有する: (1) 非天然アミノ酸の側鎖にある少なくとも1つの官能基は、20種の通常の遺伝的にコードされるアミノ酸 (つまり、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、およびバリン) の化学反応性に対して直交性であるか、または非天然アミノ酸を含むポリペプチドに存在する天然に存在するアミノ酸の化学反応性に対して少なくとも直交性である少なくとも1つの特色および/または活性および/または反応性を有すること; (2) 導入される非天然アミノ酸は、20種の通常の遺伝的にコードされるアミノ酸に対して化学的に実質的に不活性であること; (3) 非天然アミノ酸は、好ましくは、天然に存在するアミノ酸と同等の安定性でまたは典型的な生理学的条件下で、ポリペプチドに安定して組み込むことができ、さらに好ましくは、そのような組込みは、in vivo系により生じさせることができること; (4) 非天然アミノ酸は、オキシム官能基、もしくは好ましくは非天然アミノ酸を含むポリペプチドの生物学的特性を破壊しない条件下で (無論、そのような生物学的特性の破壊が修飾/変換の目的でない限り) 試薬と反応させることによりオキシム基に変換することができる官能基を含むか、または変換は約4から約8の間のpHの水性条件下で生じさせることができるか、または非天然アミノ酸にある反応性部位は求電子性部位であること。任意の数の非天然アミノ酸をポリペプチドに導入することができる。また、非天然アミノ酸は、保護もしくは遮蔽オキシム、または保護基の脱保護もしくは遮蔽基の脱遮蔽後にオキシム基へと変換することができる保護基もしくは遮蔽基を含んでいてもよい。また、非天然アミノ酸は、保護または遮蔽カルボニル基またはジカルボニル基を含んでい

30

40

50

てもよく、これらは、保護基の脱保護または遮蔽基の脱遮蔽後にカルボニル基またはジカルボニル基に変換することができ、それによりヒドロキシルアミンまたはオキシムと反応してオキシム基を形成するために利用可能である。

#### 【0520】

[00442] さらに実施形態では、本明細書に記載の方法および組成物に使用することができる非天然アミノ酸としては、これらに限定されないが、以下のものが挙げられる：光活性化可能な架橋剤を含むアミノ酸、スピン標識アミノ酸、蛍光アミノ酸、金属結合アミノ酸、金属含有アミノ酸、放射性アミノ酸、新規の官能基を有するアミノ酸、他の分子と共有結合でまたは非共有結合で相互作用するアミノ酸、光ケージ化および/または光異性化性アミノ酸、ピオチンまたはピオチンアナログを含むアミノ酸、糖置換セリンなどのグリコシル化アミノ酸、他の炭水化物修飾アミノ酸、ケト含有アミノ酸、アルデヒド含有アミノ酸、ポリエチレングリコールまたは他のポリエーテルを含むアミノ酸、重原子置換アミノ酸、化学的に切断可能なおよび/または光切断可能なアミノ酸、これらに限定されないが、ポリエーテル、または約5個よりも多くもしくは約10個よりも多くの炭素を含むがこれらに限定されない鎖状炭化水素を含む、天然アミノ酸と比較して伸長した側鎖を有するアミノ酸、炭素連結糖含有アミノ酸、酸化還元活性アミノ酸、アミノ酸を含むアミノチオ酸、ならびに1つまたは複数の毒性部分を含むアミノ酸。

10

#### 【0521】

[00443] 一部の実施形態では、非天然アミノ酸は、サッカリド部分を含む。そのようなアミノ酸の例としては、N-アセチル-L-グルコサミニル-L-セリン、N-アセチル-L-ガラクトサミニル-L-セリン、N-アセチル-L-グルコサミニル-L-スレオニン、N-アセチル-L-グルコサミニル-L-アスパラギン、およびO-マンノサミニル-L-セリンが挙げられる。そのようなアミノ酸の例としては、アミノ酸とサッカリドとの間の天然に存在するN-連結またはO-連結が、これらに限定されないが、アルケン、オキシム、チオエーテル、およびアミドなどを含む、天然では通常見出されない共有結合連結により置き換えられている例も挙げられる。また、そのようなアミノ酸の例は、2-デオキシ-グルコースおよび2-デオキシガラクトースなど、天然に存在するタンパク質では通常見出されないサッカリドを含む。

20

#### 【0522】

[00444] 非天然アミノ酸の組み込みにより抗体に組み込まれる化学部分は、様々な利点およびポリペプチドの操作を提供する。例えば、カルボニル官能基またはジカルボニル官能基(ケト官能基またはアルデヒド官能基を含む)は、その独特な反応性のため、幾つかのヒドラジン含有試薬またはヒドロキシルアミン含有試薬のいずれかを有する抗体を *in vivo* および *in vitro* で選択的に修飾することを可能にする。重原子非天然アミノ酸は、例えば、X線構造データのフェージングに有用であり得る。非天然アミノ酸を使用した重原子の部位特異的導入は、重原子の位置を選択する際の選択性と柔軟性も提供する。光反応性非天然アミノ酸(ベンゾフェノンおよびアリアルアジド(フェニルアジドを含むがこれに限定されない)側鎖を有するアミノ酸を含むがこれらに限定されない)は、例えば、ポリペプチドの効率的な *in vivo* および *in vitro* 光架橋を可能にする。光反応性非天然アミノ酸の例としては、これらに限定されないが、p-アジド-フェニルアラニンおよびp-ベンゾイル-フェニルアラニンが挙げられる。次いで、光反応性非天然アミノ酸を有する抗体を、光反応性基の励起により自由自在に架橋して、時間的制御を提供することができる。非限定的な例では、非天然アミノのメチル基を、これに限定されないが同位体で標識されたメチル基で置換して、これらに限定されないが核磁気共鳴法および振動分光法を使用した局所構造およびダイナミクスのプロープとして用いることができる。

30

40

#### 【0523】

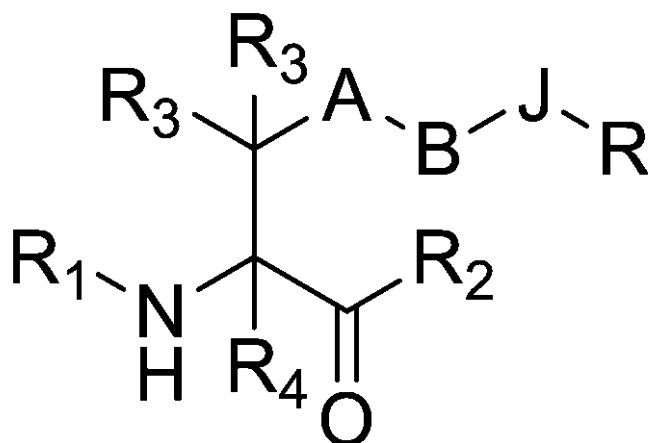
[00445] 求電子反応性基を有するアミノ酸は、求核付加反応を含むがこれに限定されない種々の化学反応により分子を連結するための様々な反応を可能にする。そのような求電子反応基としては、カルボニル基もしくはジカルボニル基(ケト基もしくはアルデヒド基

50

を含む)、カルボニル様基もしくはジカルボニル様基(カルボニル基もしくはジカルボニル基と同様の反応性を有し、構造的にカルボニル基もしくはジカルボニル基に類似する)、遮蔽カルボニル基もしくは遮蔽ジカルボニル基(カルボニル基もしくはジカルボニル基に容易に変換することができる)、または保護カルボニル基もしくは保護ジカルボニル基(脱保護時にカルボニル基もしくはジカルボニル基と同様の反応性を有する)が挙げられる。そのようなアミノ酸としては、式(1)の構造:

【0524】

【化106】



10

20

を有するアミノ酸が挙げられ、式中、Aは、任意選択であり、存在する場合は、低級アルキレン、置換低級アルキレン、低級シクロアルキレン、置換低級シクロアルキレン、低級アルケニレン、置換低級アルケニレン、アルキニレン、低級ヘテロアルキレン、置換ヘテロアルキレン、低級ヘテロシクロアルキレン、置換低級ヘテロシクロアルキレン、アリーレン、置換アリーレン、ヘテロアリーレン、置換ヘテロアリーレン、アルカリレン(alkarylene)、置換アルカリレン、アラルキレン(aralkylene)、または置換アラルキレンであり、Bは任意選択であり、存在する場合は、低級アルキレン、置換低級アルキレン、低級アルケニレン、置換低級アルケニレン、低級ヘテロアルキレン、置換低級ヘテロアルキレン、-O-、-O-(アルキレンまたは置換アルキレン)-、-S-、-S-(アルキレンまたは置換アルキレン)-、-S(O)<sub>k</sub>-であり、式中、kは、1、2、または3であり、-S(O)<sub>k</sub>(アルキレンまたは置換アルキレン)-、-C(O)-、-NS(O)<sub>2</sub>-、-OS(O)<sub>2</sub>-、-C(O)-(アルキレンまたは置換アルキレン)-、-C(S)-、-C(S)-(アルキレンまたは置換アルキレン)-、-N(R')-、-NR'(アルキレンまたは置換アルキレン)-、-C(O)N(R')-、-CON(R')(アルキレンまたは置換アルキレン)-、-CSN(R')-、-CSN(R')(アルキレンまたは置換アルキレン)-、-N(R')CO-(アルキレンまたは置換アルキレン)-、-N(R')C(O)O-、-S(O)<sub>k</sub>N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(S)N(R')-、-N(R')S(O)<sub>k</sub>N(R')-、-N(R')-N=、-C(R')=N-、-C(R')=N-N(R')-、-C(R')=N-N=、-C(R')<sub>2</sub>-N=N-、および-C(R')<sub>2</sub>-N(R')-N(R')-からなる群から選択されるリンカーであり、

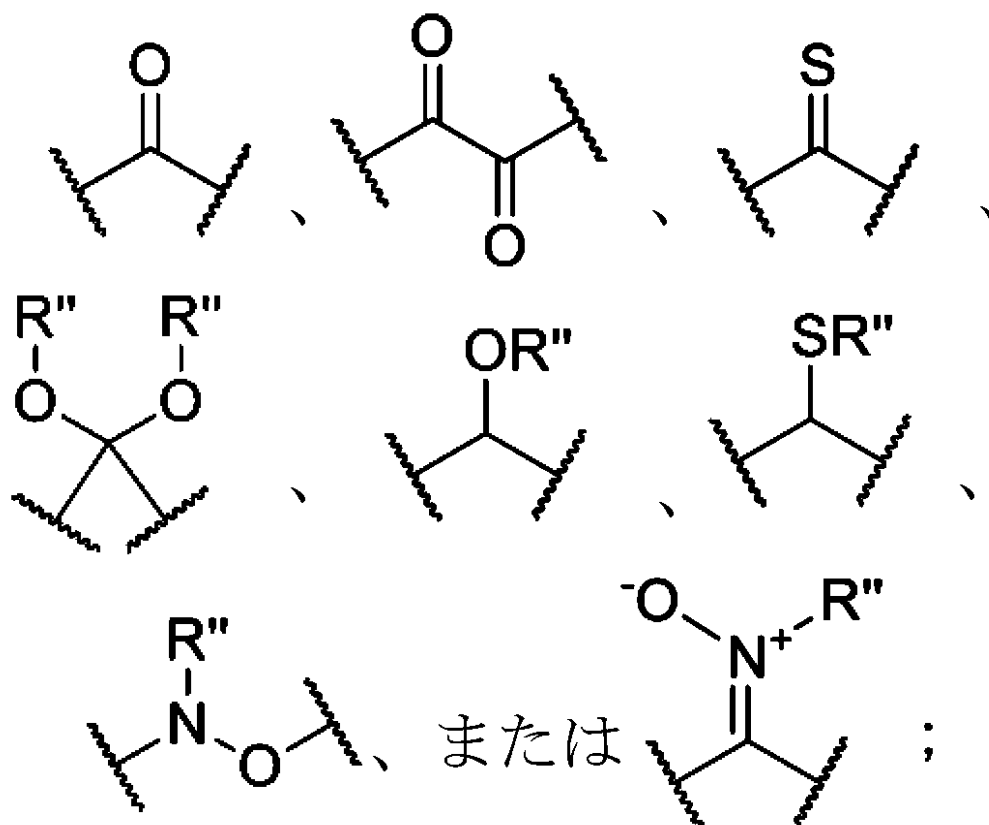
30

40

式中、各R'は、独立してH、アルキル、または置換アルキルであり、Jは、

【0525】

【化 1 0 7】



であり、Rは、H、アルキル、置換アルキル、シクロアルキル、または置換シクロアルキルであり、各R'は、独立して、H、アルキル、置換アルキル、もしくは保護基であり、または1つよりも多くのR'基が存在する場合は、2つのR'は任意選択によりヘテロシクロアルキルを形成し、R<sub>1</sub>は、H、アミノ保護基、レジン、アミノ酸、ポリペプチド、またはポリヌクレオチドであり、R<sub>2</sub>は、OH、エステル保護基、レジン、アミノ酸、ポリペプチド、またはポリヌクレオチドであり、R<sub>3</sub>およびR<sub>4</sub>の各々は、独立して、H、ハロゲン、低級アルキル、もしくは置換低級アルキルであるが、またはR<sub>3</sub>およびR<sub>4</sub>もしくは2つのR<sub>3</sub>基は、任意選択によりシクロアルキルもしくはヘテロシクロアルキルを形成し、または-A-B-J-R基は一緒になって、ジカルボニル基を含む少なくとも1つのカルボニル基、保護ジカルボニル基を含む保護カルボニル基、もしくは遮蔽ジカルボニル基を含む遮蔽カルボニル基を含む二環式もしくは三環式のシクロアルキルもしくはヘテロシクロアルキルを形成し、または-J-R基は一緒になって、ジカルボニル基を含む少なくとも1つのカルボニル基、保護ジカルボニル基を含む保護カルボニル基、もしくは遮蔽ジカルボニル基を含む遮蔽カルボニル基を含む単環式もしくは二環式のシクロアルキルもしくはヘテロシクロアルキルを形成し、ただし、Aがフェニレンであり、各R<sub>3</sub>がHである場合、Bは存在し、Aが-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-であり、各R<sub>3</sub>がHである場合、Bは、-NHCO(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)-ではなく、AおよびBが存在せず、各R<sub>3</sub>がHの場合、Rはメチルではない。そのような非天然アミノ酸は、塩の形態であってもよく、または非天然アミノ酸ポリペプチド、ポリマー、ポリサッカリド、もしくはポリヌクレオチドに組み込まれていてもよく、任意選択により翻訳後修飾されていてもよい。

30

40

【0526】

[00446] ある特定の実施形態では、式(1)の化合物は、弱酸性条件下で少なくとも1か月間にわたって水性溶液中で安定である。ある特定の実施形態では、式(1)の化合物は、弱酸性条件下で少なくとも2週間にわたって安定である。ある特定の実施形態では、式(1)の化合物は、弱酸性条件下で少なくとも5日間にわたって安定である。ある特定の

50

実施形態では、そのような酸性条件は、pH 2 ~ 8 である。

【0527】

[00447] 式(1)の化合物のある特定の実施形態では、Bは、低級アルキレン、置換低級アルキレン、-O-(アルキレンまたは置換アルキレン)-、-C(R')=N-N(R')-、-N(R')CO-、-C(O)-、-C(R')=N-、-C(O)-(アルキレンまたは置換アルキレン)-、-CON(R')-(アルキレンまたは置換アルキレン)-、-S(アルキレンまたは置換アルキレン)-、-S(O)(アルキレンまたは置換アルキレン)-、または-S(O)<sub>2</sub>(アルキレンまたは置換アルキレン)-である。式(I)の化合物のある特定の実施形態では、Bは、-O(CH<sub>2</sub>)-、-CH=N-、-CH=N-NH-、-NHCH<sub>2</sub>-、-NHCO-、-C(O)-、-C(O)-(CH<sub>2</sub>)-、-CONH-(CH<sub>2</sub>)-、-SCH<sub>2</sub>-、-S(=O)CH<sub>2</sub>-、または-S(O)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-である。式(1)の化合物のある特定の実施形態では、Rは、C<sub>1</sub>~6アルキルまたはシクロアルキルである。式(1)の化合物のある特定の実施形態では、Rは、-CH<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、またはシクロプロピルである。式(1)の化合物のある特定の実施形態では、R<sub>1</sub>は、H、tert-ブチルオキシカルボニル(Boc)、9-フルオレニルメトキシカルボニル(Fmoc)、N-アセチル、テトラフルオロアセチル(TFA)、またはベンジルオキシカルボニル(Cbz)である。式(1)の化合物のある特定の実施形態では、R<sub>1</sub>は、レジン、アミノ酸、ポリペプチド、またはポリヌクレオチドである。式(1)の化合物のある特定の実施形態では、R<sub>2</sub>は、OH、O-メチル、O-エチル、またはO-t-ブチルである。式(1)の化合物のある特定の実施形態では、R<sub>2</sub>は、レジン、アミノ酸、ポリペプチド、またはポリヌクレオチドである。式(1)の化合物のある特定の実施形態では、R<sub>2</sub>は、ポリヌクレオチドである。式(1)の化合物のある特定の実施形態では、R<sub>2</sub>は、リボ核酸(RNA)である。式(1)の化合物のある特定の実施形態では、tRNAは、セクターコドン(selector codon)を特異的に認識する。式(1)の化合物のある特定の実施形態では、セクターコドンは、アンバーコドン、オーカーコドン、オパールコドン、ユニークコドン、希少コドン、非天然コドン、5塩基コドン、および4塩基コドンからなる群から選択される。式(1)の化合物のある特定の実施形態では、R<sub>2</sub>は、抑制性tRNAである。

10

20

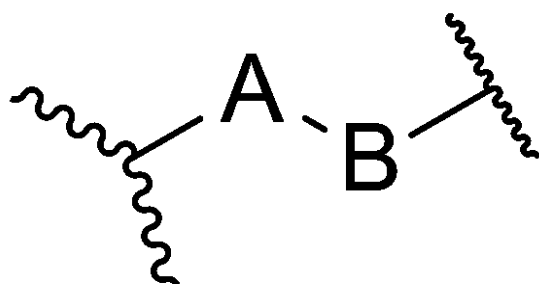
30

【0528】

[00448] 式(1)の化合物のある特定の実施形態では、

【0529】

【化108】



40

は、(i) Aは、置換低級アルキレン、C<sub>4</sub>-アリーレン、置換アリーレン、ヘテロアリーレン、置換ヘテロアリーレン、アルカリレン、置換アルカリレン、アラルキレン、または置換アラルキレンであり、Bは、任意選択であり、存在する場合は、低級アルキレン、置換低級アルキレン、低級アルケニレン、置換低級アルケニレン、-O-、-O-(アルキレンまたは置換アルキレン)-、-S-、-S(O)-、-S(O)<sub>2</sub>-、-NS(O)<sub>2</sub>-、-OS(O)<sub>2</sub>-、-C(O)-、-C(O)-(アルキレンまたは置換アルキレン)-、-C(S)-、-N(R')-、-C(O)N(R')-、-CON(R')

50



- (アルキレンまたは置換アルキレン) -、-CSN(R') -、-N(R')CO - (アルキレンまたは置換アルキレン) -、-N(R')C(O)O -、-N(R')C(S) -、-S(O)N(R')、-S(O)<sub>2</sub>N(R')、-N(R')C(O)N(R') -、-N(R')C(S)N(R') -、-N(R')S(O)N(R') -、-N(R')S(O)<sub>2</sub>N(R') -、-N(R')-N=、-C(R')=N-N(R') -、-C(R')=N-N=、-C(R')<sub>2</sub>-N=N -、および -C(R')<sub>2</sub>-N(R')-N(R') - からなる群から選択される二価リンカーであること、(ii) Aは、任意選択であり、存在する場合は、置換低級アルキレン、C<sub>4</sub>-アリーレン、置換アリーレン、ヘテロアリーレン、置換ヘテロアリーレン、アルカリレン、置換アルカリレン、アラルキレン、または置換アラルキレンであり、Bは、低級アルキレン、置換低級アルキレン、低級アルケニレン、置換低級アルケニレン、-O -、-O - (アルキレンまたは置換アルキレン) -、-S -、-S(O) -、-S(O)<sub>2</sub> -、-NS(O)<sub>2</sub> -、-OS(O)<sub>2</sub> -、-C(O) -、-C(O) - (アルキレンまたは置換アルキレン) -、-C(S) -、-N(R') -、-C(O)N(R') -、-CON(R') - (アルキレンまたは置換アルキレン) -、-CSN(R') -、-N(R')CO - (アルキレンまたは置換アルキレン) -、-N(R')C(O)O -、-N(R')C(S) -、-S(O)N(R')、-S(O)<sub>2</sub>N(R')、-N(R')C(O)N(R') -、-N(R')C(S)N(R') -、-N(R')S(O)N(R') -、-N(R')S(O)<sub>2</sub>N(R') -、-N(R')-N=、-C(R')=N-N(R') -、-C(R')=N-N=、-C(R')<sub>2</sub>-N=N -、および -C(R')<sub>2</sub>-N(R')-N(R') - からなる群から選択される二価リンカーであること、(iii) Aは、低級アルキレンであり、Bは、任意選択であり、存在する場合は、低級アルキレン、置換低級アルキレン、低級アルケニレン、置換低級アルケニレン、-O -、-O - (アルキレンまたは置換アルキレン) -、-S -、-S(O) -、-S(O)<sub>2</sub> -、-NS(O)<sub>2</sub> -、-OS(O)<sub>2</sub> -、-C(O) -、-C(O) - (アルキレンまたは置換アルキレン) -、-C(S) -、-N(R') -、-C(O)N(R') -、-CSN(R') -、-CON(R') - (アルキレンまたは置換アルキレン) -、-N(R')C(O)O -、-N(R')C(S) -、-S(O)N(R')、-S(O)<sub>2</sub>N(R')、-N(R')C(O)N(R') -、-N(R')C(S)N(R') -、-N(R')S(O)N(R') -、-N(R')S(O)<sub>2</sub>N(R') -、-N(R')-N=、-C(R')=N-N(R') -、-C(R')=N-N=、-C(R')<sub>2</sub>-N=N -、および -C(R')<sub>2</sub>-N(R')-N(R') - からなる群から選択される二価リンカーであること、(iv) Aはフェニレンであり、Bは、低級アルキレン、置換低級アルキレン、低級アルケニレン、置換低級アルケニレン、-O -、-O - (アルキレンまたは置換アルキレン) -、-S -、-S(O) -、-S(O)<sub>2</sub> -、-NS(O)<sub>2</sub> -、-OS(O)<sub>2</sub> -、-C(O) -、-C(O) - (アルキレンまたは置換アルキレン) -、-C(S) -、-N(R') -、-C(O)N(R') -、-CON(R') - (アルキレンまたは置換アルキレン) -、-CSN(R') -、-N(R')CO - (アルキレンまたは置換アルキレン) -、-N(R')C(O)O -、-N(R')C(S) -、-S(O)N(R')、-S(O)<sub>2</sub>N(R')、-N(R')C(O)N(R') -、-N(R')C(S)N(R') -、-N(R')S(O)N(R') -、-N(R')S(O)<sub>2</sub>N(R') -、-N(R')-N=、-C(R')=N-N(R') -、-C(R')=N-N=、-C(R')<sub>2</sub>-N=N -、および -C(R')<sub>2</sub>-N(R')-N(R') - からなる群から選択される二価リンカーであること、からなる群から選択され、Jは、

【0530】

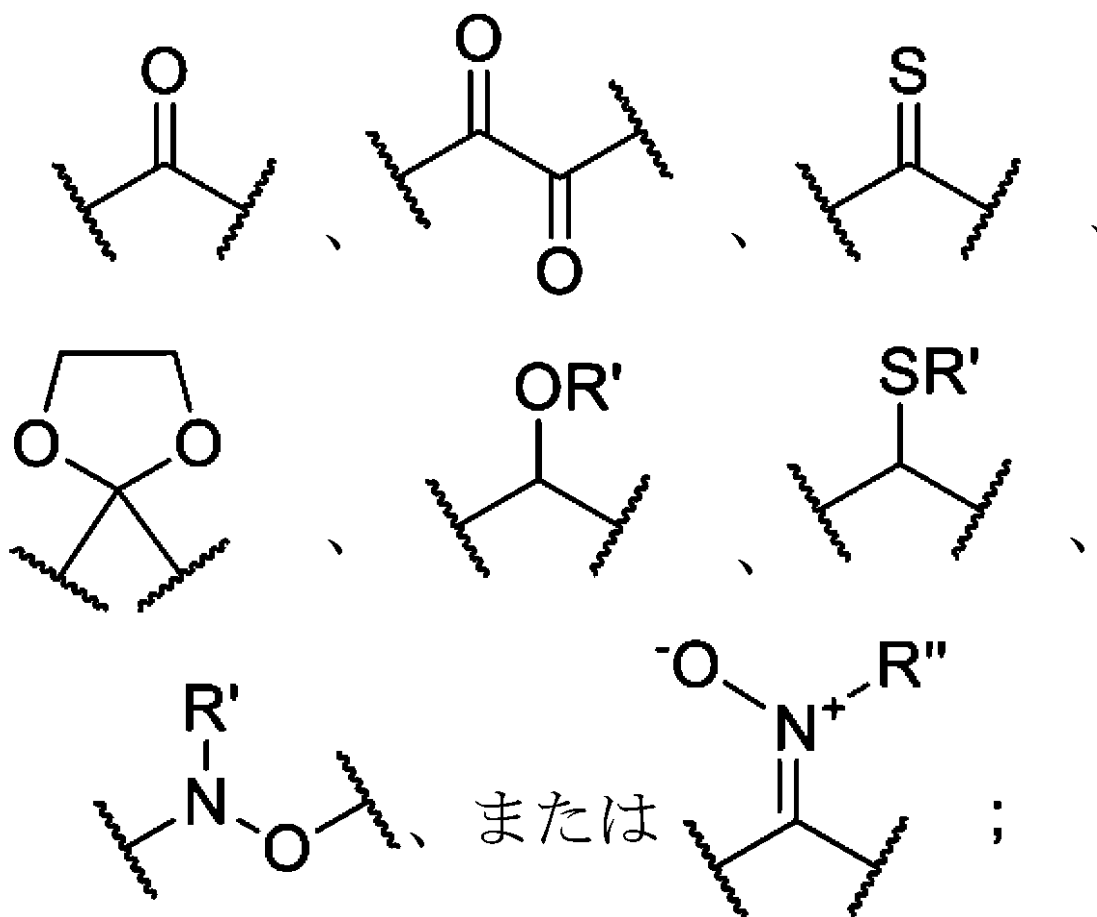
10

20

30

40

【化 1 0 9】



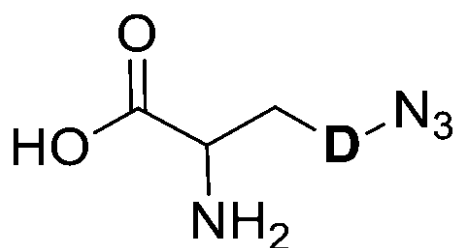
であり、各 R' は、独立して、H、アルキル、または置換アルキルであり、R<sub>1</sub> は、任意選択であり、存在する場合は、H、アミノ保護基、レジン、アミノ酸、ポリペプチド、またはポリヌクレオチドであり、R<sub>2</sub> は、任意選択であり、存在する場合は、OH、エステル保護基、レジン、アミノ酸、ポリペプチド、またはポリヌクレオチドであり、各 R<sub>3</sub> および R<sub>4</sub> は、独立して、H、ハロゲン、低級アルキル、または置換低級アルキルであり、R は、H、アルキル、置換アルキル、シクロアルキル、または置換シクロアルキルである。

【0531】

[00449] ある特定の実施形態では、非天然アミノ酸は、式 X I X :

【0532】

【化 1 1 0】



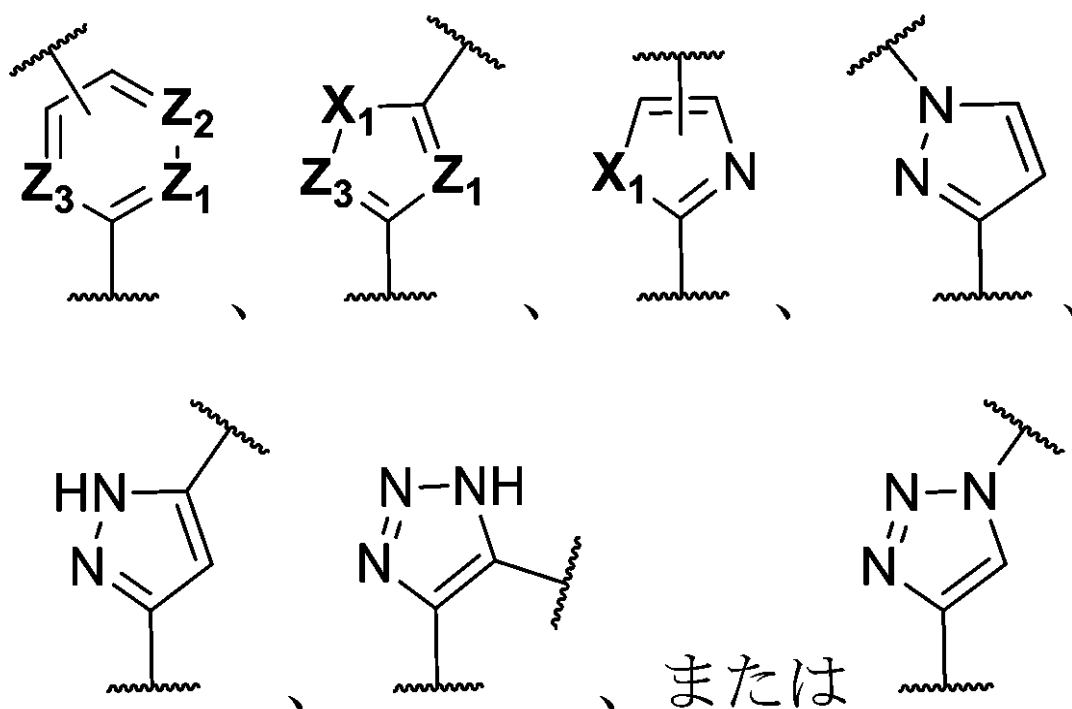
10

## 式 XIX

によるものまたはその塩であってもよく、式中、Dは、 $-Ar-W_3-$ または $-W_1-Y_1-C(O)-Y_2-W_2-$ であり、Arは、

【0533】

【化 1 1 1】



20

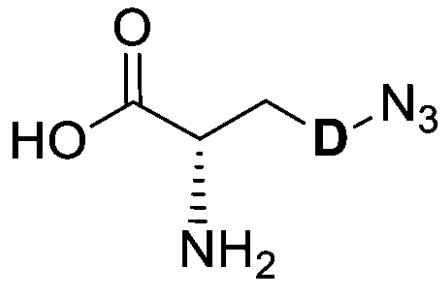
30

であり、 $W_1$ 、 $W_2$ 、および $W_3$ の各々は、独立して、単結合または低級アルキレンであり、各 $X_1$ は、独立して、 $-NH-$ 、 $-O-$ 、または $-S-$ であり、各 $Y_1$ は、独立して、単結合、 $-NH-$ 、または $-O-$ であり、各 $Y_2$ は、独立して、単結合、 $-NH-$ 、 $-O-$ 、またはN-連結型もしくはC-連結型ピロリジニレンであり、 $Z_1$ 、 $Z_2$ 、および $Z_3$ の1つは $-N-$ であり、 $Z_1$ 、 $Z_2$ 、および $Z_3$ の他のものは、独立して $-CH-$ である。ある特定の実施形態では、非天然アミノ酸は、式XIXa：

40

【0534】

【化 1 1 2】



10

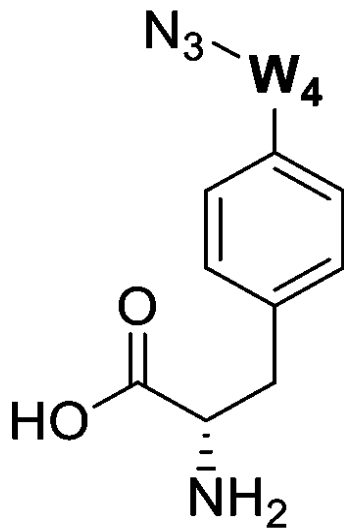
式 XIXa

によりものであり、式中、Dは、式XIXの状況で規定されている通りである。ある特定の実施形態では、非天然アミノ酸は、式XIXb：

【0535】

【化 1 1 3】

20



30

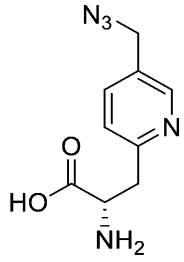
式 XIXb

によるものまたはその塩であり、式中、W<sub>4</sub>は、C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキレンである。さらなる実施形態では、W<sub>4</sub>は、C<sub>1</sub>～C<sub>5</sub>アルキレンである。一実施形態では、W<sub>4</sub>は、C<sub>1</sub>～C<sub>3</sub>アルキレンである。一実施形態では、W<sub>4</sub>は、C<sub>1</sub>アルキレンである。特定の実施形態では、非天然アミノ酸は、

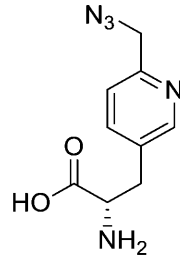
40

【0536】

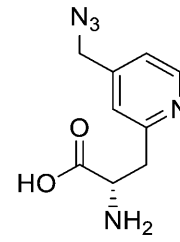
【化 1 1 4 - 1】



(1)

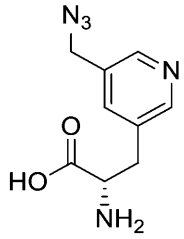


(2)

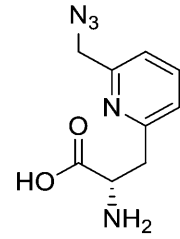


(3)

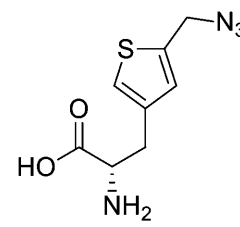
10



(4)

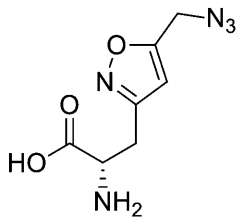


(5)

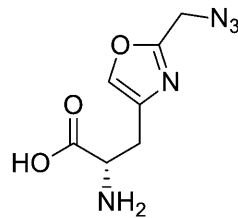


(6)

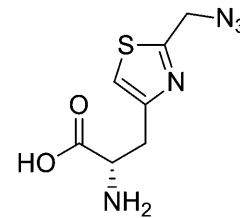
20



(7)

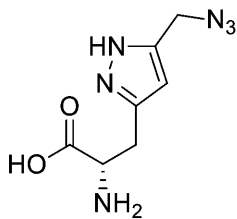


(8)

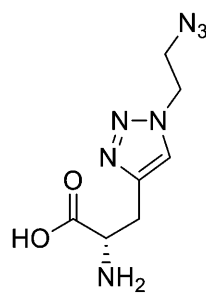


(9)

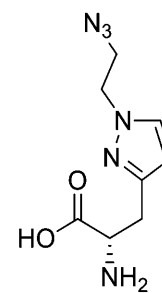
30



(10)

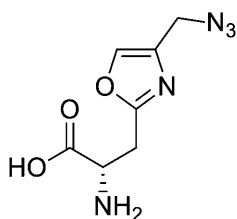


(11)

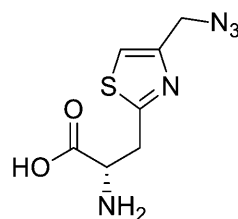


(12)

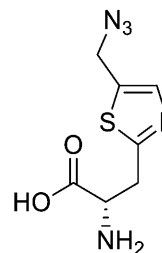
40



(13)



(14)

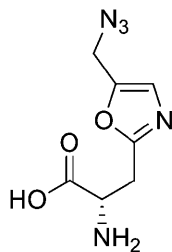


(15)

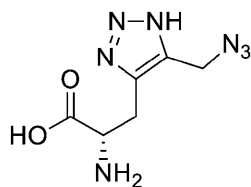
【 0 5 3 7 】

50

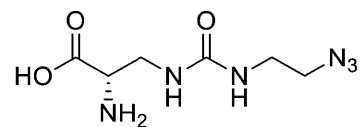
【化 1 1 4 - 2】



(16)

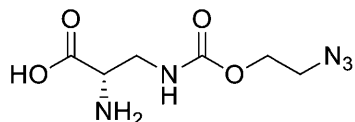


(17)

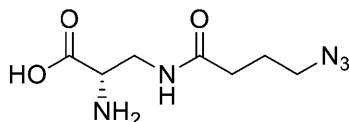


(18)

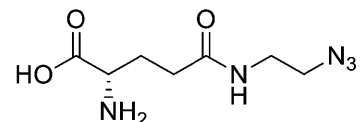
10



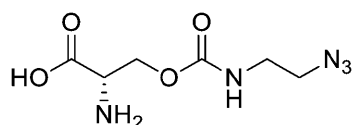
(19)



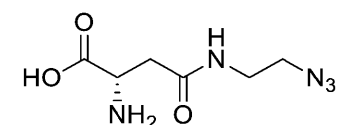
(20)



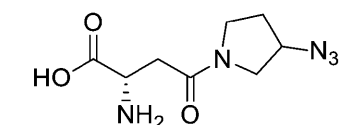
(21)



(22)

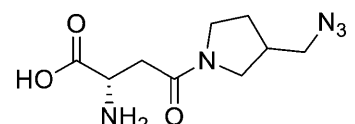


(23)

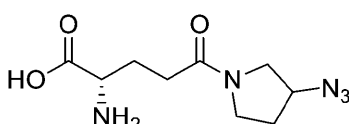


(24)

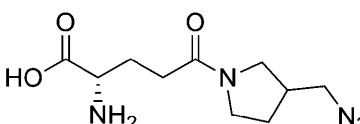
20



(25)

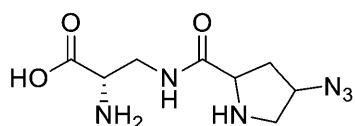


(26)

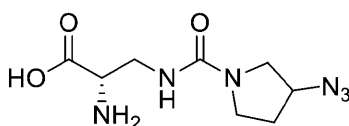


(27)

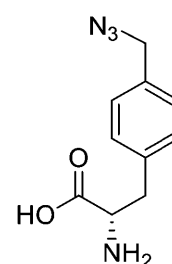
30



(28)

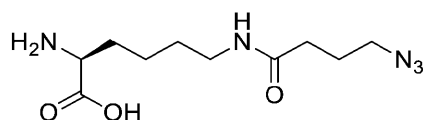


(29)



(30);

40



(40);

および

またはそれらの塩からなる群から選択される。そのような非天然アミノ酸は、塩の形態であってもよく、または非天然アミノ酸ポリペプチド、ポリマー、ポリサッカリド、もしくはポリヌクレオチドに組み込まれていてもよく、任意選択により翻訳後修飾されていてもよい。

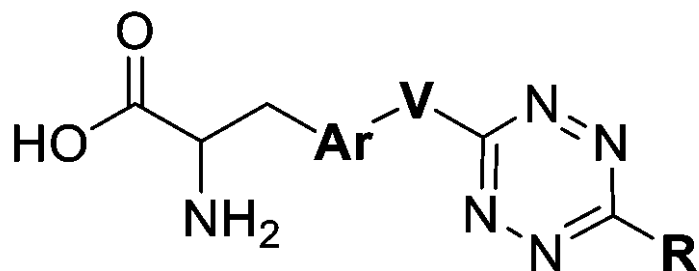
【 0 5 3 8 】

50

[00450] ある特定の実施形態では、修飾アミノ酸は、式 I :

【 0 5 3 9 】

【 化 1 1 5 】



10

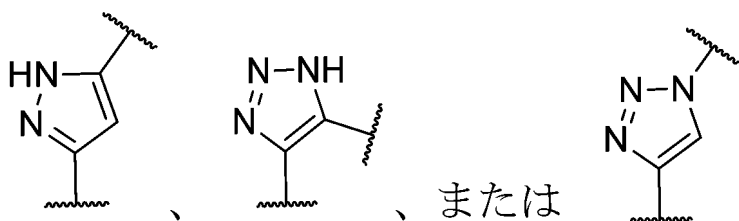
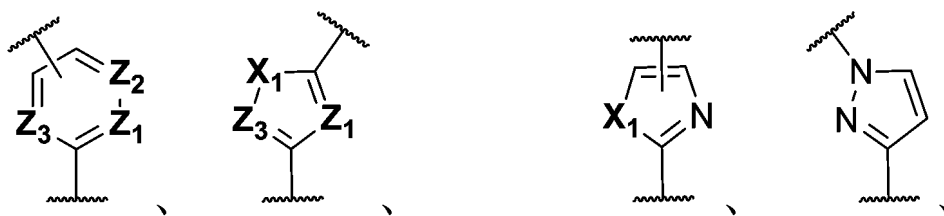
## 式 I

によるものまたはその塩であり、式中、Ar は、

【 0 5 4 0 】

【 化 1 1 6 】

20



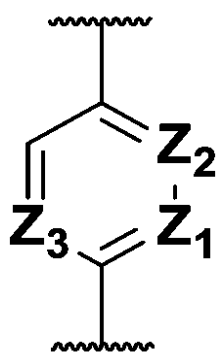
30

であり、V は、単結合、低級アルキレン、または  $-W_1-W_2-$  であり、 $W_1$  および  $W_2$  の一方は存在しないかまたは低級アルキレンであり、他方は、 $-NH-$ 、 $-O-$ 、または  $-S-$  であり、各  $X_1$  は、独立して、 $-NH-$ 、 $-O-$ 、または  $-S-$  であり、 $Z_1$ 、 $Z_2$ 、および  $Z_3$  の 1 つは  $-CH-$  または  $-N-$  であり、 $Z_1$ 、 $Z_2$ 、および  $Z_3$  の他のものは、各々独立して  $-CH-$  であり、R は低級アルキルである。ある特定の実施形態では、Ar は、

40

【 0 5 4 1 】

【化 1 1 7】



10

であり、Vは - NH - であり、その場合、 $Z_1$ 、 $Z_2$ 、および $Z_3$ の1つは - N - である。ある特定の実施形態では、Vは、単結合、- NH -、または - CH<sub>2</sub>NH - である。

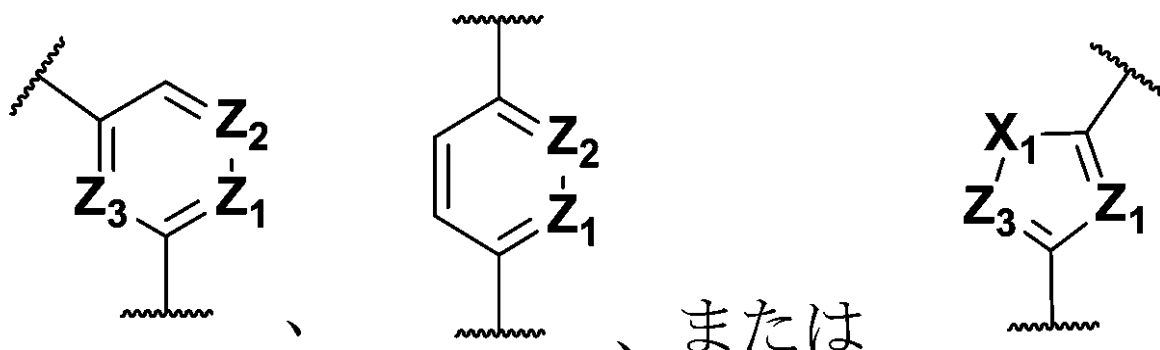
【 0 5 4 2】

[00451] ある特定の実施形態では、Arは、

【 0 5 4 3】

【化 1 1 8】

20



、または

30

であり、 $Z_1$ 、 $Z_2$ 、 $Z_3$ 、および $X_1$ は、式Iの状況で規定されている通りである。この段落によるある特定の実施形態では、Vは - W<sub>1</sub> - W<sub>2</sub> - であり、W<sub>1</sub>およびW<sub>2</sub>の一方は存在しないかまたは - CH<sub>2</sub> - であり、他方は、- NH -、- O -、または - S - である。この段落によるある特定の実施形態では、Vは、単結合、- NH -、または - CH<sub>2</sub>NH - である。この段落によるある特定の実施形態では、 $Z_1$ はNである。この段落によるある特定の実施形態では、 $Z_2$ はNである。この段落によるある特定の実施形態では、 $Z_3$ はNである。この段落によるある特定の実施形態では、 $Z_1$ はCHであり、 $Z_3$ はCHであり、 $X_1$ はSである。

【 0 5 4 4】

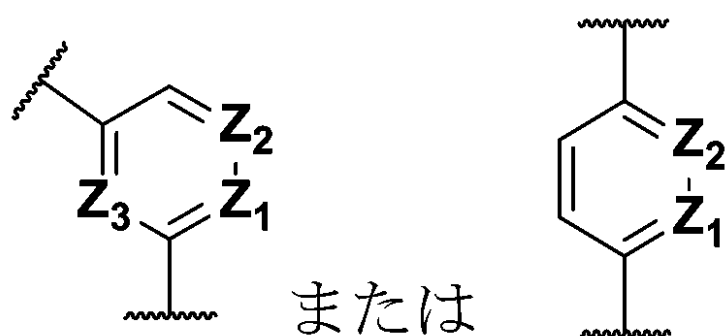
40

[00452] ある特定の実施形態では、Arは、

【 0 5 4 5】



【化 1 1 9】



10

であり、 $Z_1$ 、 $Z_2$ 、および $Z_3$ は、式 I の状況で規定されている通りである。この段落によるある特定の実施形態では、 $V$ は $-W_1-W_2-$ であり、 $W_1$ および $W_2$ の一方は存在しないかまたは $-CH_2-$ であり、他方は、 $-NH-$ 、 $-O-$ 、または $-S-$ である。この段落によるある特定の実施形態では、 $V$ は、単結合、 $-NH-$ 、または $-CH_2NH-$ である。この段落によるある特定の実施形態では、 $Z_1$ はNである。この段落によるある特定の実施形態では、 $Z_2$ はNである。この段落によるある特定の実施形態では、 $Z_3$ はNである。

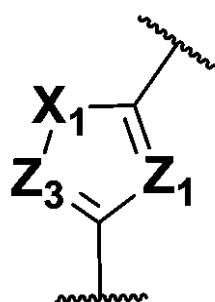
20

【0546】

[00453] ある特定の実施形態では、 $A_r$ は、

【0547】

【化 1 2 0】



30

であり、 $Z_1$ 、 $Z_3$ 、および $X_1$ は、式 I の状況で規定されている通りである。この段落によるある特定の実施形態では、 $V$ は $-W_1-W_2-$ であり、 $W_1$ および $W_2$ の一方は存在しないかまたは $-CH_2-$ であり、他方は、 $-NH-$ 、 $-O-$ 、または $-S-$ である。この段落によるある特定の実施形態では、 $V$ は、単結合、 $-NH-$ 、または $-CH_2NH-$ である。この段落によるある特定の実施形態では、 $Z_1$ はNある。この段落によるある特定の実施形態では、 $Z_3$ はNである。この段落によるある特定の実施形態では、 $Z_1$ はCHであり、 $Z_3$ はCHであり、 $X_1$ はSである。

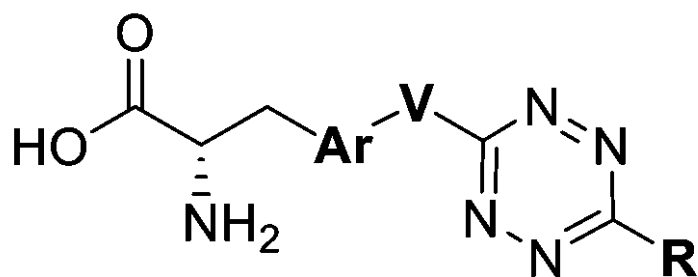
40

【0548】

[00454] ある特定の実施形態では、修飾アミノ酸は、式 I a :

【0549】

【化 1 2 1】



10

式 Ia

によるものであり、式中、Ar、V、およびRは、式Iの状況にて規定されている。

【0550】

[00455] 一実施形態では、式IおよびIaのいずれかの化合物が提供され、式中、Vは単結合である。別の実施形態では、式IおよびIaのいずれかの化合物が提供され、式中、Vは-NH-である。別の実施形態では、式IおよびIaのいずれかの化合物が提供され、式中、Vは-CH<sub>2</sub>NH-である。

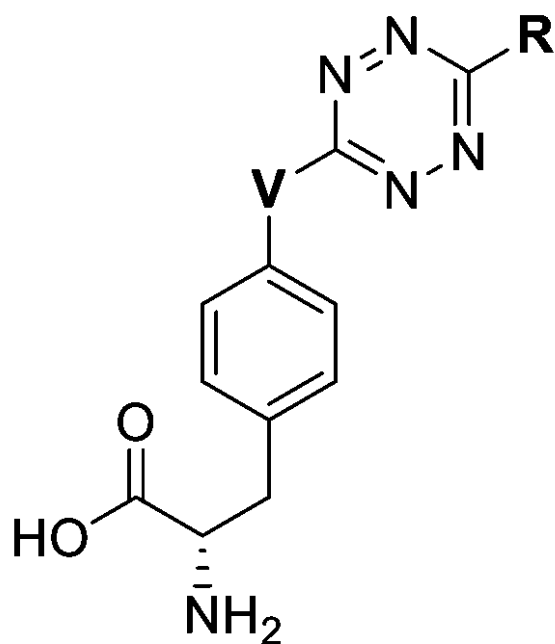
20

【0551】

[00456] ある特定の実施形態では、修飾アミノ酸は、式II：

【0552】

【化 1 2 2】



30

40

式 II

によるものまたはその塩であり、式中、VおよびRは、式Iで規定されている通りである。この段落によるある特定の実施形態では、Vは-W<sub>1</sub>-W<sub>2</sub>-であり、W<sub>1</sub>およびW<sub>2</sub>

50

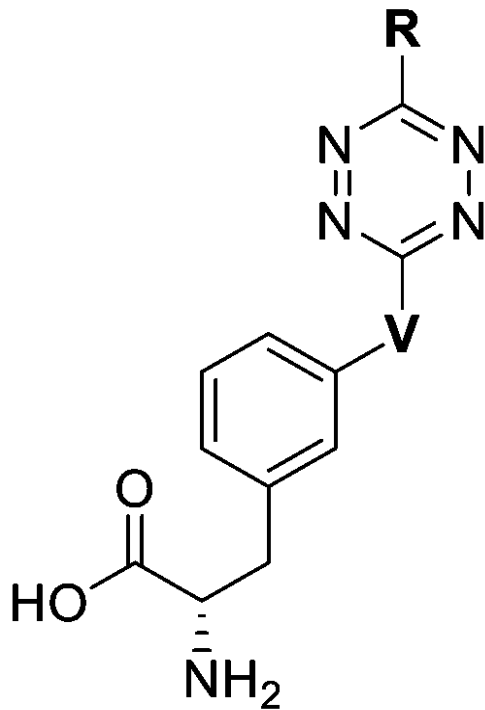
の一方は存在しないかまたは -CH<sub>2</sub>- であり、他方は、-NH-、-O-、または -S- である。ある特定の実施形態では、V は、単結合、-NH-、または -CH<sub>2</sub>NH- である。ある特定の実施形態では、V は単結合または -CH<sub>2</sub>NH- であり、R はメチルである。

【0553】

[00457] ある特定の実施形態では、修飾アミノ酸は、式 III :

【0554】

【化123】



式 III

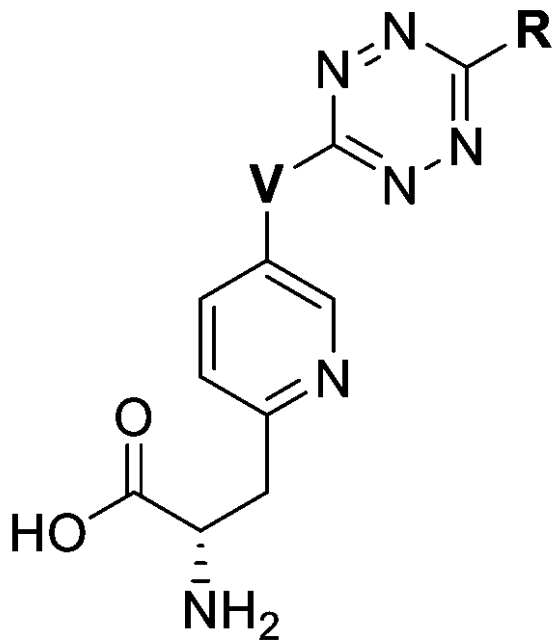
によるものまたはその塩であり、式中、V および R は、式 I に規定されている通りである。この段落によるある特定の実施形態では、V は -W<sub>1</sub>-W<sub>2</sub>- であり、W<sub>1</sub> および W<sub>2</sub> の一方は存在しないかまたは -CH<sub>2</sub>- であり、他方は、-NH-、-O-、または -S- である。ある特定の実施形態では、V は、単結合、-NH-、または -CH<sub>2</sub>NH- である。ある特定の実施形態では、V は、単結合、-NH-、または -CH<sub>2</sub>NH- であり、R はメチルである。

【0555】

[00458] ある特定の実施形態では、修飾アミノ酸は、式 IV :

【0556】

【化 1 2 4】



10

20

## 式 IV

によるものまたはその塩であり、式中、VおよびRは、式Iに規定されている通りである。この段落によるある特定の実施形態では、Vは $-W_1-W_2-$ であり、 $W_1$ および $W_2$ の一方は存在しないかまたは $-CH_2-$ であり、他方は、 $-NH-$ 、 $-O-$ 、または $-S-$ である。ある特定の実施形態では、Vは、単結合、 $-NH-$ 、または $-CH_2NH-$ である。ある特定の実施形態では、Vは、単結合、 $-NH-$ 、または $-CH_2NH-$ であり、Rはメチルである。

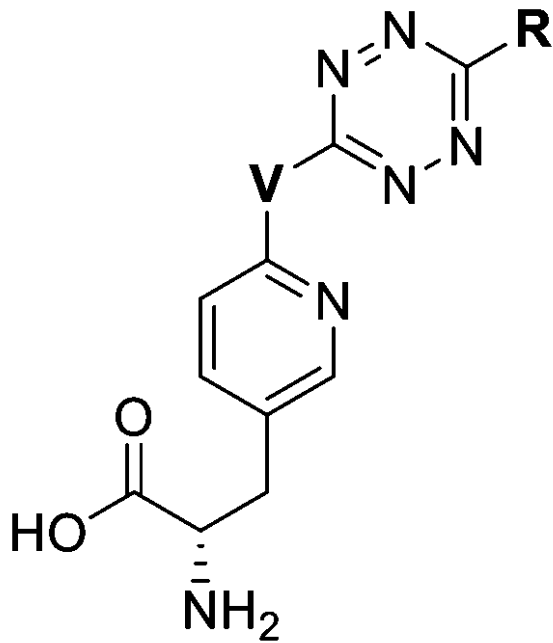
30

【0557】

[00459] ある特定の実施形態では、修飾アミノ酸は、式V：

【0558】

【化 1 2 5】



10

20

## 式 V

によるものまたはその塩であり、式中、VおよびRは、式Iに規定されている通りである。この段落によるある特定の実施形態では、Vは $-W_1-W_2-$ であり、 $W_1$ および $W_2$ の一方は存在しないかまたは $-CH_2-$ であり、他方は、 $-NH-$ 、 $-O-$ 、または $-S-$ である。ある特定の実施形態では、Vは、単結合、 $-NH-$ 、または $-CH_2NH-$ である。ある特定の実施形態では、Vは、単結合、 $-NH-$ 、または $-CH_2NH-$ であり、Rはメチルである。

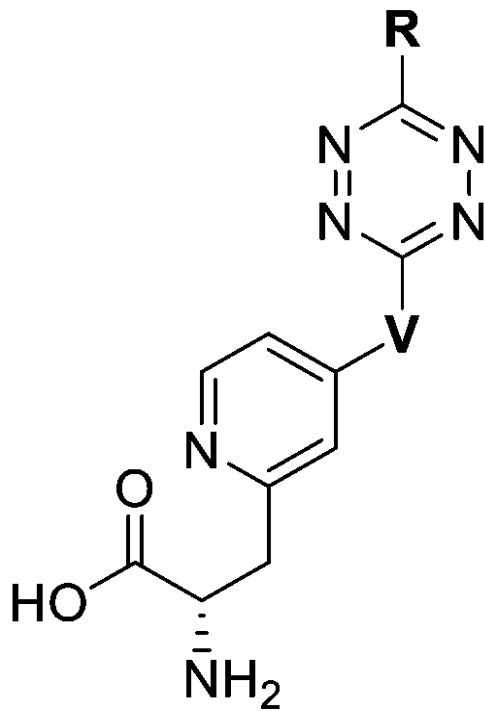
30

【0559】

[00460] ある特定の実施形態では、修飾アミノ酸は、式VI：

【0560】

【化 1 2 6】



10

20

## 式 VI

によるものまたはその塩であり、式中、VおよびRは、式Iに規定されている通りである。この段落によるある特定の実施形態では、Vは $-W_1-W_2-$ であり、 $W_1$ および $W_2$ の一方は存在しないかまたは $-CH_2-$ であり、他方は、 $-NH-$ 、 $-O-$ 、または $-S-$ である。ある特定の実施形態では、Vは、単結合、 $-NH-$ 、または $-CH_2NH-$ である。ある特定の実施形態では、Vは、単結合、 $-NH-$ 、または $-CH_2NH-$ であり、Rはメチルである。

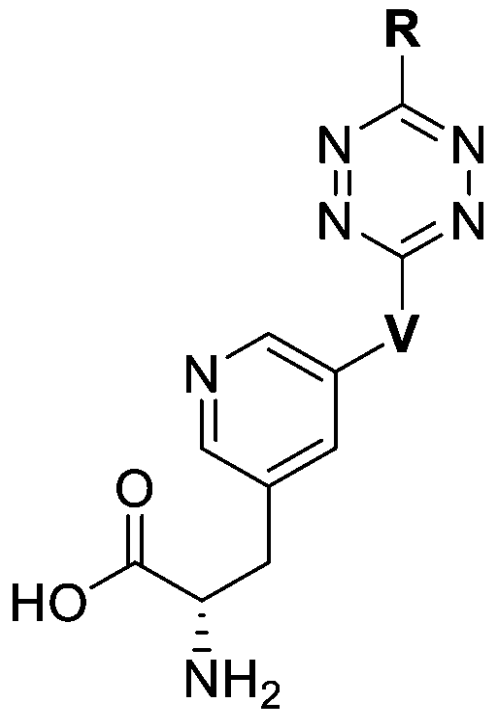
30

【0561】

[00461] ある特定の実施形態では、修飾アミノ酸は、式VII:

【0562】

【化 1 2 7】



10

20

## 式 VII

によるものまたはその塩であり、式中、VおよびRは、式Iに規定されている通りである。この段落によるある特定の実施形態では、Vは $-W_1-W_2-$ であり、 $W_1$ および $W_2$ の一方は存在しないかまたは $-CH_2-$ であり、他方は、 $-NH-$ 、 $-O-$ 、または $-S-$ である。ある特定の実施形態では、Vは、単結合、 $-NH-$ 、または $-CH_2NH-$ である。ある特定の実施形態では、Vは、単結合、 $-NH-$ 、または $-CH_2NH-$ であり、Rはメチルである。

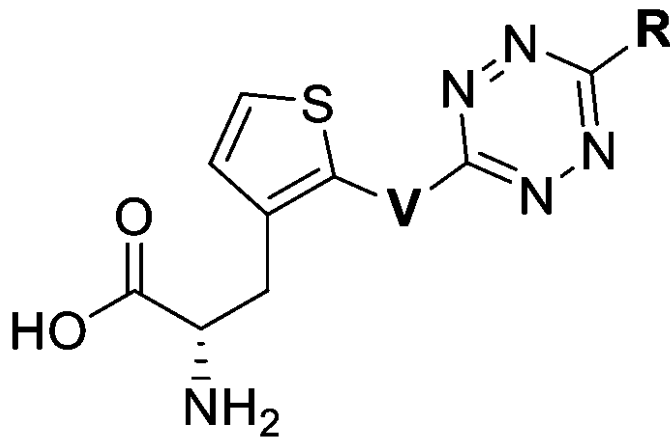
30

【0563】

[00462] ある特定の実施形態では、修飾アミノ酸は、式VIIII:

【0564】

【化 1 2 8】



10

## 式 VIII

によるものまたはその塩であり、式中、VおよびRは、式Iに規定されている通りである。この段落によるある特定の実施形態では、Vは $-W_1-W_2-$ であり、 $W_1$ および $W_2$ の一方は存在しないかまたは $-CH_2-$ であり、他方は、 $-NH-$ 、 $-O-$ 、または $-S-$ である。ある特定の実施形態では、Vは、単結合、 $-NH-$ 、または $-CH_2NH-$ である。ある特定の実施形態では、Vは、単結合、 $-NH-$ 、または $-CH_2NH-$ であり、Rはメチルである。

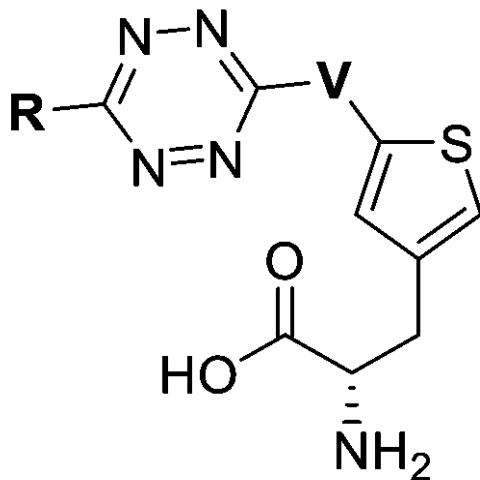
20

【0565】

[00463] ある特定の実施形態では、修飾アミノ酸は、式IX：

【0566】

【化 1 2 9】



30

40

## 式 IX

によるものまたはその塩であり、式中、VおよびRは、式Iに規定されている通りである。この段落によるある特定の実施形態では、Vは $-W_1-W_2-$ であり、 $W_1$ および $W_2$

50



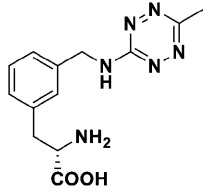
の一方は存在しないかまたは -CH<sub>2</sub>- であり、他方は、-NH-、-O-、または -S- である。ある特定の実施形態では、Vは、単結合、-NH-、または -CH<sub>2</sub>NH- である。ある特定の実施形態では、Vは、単結合、-NH-、または -CH<sub>2</sub>NH- であり、Rはメチルである。

【0567】

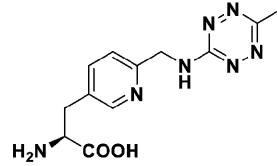
[00464] ある特定の実施形態では、修飾アミノ酸は、式51~62：

【0568】

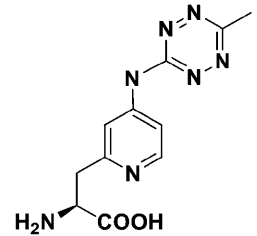
【化130】



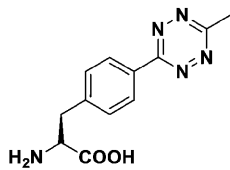
(51)



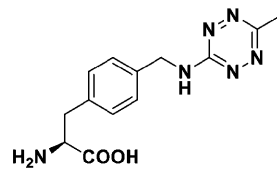
(52)



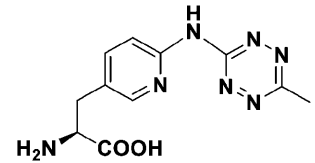
(53)



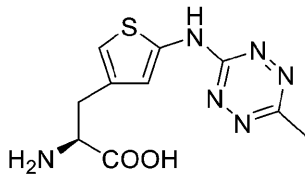
(54)



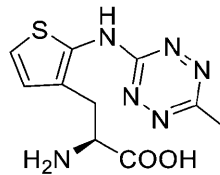
(55)



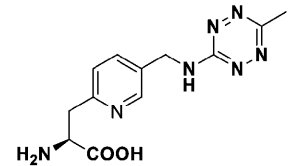
(56)



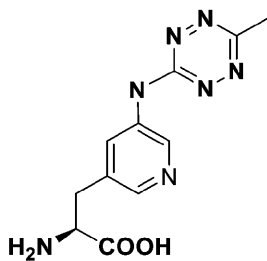
(57)



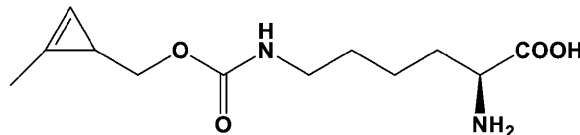
(58)



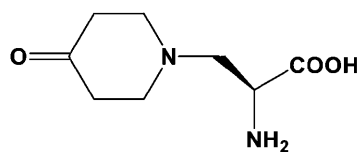
(59)



(60)



(61)



(62)

10

20

30

40

50

のいずれかによるものまたはそれらの塩である。

【0569】

[00465] ある特定の実施形態では、非天然アミノ酸は、上記の化合物30、53、56、59、60、61、および62からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、非天然アミノ酸は化合物30である。ある特定の実施形態では、非天然アミノ酸は化合物56である。一部の実施形態では、非天然アミノ酸は化合物61である。一部の実施形態では、非天然アミノ酸は化合物62である。

【0570】

12. 抗体コンジュゲートの調製

12.1. 抗原調製

[00466] 抗体の単離に使用されるFOLR1タンパク質は、インタクトFOLR1であってもよくまたはFOLR1の断片であってもよい。インタクトFOLR1タンパク質またはFOLR1の断片は、単離されたタンパク質の形態であってもよく、または細胞により発現されたタンパク質の形態であってもよい。抗体を生成するために有用なFOLR1の他の形態は、当業者であれば明らかであろう。

【0571】

12.2. モノクローナル抗体

[00467] モノクローナル抗体は、例えば、Kohler et al., Nature, 1975, 256: 495-497 (その全体が参照により組み込まれる)により最初に記載されたハイブリドーマ法を使用して、および/または組換えDNA法(例えば、米国特許第4,816,567号を参照。この文献は、その全体が参照により組み込まれる)により得ることができる。また、モノクローナル抗体は、例えば、ファージまたは酵母に基づくライブラリーを使用して得ることができる。例えば、米国特許第8,258,082号および第8,691,730号を参照。これらの文献の各々は、その全体が参照により組み込まれる。

【0572】

[00468] ハイブリドーマ法では、マウスまたは他の適切な宿主動物を免疫して、免疫化に使用されるタンパク質と特異的に結合することになる抗体を産生するかまたは産生することが可能なリンパ球を誘発させる。その代わりに、リンパ球をin vitroで免疫してもよい。次いで、リンパ球を、ポリエチレングリコールなどの好適な融合剤を使用して骨髄腫細胞と融合させて、ハイブリドーマ細胞を形成する。Goding J.W., Monoclonal Antibodies: Principles and Practice 3<sup>rd</sup> ed. (1986) Academic Press, San Diego, CAを参照。この文献は、その全体が参照により組み込まれる。

【0573】

[00469] ハイブリドーマ細胞を、未融合の親骨髄腫細胞の成長または生存を阻害する1つまたは複数の物質を含む好適な培養培地に播種して成長させる。例えば、親骨髄腫細胞が酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HGPRTまたはHPRT)を欠如する場合、ハイブリドーマの培地は、典型的には、ヒポキサンチン、アミノプテリン、およびチミジンを含むことになり(HAT培地)、こうした物質は、HGPRT欠損細胞の成長を防止する。

【0574】

[00470] 有用な骨髄腫細胞は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定した高レベルの産生を支援し、HAT培地の有無などの培地条件に感受性であるものである。これらの中で、好ましい骨髄腫細胞株は、MOP-21およびMC-11マウス腫瘍(Salk Institute Cell Distribution Center、サンディエゴ、カリフォルニア州から入手可能)、ならびにSP-2またはX63-Ag8-653細胞(アメリカ培養細胞系統保存機関、ロックビル、メリーランド州から入手可能)に由来するものなどのマウス骨髄腫株である。ヒトモノクローナル抗体の産生には、ヒト骨髄腫細胞株およびマウス-ヒトヘテロ骨髄腫細胞株も記載されている。例えば、Kozbor, J. Immunol

10

20

30

40

50

、1984、133:3001を参照。この文献は、その全体が参照により組み込まれる。

【0575】

[00471] 所望の特異性、親和性、および/または生物学的活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞を特定したら、選択されたクローンを、限界希釈手順によりサブクローニングし、標準的な方法により成長させてもよい。上記のGodingを参照。この目的に好適な培地としては、例えば、D-MEMまたはRPMI-1640培地が挙げられる。加えて、ハイブリドーマ細胞を、動物の腹水腫瘍として*in vivo*で成長させてもよい。

【0576】

[00472] モノクローナル抗体をコードするDNAは、従来の手順を使用して（例えば、モノクローナル抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子と特異的に結合することが可能なオリゴヌクレオチドプローブを使用することにより）容易に単離および配列決定することができる。したがって、ハイブリドーマ細胞は、所望の特性を有する抗体をコードするDNAの有用な供給源としての役目を果たすことができる。単離したら、DNAを発現ベクターに配置し、次いでそれを、細菌（例えば大腸菌（*E. coli*））、酵母（例えば、サッカロミセス（*Saccharomyces*）またはピキア種（*Pichia sp.*））、COS細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、またはトランスフェクトしなければ抗体を産生しない骨髄腫細胞などの宿主細胞へとトランスフェクトして、モノクローナル抗体を産生させる。

【0577】

12.3. ヒト化抗体

[00473] ヒト化抗体は、非ヒトモノクローナル抗体の構造部分のほとんどまたはすべてを、対応するヒト抗体配列で置き換えることにより生成することができる。その結果、抗原特異的可変性部分、すなわちCDRのみが非ヒト配列で構成されているハイブリッド分子が生成される。ヒト化抗体を得るための方法としては、例えば、以下の文献に記載されているものが挙げられる：Winter and Milstein, *Nature*, 1991, 349:293-299; Rader et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 1998, 95:8910-8915; Steinberger et al., *J. Biol. Chem.*, 2000, 275:36073-36078; Queen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86:10029-10033; ならびに米国特許第5,585,089号、第5,693,761号、第5,693,762号、および第6,180,370号。これらの文献の各々は、その全体が参照により組み込まれる。

【0578】

12.4. ヒト抗体

[00474] ヒト抗体は、当技術分野で公知の様々な技術により、例えば、トランスジェニック動物（例えば、ヒト化マウス）を使用することにより生成することができる。例えば、Jakobovits et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1993, 90:2551; Jakobovits et al., *Nature*, 1993, 362:255-258; Bruggermann et al., *Year in Immuno*, 1993, 7:33; ならびに米国特許第5,591,669号、第5,589,369号、および第5,545,807号を参照。これらの文献の各々は、その全体が参照により組み込まれる。また、ヒト抗体は、ファージディスプレイライブラリーから導出することができる（例えば、Hoogenboom et al., *J. Mol. Biol.*, 1991, 227:381-388; Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 1991, 222:581-597; ならびに米国特許第5,565,332号および第5,573,905号を参照。これらの文献の各々は、その全体が参照により組み込まれる）。また、ヒト抗体は、*in vitro*活性化B細胞により生成することができる（例えば、米国特許第5,567,610号および第5,229,275号を参照。これらの文献の各々は、その全体が参照により組み込

10

20

30

40

50

まれる)。また、ヒト抗体は、酵母に基づくライブラリーから導出することができる（例えば、米国特許第 8,691,730 号を参照。この文献は、その全体が参照により組み込まれる）。

【0579】

#### 12.5. コンジュゲーション

[00475] 抗体コンジュゲートは、標準的技術により調製することができる。ある特定の実施形態では、抗体とペイロードとの結合を形成するのに最適な条件下で、抗体をペイロード前駆体と接触させて、抗体 - ペイロードコンジュゲートを形成する。ある特定の実施形態では、抗体とリンカーとの結合を形成するのに最適な条件下で、抗体をリンカー前駆体と接触させる。得られた抗体 - リンカーを、抗体 - リンカーとペイロードとの結合を形成するのに最適な条件下でペイロード前駆体と接触させて、抗体 - リンカー - ペイロードコンジュゲートを形成する。ある特定の実施形態では、ペイロードとリンカーとの結合を形成するのに最適な条件下で、ペイロード前駆体をリンカー前駆体と接触させる。得られたペイロード - リンカーを、ペイロード - リンカーと抗体との結合を形成するのに最適な条件下で抗体と接触させて、抗体 - リンカー - ペイロードコンジュゲートを形成する。抗体コンジュゲートを調製するための最適なリンカーは、本明細書に開示されており、コンジュゲーションの代表的な条件は、下記の実施例に記載されている。

10

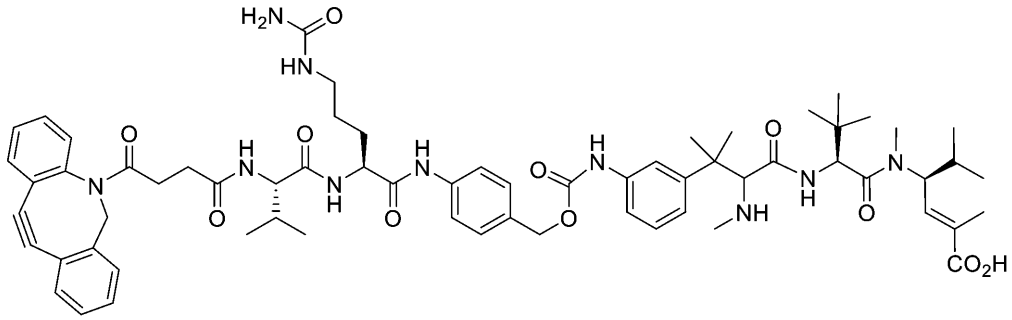
【0580】

[00476] 一部の実施形態では、抗 F O L R 1 コンジュゲートは、本明細書に開示されている通りの抗 F O L R 1 抗体を、(A) ~ (L) :

20

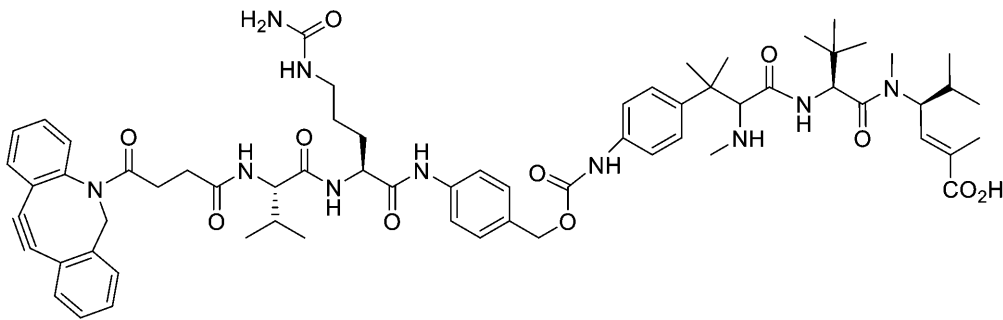
【0581】

【化 1 3 1 - 1】



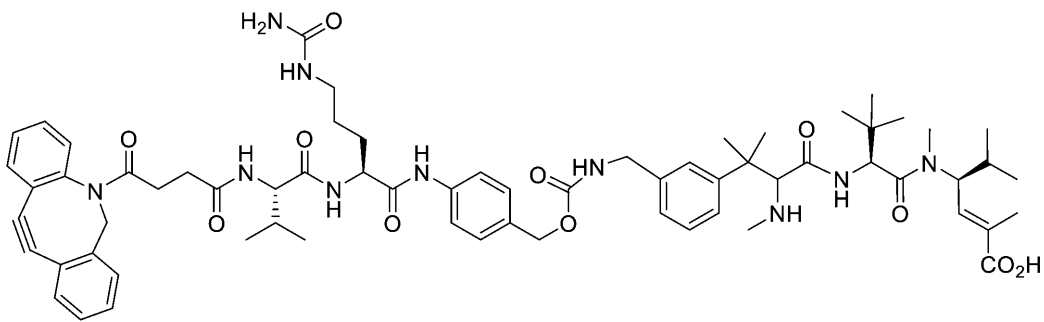
10

(A)



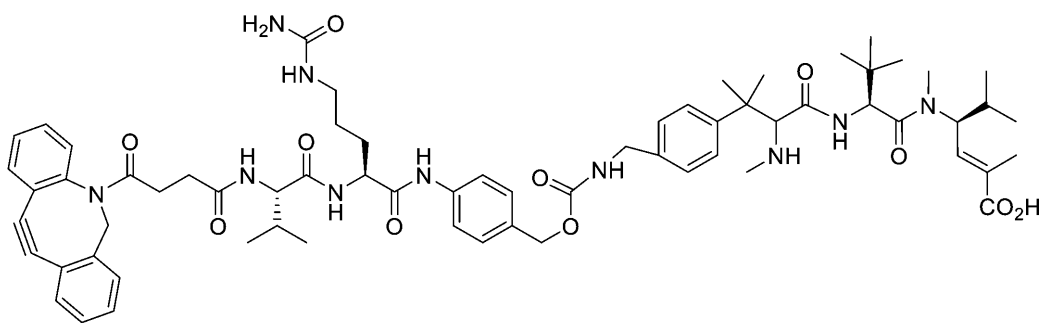
20

(B)



30

(C)

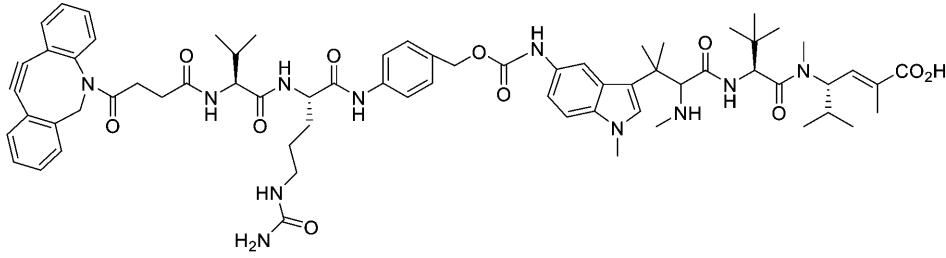


40

(D)

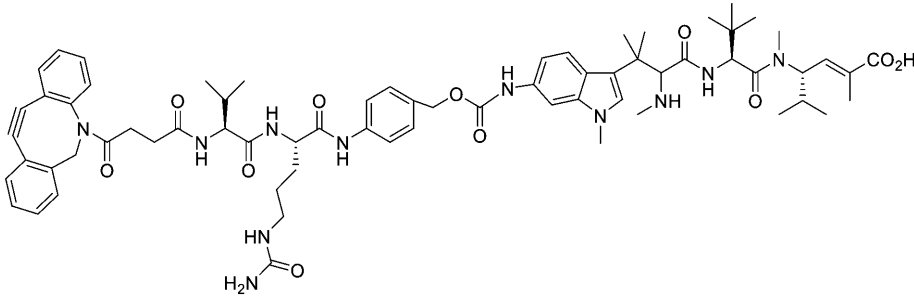
【 0 5 8 2 】

【化 1 3 1 - 2】



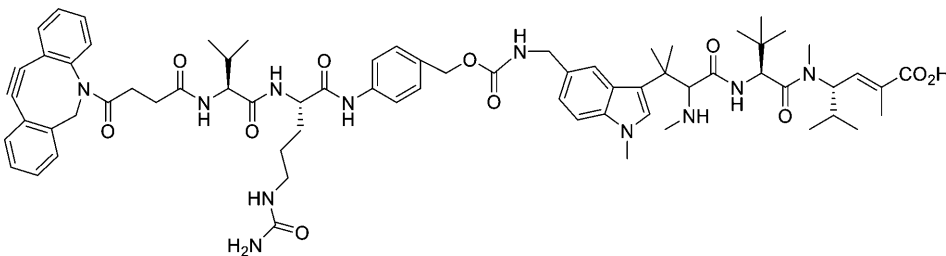
(E)

10



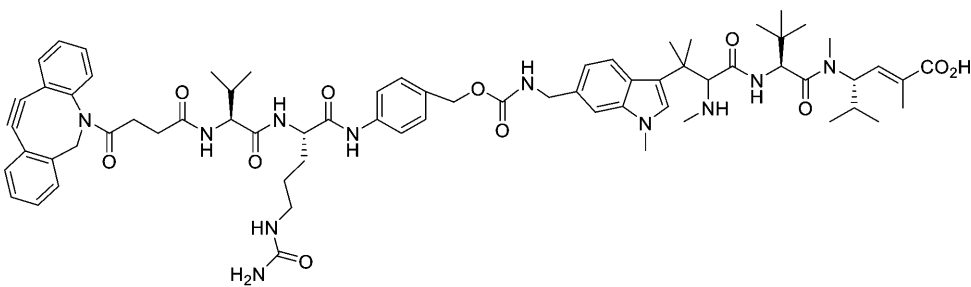
(F)

20



(G)

30

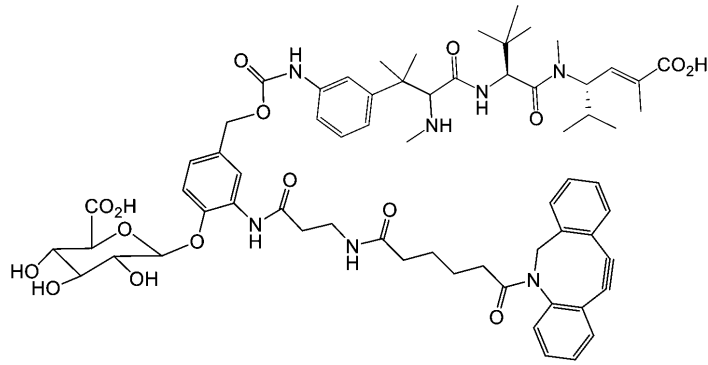


(H)

40

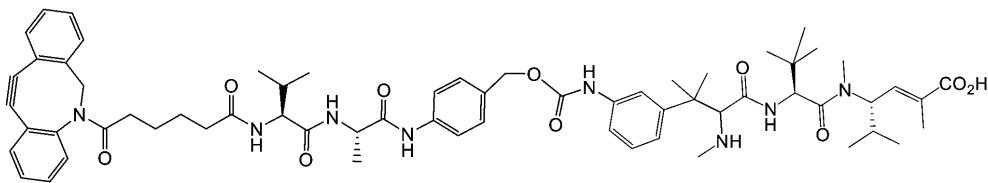
【 0 5 8 3 】

## 【化 1 3 1 - 3】



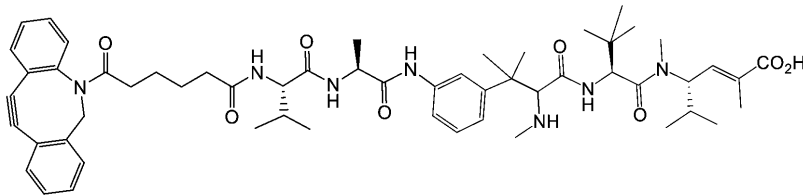
(I)

10



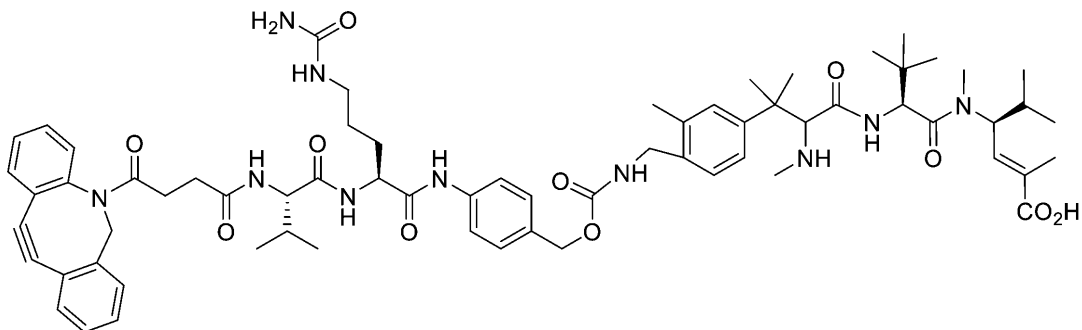
(J)

20



(K)

30



(L)

40

のいずれかの構造を有するリンカー前駆体と接触させることにより調製される。

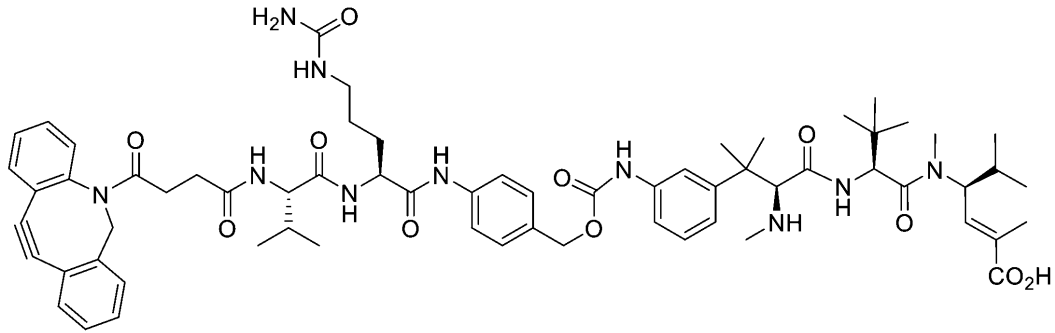
【0584】

[00477] 一部の実施形態では、(A)~(L)として特定されているリンカー前駆体の立体化学は、下記に示されている式(A1)~(L1)および(A2)~(L2)に示されている通り、各キラル中心が左から右へとRおよびS表記で特定されている。

【0585】

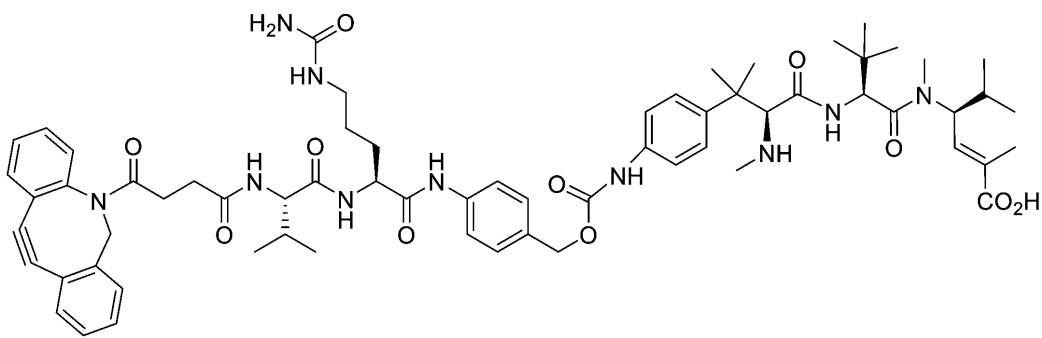
50

【化 1 3 2 - 1】



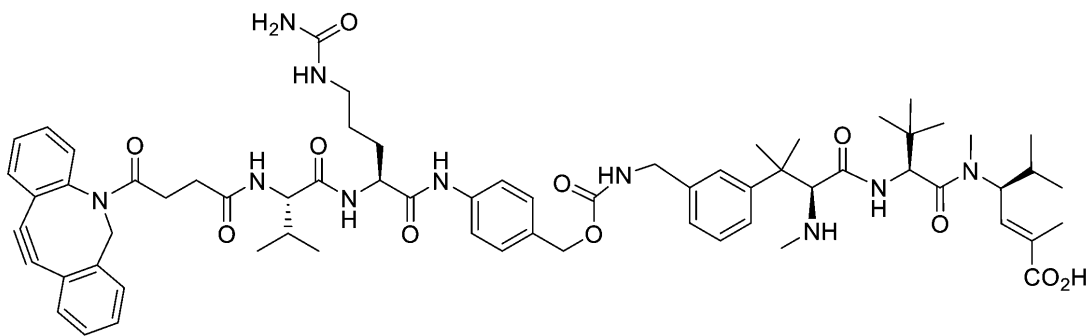
10

(A1)



20

(B1)



30

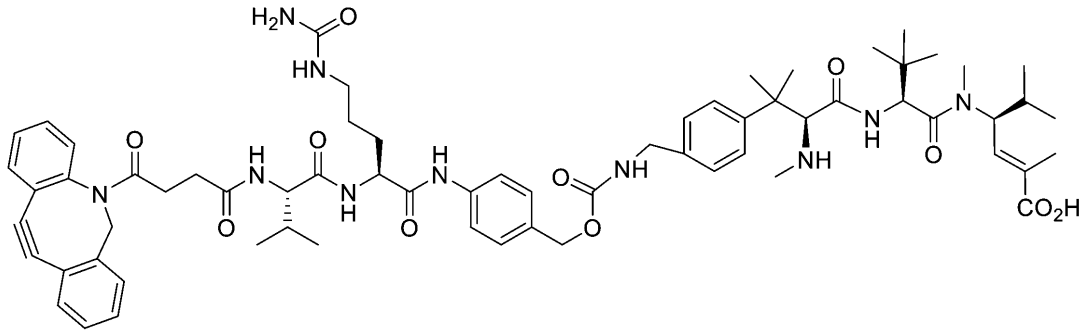
(C1)

【 0 5 8 6 】

40

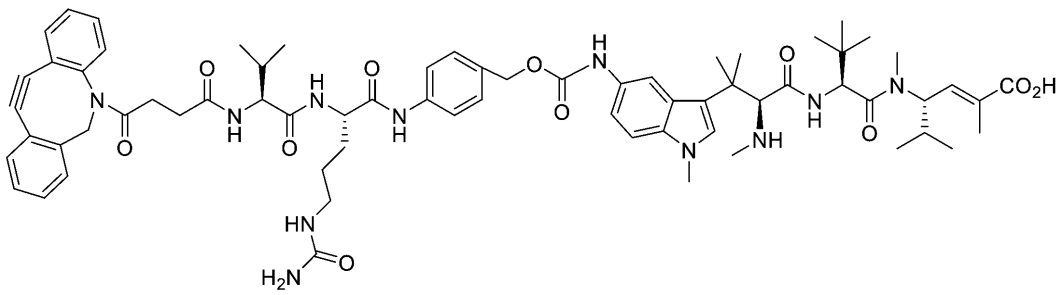


【化 1 3 2 - 2】



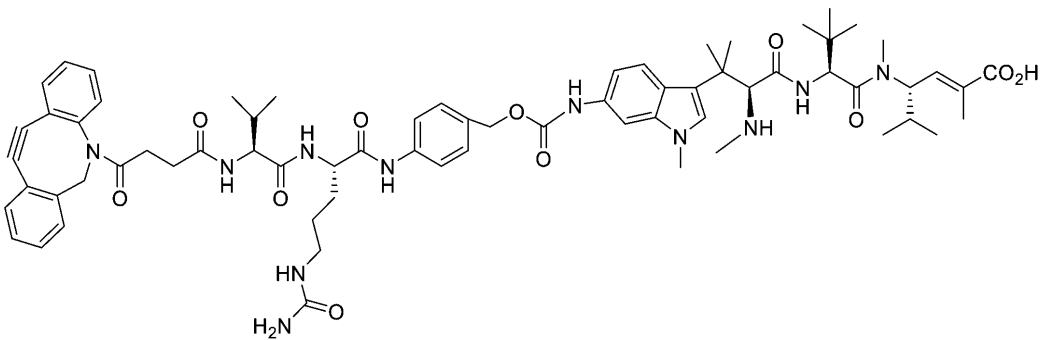
10

(D1)



20

(E1)



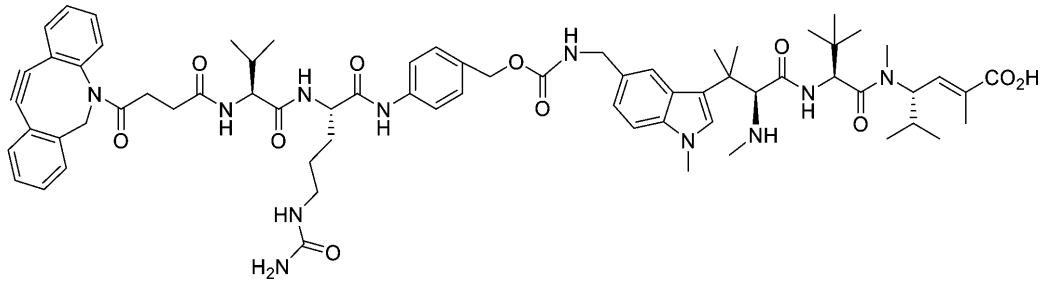
30

(F1)

【 0 5 8 7 】

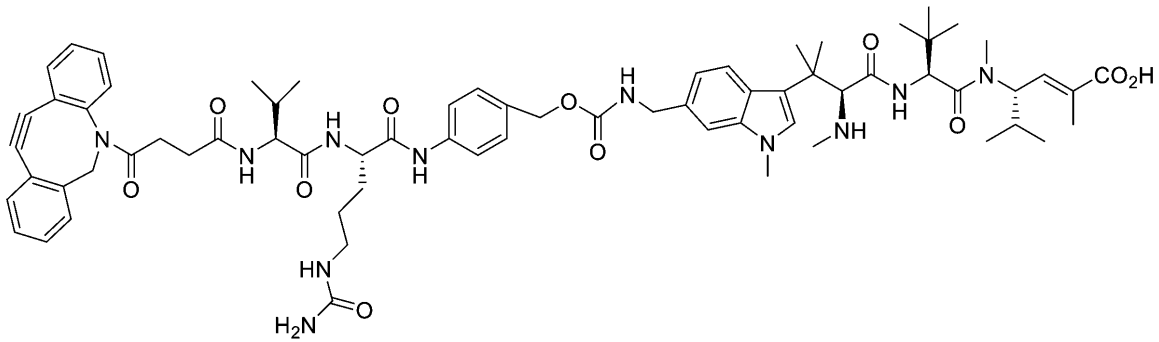
40

【化 1 3 2 - 3】



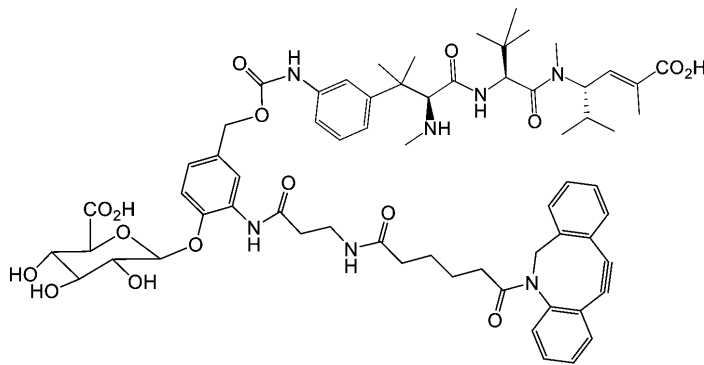
(G1)

10



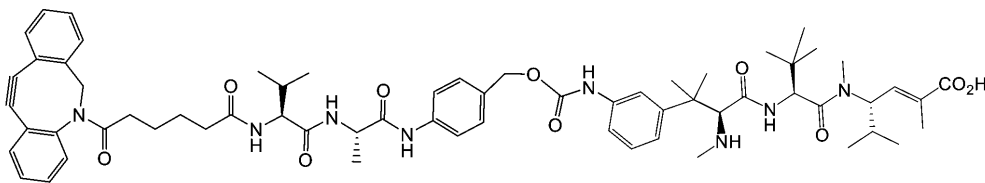
(H1)

20



(I1)

30

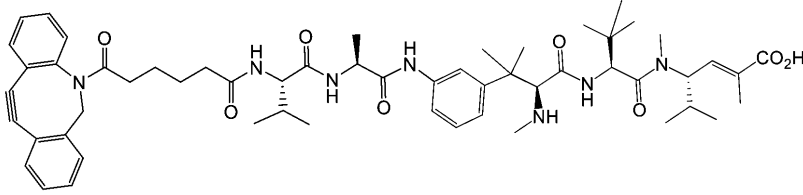


(J1)

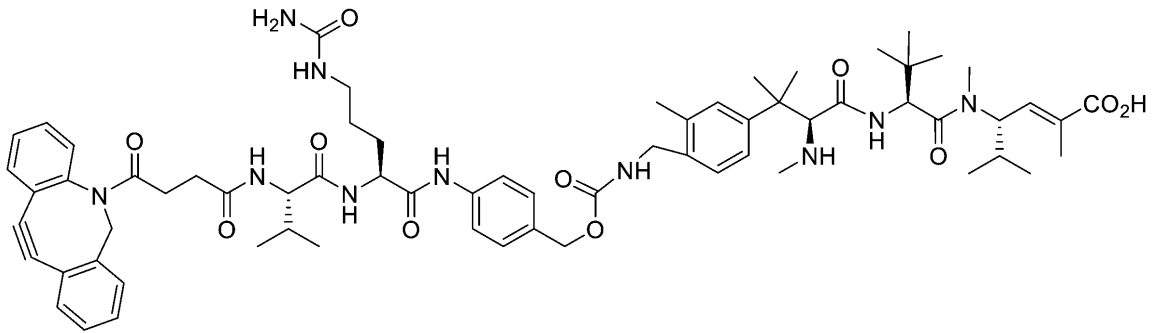
40

【 0 5 8 8 】

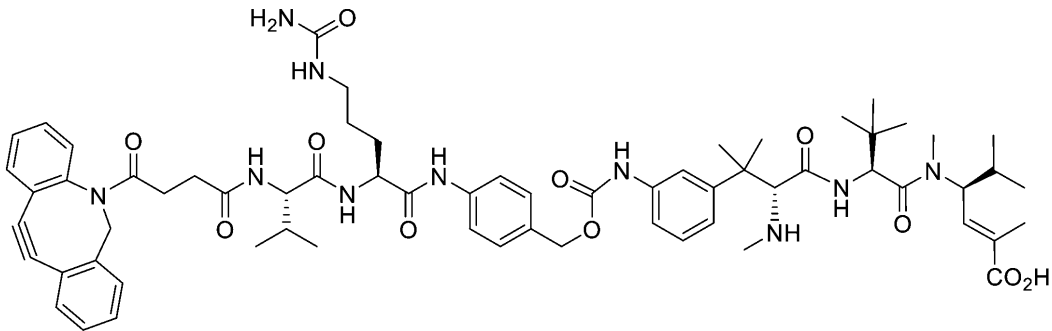
【化 1 3 2 - 4】



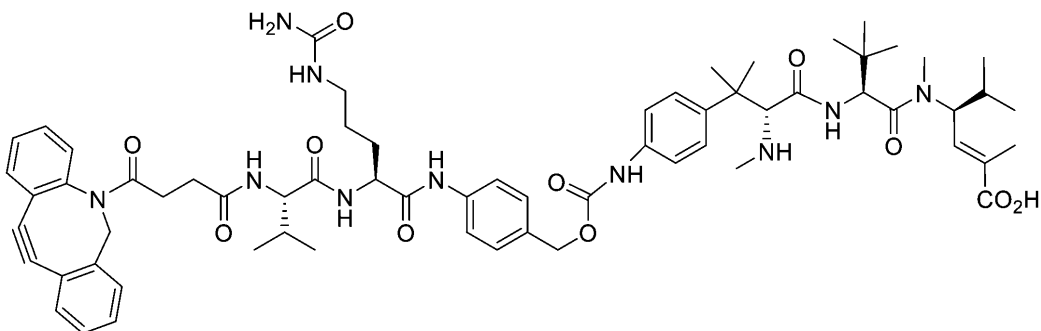
(K1)



(L1)



(A2)



(B2)

【 0 5 8 9】

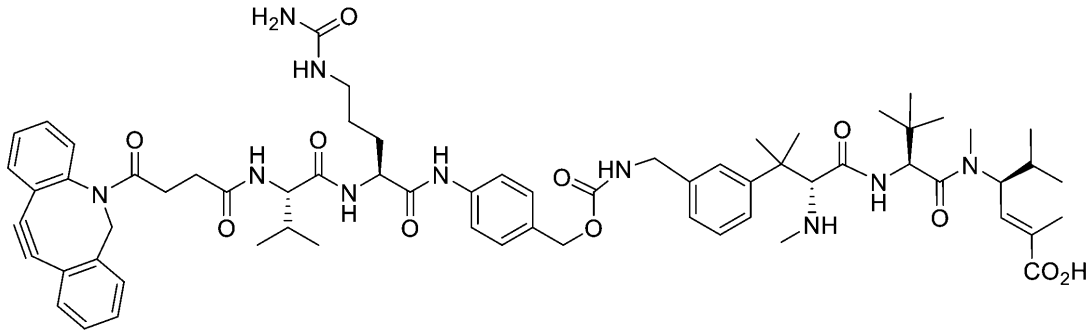
10

20

30

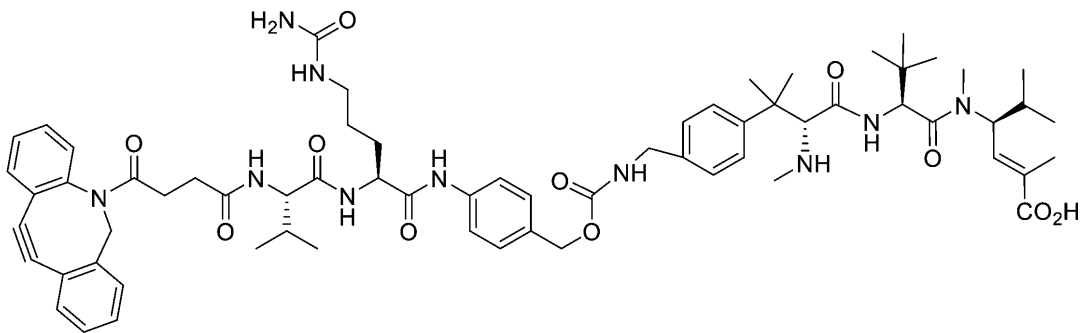
40

【化 1 3 2 - 5】



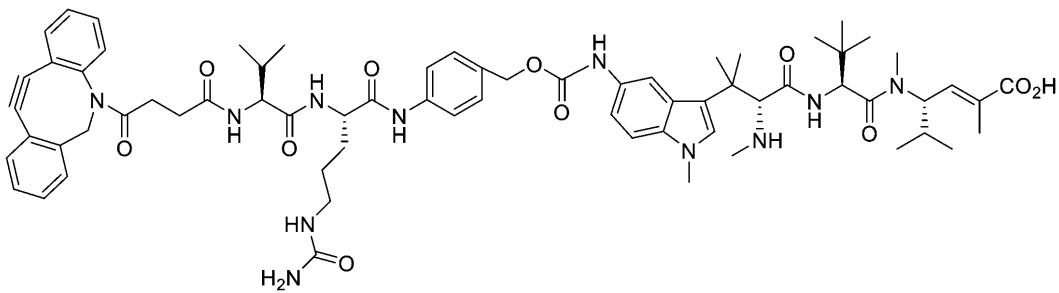
10

(C2)



20

(D2)



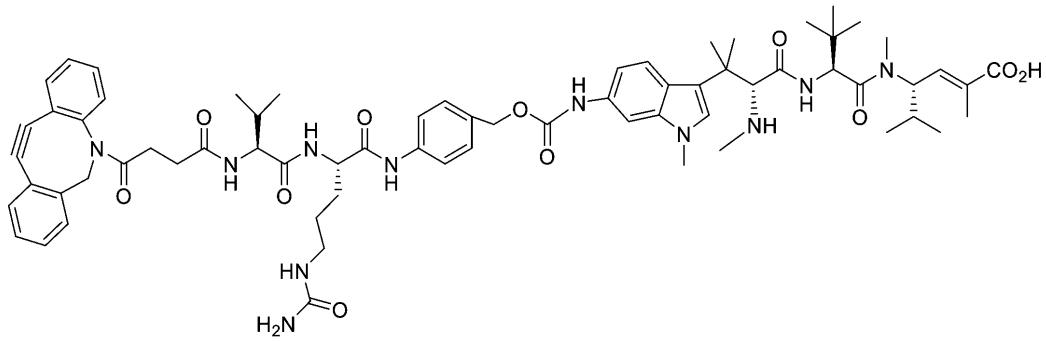
30

(E2)

【 0 5 9 0 】

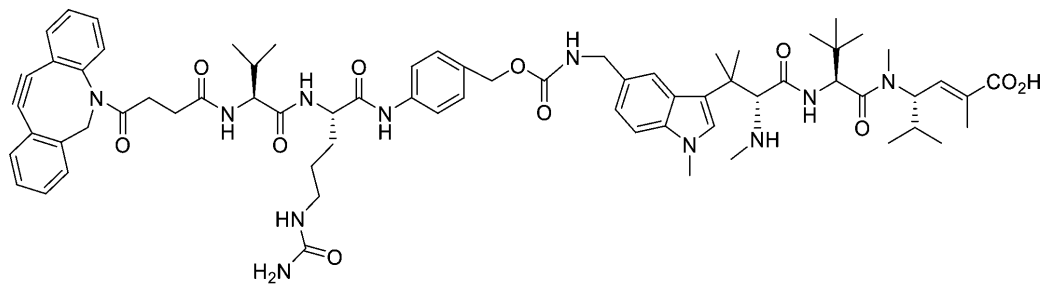
40

【化 1 3 2 - 6】



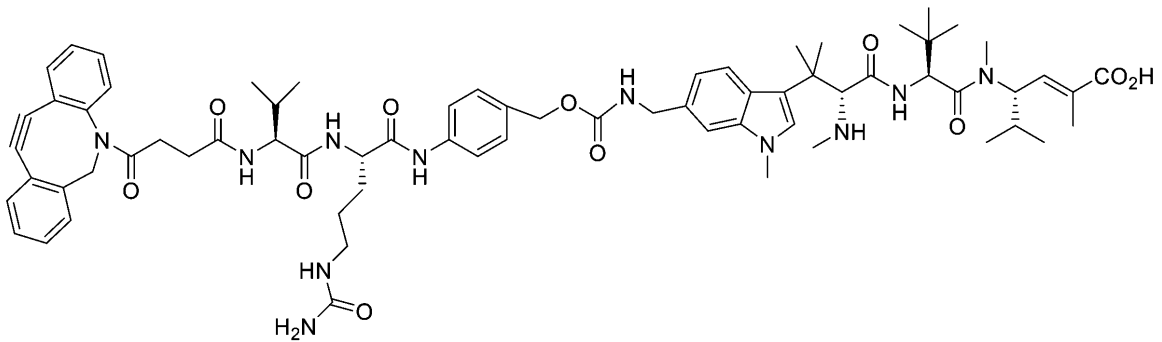
10

(F2)



20

(G2)



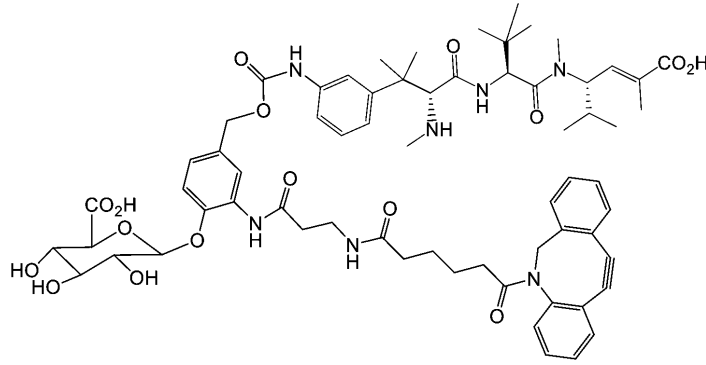
30

(H2)

【 0 5 9 1】

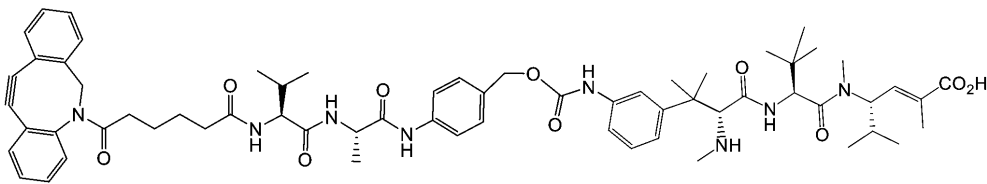
40

【化 1 3 2 - 7】



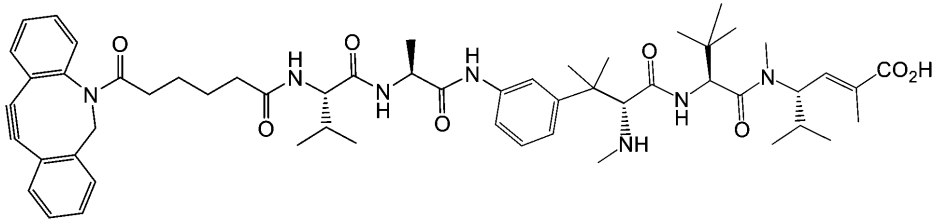
(I2)

10



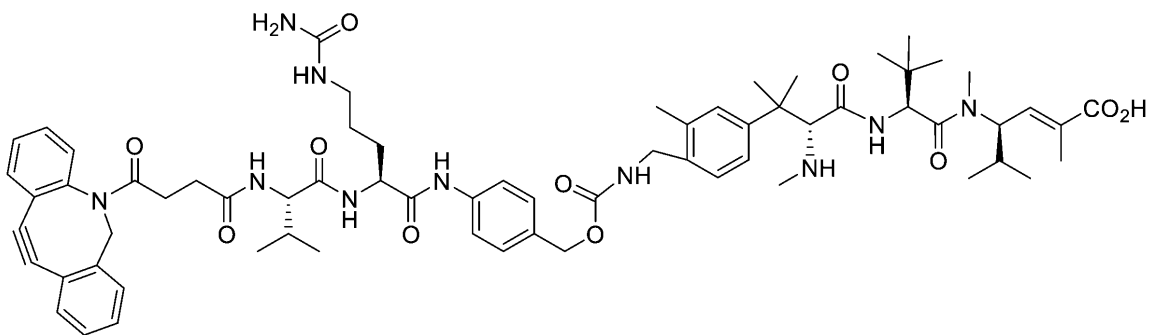
(J2)

20



(K2)

30



(L2)

40

【 0 5 9 2 】

1 3 . ベクター、宿主細胞、および組換え法

[00478] また、実施形態は、抗 F O L R 1 抗体をコードする単離された核酸、核酸を含むベクターおよび宿主細胞、ならびに抗体を産生するための組換え技法の提供に関する。

【 0 5 9 3 】

[00479] 抗体を組換え産生するためには、抗体をコードする核酸を単離し、さらなるクローニング（つまり、DNAの増幅）または発現のために複製可能なベクターに挿入して

50

もよい。一部の態様では、核酸は、例えば、米国特許第 5, 204, 244 号に記載の通り相同組換えにより産生することができる。この文献は、その全体が参照により組み込まれる。

【0594】

[00480] 多くの異なるベクターが当技術分野で公知である。ベクター成分は、一般に、これらに限定されないが、例えば、米国特許第 5, 534, 615 号に記載のような、シグナル配列、複製起点、1つまたは複数のマーカー遺伝子、エンハンサーエレメント、プロモーター、および転写終結配列の1つまたは複数を含む。この文献は、その全体が参照により組み込まれる。

【0595】

[00481] 好適な宿主細胞の例示的な例が下記に提供されている。こうした宿主細胞は、限定を意図したものではない。

【0596】

[00482] 好適な宿主細胞としては、任意の原核生物（例えば、細菌）細胞、下等真核生物（例えば、酵母）細胞、または高等真核生物（例えば、哺乳動物）細胞が挙げられる。好適な原核生物としては、グラム陰性生物またはグラム陽性生物などの真性細菌、例えば、エシェリヒア属（*Escherichia*）（大腸菌（*E. coli*））、エンテロバクター属（*Enterobacter*）、エルウィニア属（*Erwinia*）、クレブシエラ属（*Klebsiella*）、プロテウス属（*Proteus*）、サルモネラ属（*Salmonella*）（*S. チフィムリウム*（*S. typhimurium*））、セラチア属（*Serratia*）（*S. マルセスカンス*（*S. marcescans*））、シゲラ属（*Shigella*）、パチルス属（*Bacilli*）（*B. スブチリス*（*B. subtilis*）および *B. リケニフォルミス*（*B. licheniformis*））、シュードモナス属（*Pseudomonas*）（*P. エルギノーザ*（*P. aeruginosa*））、およびストレプトミセス属（*Streptomyces*）などの腸内細菌科が挙げられる。1つの有用な大腸菌クローニング宿主は、大腸菌 294 であるが、大腸菌 B、大腸菌 X 1776、および大腸菌 W 3110 などの他の菌株も好適である。

【0597】

[00483] 原核生物に加えて、糸状菌または酵母などの真核微生物も、抗 FOLR1 抗体をコードするベクターの好適なクローニング宿主または発現宿主である。サッカロミセス・セレビスエ（*Saccharomyces cerevisiae*）、すなわち一般的なパン酵母は、広く使用されている下等真核生物宿主微生物である。しかしながら、スポドプテラ・フルギペルダ（*Spodoptera frugiperda*）（例えば、SF9）、シゾサッカロミセス・ボンベ（*Schizosaccharomyces pombe*）、クリベロミセス属（*Kluyveromyces*）（*K. ラクティス*（*K. lactis*）、*K. フラジリス*（*K. fragilis*）、*K. ブルガリカス*（*K. bulgaricus*）*K. ウィッカラムイ*（*K. wickerhamii*）、*K. ワルチイ*（*K. waltii*）、*K. ドロソフィラルム*（*K. drosophilum*）、*K. テルモトレランス*（*K. thermotolerans*）、および *K. マルキシアヌス*（*K. marxianus*））、ヤロウイア属（*Yarrowia*）、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）、カンジダ属（*Candida*）（*C. アルビカンス*（*C. albicans*））、トリコデルマ・リーシア（*Trichoderma reesei*）、アカパンカビ（*Neurospora crassa*）、スクワンニオミセス属（*Schwanniomyces*）（*S. オクシデンタリス*（*S. occidentalis*））、ならびに例えばペニシリウム属（*Penicillium*）、トリポクラジウム属（*Tolyposcladium*）、およびアスペルギルス属（*Aspergillus*）（*A. ニデュランス*（*A. nidulans*）および *A. ニガー*（*A. niger*））などの糸状菌などの、多くの他の属、種、および菌株が、利用可能であり、有用である。

【0598】

[00484] 有用な哺乳動物宿主細胞としては、COS-7 細胞、HEK 293 細胞、ベビーハムスター腎臓（BHK）細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）、マウスセルトリ細胞、およびアフリカミドリザル腎臓細胞（VERO-76）などが挙げられる。

【0599】

[00485] 本発明の抗 FOLR1 抗体を産生するために使用される宿主細胞は、様々な培地で培養することができる。例えば、ハム F 10、最小必須培地（MEM）、RPMI - 1640、およびダルベッコ変法イーグル培地（DMEM）などの市販培地が、宿主細胞の培養

10

20

30

40

50

に好適である。加えて、Ham et al., Meth. Enz., 1979, 58: 44; Barnes et al., Anal. Biochem., 1980, 102: 255; ならびに米国特許第4,767,704号、第4,657,866号、第4,927,762号、第4,560,655号、および第5,122,469号、またはWO 90/03430およびWO 87/00195に記載の培地のいずれかを使用することができる。上述の文献の各々は、その全体が参照により組み込まれる。

【0600】

[00486] こうした培地はいずれも、ホルモンおよび/または他の成長因子(インスリン、トランスフェリン、または上皮成長因子など)、塩(塩化ナトリウム、カルシウム、マグネシウム、およびリン酸塩など)、緩衝液(HEPESなど)、ヌクレオチド(アデノシンおよびチミジンなど)、抗生物質、微量元素(通常は、マイクロモル範囲の終濃度で存在する無機化合物であると規定される)、およびグルコースまたは等価なエネルギー源で、必要に応じて補完されていてもよい。また、任意の他の必要な補完剤が適切な濃度で含まれていてもよく、適切な濃度は、当業者に公知であろう。

10

【0601】

[00487] 温度およびpHなどの培養条件は、発現のために選択した宿主細胞で以前に使用されているものであり、当業者であれば明白であろう。

【0602】

[00488] 組換え技法を使用する場合、抗体は、細胞内で、ペリプラズム空間で、産生させてもよく、または培地へと直接分泌させてもよい。抗体を細胞内で産生させる場合、最初の工程として、粒子状残屑を、宿主細胞または溶解断片のいずれかに関わらず、例えば遠心分離または限外濾過により除去する。例えば、Carterら(Bio/Technology, 1992, 10:163-167)には、大腸菌のペリプラズム空間へと分泌される抗体を単離するための手順が記載されている。手短かに言えば、細胞ペーストを、酢酸ナトリウム(pH 3.5)、EDTA、およびフェニルメチルスルホニルフルオリド(PMSF)の存在下で約30分間にわたって解凍する。細胞残屑は、遠心分離により除去することができる。

20

【0603】

[00489] 一部の実施形態では、抗体は、無細胞系で産生される。一部の態様では、無細胞系は、Yin et al., mAbs, 2012, 4:217-225に記載のような、in vitro転写および翻訳系である。この文献は、その全体が参照により組み込まれる。一部の態様では、無細胞系では、真核細胞からまたは原核細胞からの無細胞抽出物が使用される。一部の態様では、原核細胞は大腸菌である。抗体の無細胞発現は、例えば、抗体が不溶性凝集体として細胞内に蓄積する場合、またはペリプラズム発現からの収量が低い場合に有用であり得る。無細胞系で産生される抗体は、細胞の供給源に応じて非グリコシル化されている場合がある。

30

【0604】

[00490] 抗体が培地へと分泌される場合、そのような発現系に由来する上清は、一般にまず、市販のタンパク質濃縮フィルター、例えば、Amicon(登録商標)またはMillipore(登録商標)Pellicon(登録商標)限外濾過ユニットを使用して濃縮される。上述の工程のいずれかには、タンパク質分解を阻害するためにPMSFなどのプロテアーゼ阻害剤が含まれていてもよく、偶発的な夾雑物の成長を防止するために抗生物質が含まれていてもよい。

40

【0605】

[00491] 細胞から調製された抗体組成物は、例えば、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、および親和性クロマトグラフィーを使用して精製することができる。親和性クロマトグラフィーは、特に有用な精製技法である。親和性リガンドとしてのプロテインAの適合性は、抗体に存在する任意の免疫グロブリンFcドメインの種類およびアイソタイプに依存する。プロテインAは、ヒト 1、 2、または 4重鎖に基づく抗体の精製に使用することができる(Lindmark et al., J. Immunol. Meth., 1983, 62:1-13。この文献は、その全体が参照により組み込まれる)。プロテインGは、すべて

50



のマウスアイソタイプおよびヒト 3 に有用である (Guss et al., EMBO J., 1986, 5:15 67-1575. この文献は、その全体が参照により組み込まれる)。

【0606】

[00492] 親和性リガンドが付着されているマトリックスは、ほとんどの場合でアガロースであるが、他のマトリックスも利用可能である。細孔制御ガラスまたはポリ(スチレンジビニル)ベンゼンなどの機械的に安定なマトリックスは、アガロースで達成することができるものよりも速い流量および短い処理時間を可能にする。抗体が C<sub>H</sub>3 ドメインを含む場合、Baker Bond ABX (登録商標) レジンが精製に有用である。

【0607】

[00493] イオン交換カラムでの分画、エタノール沈殿、逆相 HPLC、シリカでのクロマトグラフィー、ヘパリン Sepharose (登録商標) でのクロマトグラフィー、クロマトフォーカシング、SDS-PAGE、および硫酸アンモニウム沈殿など、タンパク質精製の他の技法も利用可能であり、当業者であれば適用することができる。

10

【0608】

[00494] 任意の予備精製工程に続いて、目的の抗体および夾雑物を含む混合物を、一般には低塩濃度(例えば、約 0 ~ 約 0.25 M の塩)で実施され、pH が約 2.5 から約 4.5 の間の溶出緩衝液が使用される低 pH 疎水性相互作用クロマトグラフィーに供してもよい。

【0609】

14. 医薬組成物および投与の方法

20

[00495] 本明細書で提供される抗体コンジュゲートは、当技術分野で利用可能な方法および本明細書で開示される方法を使用して医薬組成物へと製剤化することができる。本明細書で提供される抗体コンジュゲートはいずれも、適切な医薬組成物で提供することができる。好適な投与の経路で投与することができる。

【0610】

[00496] 本明細書で提供される方法は、本明細書で提供される少なくとも 1 つの抗体コンジュゲートおよび 1 つまたは複数の適合性で薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を投与することを包含する。この状況では、「薬学的に許容される」という用語は、連邦政府もしくは州政府の規制当局により承認されているか、または動物、より具体的にはヒトでの使用が米国薬局方もしくは他の一般に認識されている薬局方のリストにあることを意味する。「担体」という用語は、療法剤がそれらと共に投与される希釈剤、アジュバント(例えば、フロイントアジュバント(完全および不完全)、賦形剤、またはビヒクルを含む)のような医薬担体は、落花生油、大豆油、鉱物油、およびゴマ油などの、石油、動物、植物、または合成由来のものを含む、水および油などの無菌液体であってもよい。医薬組成物を静脈内投与する場合、担体として水を使用することができる。特に注射用溶液の場合、生理食塩溶液ならびに水性デキストロスおよびグリセロール溶液も、液体担体として使用することができる。適切な医薬担体の例は、Martin, E. W., Remington's Pharmaceutical Sciences に記載されている。

30

【0611】

40

[00497] 臨床業務では、本明細書で提供される医薬組成物または抗体コンジュゲートは、当技術分野で公知の任意の経路で投与することができる。代表的な投与の経路としては、これらに限定されないが、吸入、動脈内、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、経鼻、非経口、肺内、および皮下経路が挙げられる。一部の実施形態では、本明細書で提供される医薬組成物または抗体コンジュゲートは、非経口投与される。

【0612】

[00498] 非経口投与用の組成物は、乳濁液であってもよくまたは無菌溶液であってもよい。非経口組成物は、例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油、および注射用有機エステル(例えば、オレイン酸エチル)を含んでいてもよい。また、こうした組成物は、湿潤剤、等張剤、乳化剤、分散剤、および安定化剤を含んでいてもよ

50

い。滅菌は、幾つかの様式で、例えば、細菌学的フィルターを使用して、放射線により、または加熱により実施することができる。また、非経口組成物は、使用時に無菌水または任意の他の注射用無菌媒体に溶解することができる無菌固形組成物の形態に調製することができる。

【0613】

[00499] 一部の実施形態では、本明細書で提供される組成物は、医薬組成物または単一単位剤形である。本明細書で提供される医薬組成物および単一単位剤形は、予防または治療有効量の1つまたは複数の予防用または治療用抗体コンジュゲートを含む。

【0614】

[00500] 医薬組成物は、1つまたは複数の医薬賦形剤を含んでいてもよい。任意の好適な医薬賦形剤を使用することができ、当業者であれば、好適な医薬賦形剤を選択することが可能である。好適な賦形剤の非限定的な例としては、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、モルト、麦芽、小麦粉、チョコク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥スキムミルク、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、およびエタノールなどが挙げられる。特定の賦形剤が医薬組成物または剤形への組込みに好適であるか否かは、剤形が対象に投与されることになる様式および剤形中にある特定の抗体を含むがこれらに限定されない、当技術分野で周知の様々な要因に依存する。また、組成物または単一単位剤形は、必要に応じて、少量の湿潤剤または乳化剤またはpH緩衝剤を含んでいてもよい。したがって、下記で提供される医薬賦形剤は、例示のためであり、限定ではない。追加の医薬賦形剤としては、例えば、Handbook of Pharmaceutical Excipients, Rowe et al. (Eds.) 6th Ed. (2009)に記載のものが挙げられる。この文献は、その全体が参照により組み込まれる。

10

20

【0615】

[00501] 一部の実施形態では、医薬組成物は消泡剤を含む。任意の好適な消泡剤を使用することができる。一部の態様では、消泡剤は、アルコール、エーテル、油、ワックス、シリコン、界面活性剤、およびそれらの組合せから選択される。一部の態様では、消泡剤は、鉱物油、植物油、エチレンビスステアラミド、パラフィンワックス、エステルワックス、脂肪アルコールワックス、長鎖脂肪アルコール、脂肪酸石鹸、脂肪酸エステル、ケイ素グリコール (silicon glycol)、フルオロシリコン、ポリエチレングリコール - ポリプロピレングリコールコポリマー、ポリジメチルシロキサン - 二酸化ケイ素、エーテル、オクチルアルコール、カプリルアルコール、トリオレイン酸ソルビタン、エチルアルコール、2 - エチルヘキサノール、ジメチコン、オレイルアルコール、シメチコン、およびそれらの組合せから選択される。

30

【0616】

[00502] 一部の実施形態では、医薬組成物は共溶媒を含む。共溶媒の例示的な例としては、エタノール、ポリ(エチレングリコール)グリコール、ブチレングリコール、ジメチルアセトアミド、グリセリン、およびプロピレングリコールが挙げられる。

【0617】

[00503] 一部の実施形態では、医薬組成物は緩衝剤を含む。緩衝液剤の例示的な例としては、酢酸塩、ホウ酸塩、炭酸塩、乳酸塩、リンゴ酸塩、リン酸塩、クエン酸塩、水酸化物、ジエタノールアミン、モノエタノールアミン、グリシン、メチオニン、グアーガム、およびグルタミン酸ナトリウムが挙げられる。

40

【0618】

[00504] 一部の実施形態では、医薬組成物は担体または充填剤を含む。担体または充填剤の例示的な例としては、ラクトース、マルトデキストリン、マンニトール、ソルビトール、キトサン、ステアリン酸、キサンタンガム、およびグアーガムが挙げられる。

【0619】

[00505] 一部の実施形態では、医薬組成物は界面活性剤を含む。界面活性剤の例示的な例としては、d - アルファトコフェロール、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム

50

、セトリミド、塩化セチルピリジニウム、ドキュセートナトリウム、ベヘン酸グリセリル、モノオレイン酸グリセリル、ラウリン酸、マクロゴール15ヒドロキシステアレート、ミリスチルアルコール、リン脂質、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ステアリン酸ポリオキシエチレン、ポリオキシシルグリセリド、ラウリル硫酸ナトリウム、ソルビタンエステル、およびビタミンEポリエチレン(グリコール)スクシネートが挙げられる。

【0620】

[00506] 一部の実施形態では、医薬組成物は固結防止剤を含む。固結防止剤の例示的な例としては、リン酸カルシウム(三塩基性)、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、および酸化マグネシウムが挙げられる。

10

【0621】

[00507] 医薬組成物と共に使用することができる他の賦形剤としては、例えば、アルブミン、抗酸化剤、抗細菌剤、抗真菌剤、生体吸収性高分子、キレート剤、放出制御剤、希釈剤、分散剤、溶解促進剤、乳化剤、ゲル化剤、軟膏基剤、浸透促進剤、保存剤、可溶性剤、溶媒、安定化剤、および糖が挙げられる。こうした薬剤の各々の具体的な例は、例えば、*the Handbook of Pharmaceutical Excipients, Rowe et al. (Eds.) 6th Ed. (2009)*, *The Pharmaceutical Press*に記載されている。この文献は、その全体が参照により組み込まれる。

20

【0622】

[00508] 一部の実施形態では、医薬組成物は溶媒を含む。一部の態様では、溶媒は、無菌等張性生理食塩溶液またはデキストロース溶液などの生理食塩溶液である。一部の態様では、溶媒は、注射用の水である。

【0623】

[00509] 一部の実施形態では、医薬組成物は、マイクロ粒子またはナノ粒子などの粒子形態である。マイクロ粒子およびナノ粒子は、ポリマーまたは脂質などの任意の好適な材料で形成されていてもよい。一部の態様では、マイクロ粒子またはナノ粒子は、ミセル、リポソーム、またはポリマーソームである。

【0624】

[00510] 一部の実施形態では、一部の抗体は水により分解が促進される場合があるため、本明細書では、抗体コンジュゲートを含む無水医薬組成物および剤形がさらに提供される。

30

【0625】

[00511] 本明細書で提供される無水医薬組成物および剤形は、無水または低水分含有成分および低水分または低湿度条件を使用して調製することができる。製造、包装、および/または保管中に水分および/または湿気との実質的な接触が予想される場合、ラクトース、および一級または二級アミンを含む少なくとも1つの活性成分を含む医薬組成物および剤形は、無水であり得る。

【0626】

[00512] 無水医薬組成物は、その無水性が維持されるように調製および保管することができる。したがって、無水組成物は、好適な製剤キットに含めることができるように、水への曝露を防止することが知られている材料を使用して包装することができる。好適な包装の例としては、これらに限定されないが、気密封止ホイル、プラスチック、単位用量容器(例えば、バイアル)、プリスター包装、およびストリップ包装が挙げられる。

40

【0627】

[00513] 本明細書で提供される無ラクトース組成物は、当技術分野で周知であり、例えば、米国薬局方(USP)SP(XXI)/NF(XVI)にリストされている賦形剤を含んでもよい。一般に、無ラクトース組成物は、活性成分、結合剤/充填剤、および潤滑剤を、薬学的に適合性であり薬学的に許容される量で含む。代表的な無ラクトース剤形は、有効成分、微結晶性セルロース、アルファ化デンプン、およびステアリン酸マグネシウムを

50

含む。

【0628】

[00514] 抗体または抗体 - コンジュゲートが分解することになる速度を低減させる1つまたは複数の賦形剤を含む医薬組成物および剤形も提供される。本明細書では「安定剤」と呼ばれるそのような賦形剤としては、これらに限定されないが、アスコルビン酸などの抗酸化剤、pH緩衝剤、または塩緩衝剤が挙げられる。

【0629】

14.1. 非経口剤形

[00515] ある特定の実施形態では、非経口剤形が提供される。非経口剤形は、これらに限定されないが、皮下、静脈内（ボラス注射を含む）、筋肉内、および動脈内を含む種々の経路により対象に投与することができる。それらの投与は、典型的には夾雑物に対する対象の自然防御を迂回するため、非経口剤形は、典型的には、滅菌されているか、または対象に投与する前に滅菌することが可能である。非経口剤形の例としては、これらに限定されないが、そのまま注射できる溶液、注射用の薬学的に許容されるビヒクルにそのまま溶解または懸濁できる乾燥製品、そのまま注射できる懸濁液、および乳濁液が挙げられる。

10

【0630】

[00516] 非経口剤形を提供するために使用することができる好適なビヒクルは、当業者に周知である。例としては、これらに限定されないが、以下のものが挙げられる：USPの注射用水；塩化ナトリウム注射剤、リンゲル注射剤、デキストロース注射剤、デキストロースおよび塩化ナトリウム注射剤、および乳酸化リンゲル注射剤などの水性ビヒクル；エチルアルコール、ポリエチレングリコール、およびポリプロピレングリコールなどであるがこれらに限定されない水混和性ビヒクル；コーン油、綿実油、落花生油、ゴマ油、オレイン酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、および安息香酸ベンジルなどであるがこれらに限定されない非水性ビヒクル。

20

【0631】

[00517] また、本明細書で開示される抗体の1つまたは複数の溶解度を増加させる賦形剤を、非経口剤形に組み込むことができる。

【0632】

14.2. 投薬量および単位剤形

[00518] ヒト療法剤では、予防的治療であるかまたは治癒的治療であるかに応じて、ならびに治療しようとする対象の年齢、体重、状態、および対象に特有の他の要因に応じて、最も適切であると考えられる薬量を医師が決定することになる。

30

【0633】

[00519] ある特定の実施形態では、本明細書で提供される組成物は、医薬組成物または単一単位剤形である。本明細書で提供される医薬組成物および単一単位剤形は、予防または治療有効量の1つまたは複数の予防用または治療用抗体を含む。

【0634】

[00520] 障害またはその1つもしくは複数の症状の予防または治療に有効となると予想される抗体コンジュゲートまたは組成物の量は、疾患または状態の性質および重症度、ならびに抗体が投与される経路により様々と予想される。また、頻度および投薬量は、施される具体的な療法（例えば、療法剤または予防剤）、障害、疾患、または状態の重症度、投与の経路、ならびに対象の年齢、体重、応答、および過去の病歴に応じて、各対象に特有の要因により様々であろう。有効用量は、*in vitro*または動物モデル試験系から導かれる用量反応曲線から外挿することができる。

40

【0635】

[00521] ある特定の実施形態では、組成物の代表的な用量としては、対象または試料重量の1キログラム当たりミリグラム量またはマイクログラム量の抗体が挙げられる（例えば、1キログラム当たり約10マイクログラム～1キログラム当たり約50ミリグラム、1キログラム当たり約100マイクログラム～1キログラム当たり約25ミリグラム、ま

50

たは1キログラム当たり約100マイクログラム～1キログラム当たり約10ミリグラム)。ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体コンジュゲートの投薬量は、対象における障害またはその1つもしくは複数の症状を予防、治療、管理、または改善するために投与される抗体の重量に基づき、対象の体重の0.1mg/kg、1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、10mg/kg、または15mg/kgであるか、またはそれよりも多い。別の実施形態では、対象における障害またはその1つもしくは複数の症状を予防、治療、管理、または改善するために投与される、本組成物または本明細書で提供される組成物の投薬量は、0.1mg～200mg、0.1mg～100mg、0.1mg～50mg、0.1mg～25mg、0.1mg～20mg、0.1mg～15mg、0.1mg～10mg、0.1mg～7.5mg、0.1mg～5mg、0.1～2.5mg、0.25mg～20mg、0.25～15mg、0.25～12mg、0.25～10mg、0.25mg～7.5mg、0.25mg～5mg、0.25mg～2.5mg、0.5mg～20mg、0.5～15mg、0.5～12mg、0.5～10mg、0.5mg～7.5mg、0.5mg～5mg、0.5mg～2.5mg、1mg～20mg、1mg～15mg、1mg～12mg、1mg～10mg、1mg～7.5mg、1mg～5mg、または1mg～2.5mgである。

【0636】

[00522] 用量は、好適なスケジュールに従って、例えば、週に1回、2回、3回、または数回投与することができる。当業者であれば自明のことになるが、一部の 경우에는、本明細書で開示される範囲の外側にある抗体コンジュゲートの投薬量を使用する必要がある。さらに、臨床医または治療を行う医師は、対象の応答に連動して、療法を中断、調整、または終了するための方法および時期を知ることになることに留意されたい。

【0637】

[00523] 当業者であれば直ちに知ることになるが、異なる疾患および状態には、異なる治療有効量が適用可能であってもよい。同様に、そのような障害を予防、管理、治療、または改善するには十分であるが、本明細書で提供される抗体に関連付けられる有害効果を引き起こすには不十分であるかまたはそれらを低減するのに十分である量も、本明細書に記載の投薬量および投与頻度スケジュールに包含される。さらに、本明細書で提供される組成物の複数投薬量が対象に投与される場合、すべての投薬量が同じである必要はない。例えば、対象に投与される投薬量は、組成物の予防的または療法的効果を向上させるために増加させてもよく、または特定の対象が経験している1つまたは複数の副作用を低減するために減少させてもよい。

【0638】

[00524] ある特定の実施形態では、治療または予防は、本明細書で提供される抗体コンジュゲートまたは組成物の1つまたは複数の負荷用量で開始し、1つまたは複数の維持用量がそれに続いてよい。

【0639】

[00525] ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体コンジュゲートまたは組成物の用量を投与して、対象の血液中または血清中の抗体の定常状態濃度を達成することができる。定常状態濃度は、当業者に利用可能な技法に従って測定することにより決定してもよく、または身長、体重、および年齢など、対象の身体的特色に基づいてよい。

【0640】

[00526] ある特定の実施形態では、同じ組成物の投与を繰り返してもよく、投与は、少なくとも1日、2日、3日、5日、10日、15日、30日、45日、2か月、75日、3か月、または6か月間の間隔があけられていてもよい。他の実施形態では、同じ予防剤または療法剤の投与を繰り返してもよく、投与は、少なくとも1日、2日、3日、5日、10日、15日、30日、45日、2か月、75日、3か月、または6か月間の間隔があけられていてもよい。

10

20

30

40

50

## 【 0 6 4 1 】

## 1 4 . 3 . 併用療法および製剤

[00527] ある特定の実施形態では、本明細書で開示される1つまたは複数の化学療法剤と組み合わせて、本明細書で提供される抗体コンジュゲートのいずれかを含む組成物および療法剤製剤、ならびにそれを必要とする対象にそのような組合せを投与することを含む治療方法が提供される。化学療法剤の例としては、これらに限定されないが、以下のものが挙げられる：エルロチニブ（TARCEVA（登録商標）、Genentech/OSI Pharm.）、ボルテゾミブ（VELCADE（登録商標）、Millennium Pharm.）、フルベストラント（FASLODEX（登録商標）、AstraZeneca）、スーテント（SU11248、Pfizer）、レトロゾール（FEMARA（登録商標）、Novartis）、イマチニブメシル酸塩（GLEEVEC（登録商標）、Novartis）、P T K 7 8 7 / Z K 2 2 2 5 8 4（Novartis）、オキサリプラチン（Eloxatin（登録商標）、Sanofi）、5 - F U（5 - フルオロウラシル）、ロイコボリン、ラバマイシン（シロリムス、RAPAMUNE（登録商標）、Wyeth）、ラパチニブ（TYKERB（登録商標）、GSK572016、Glaxo Smith Kline）、ロナファニーブ（SCH 66336）、ソラフェニブ（BAY43-9006、Bayer Labs）、およびゲフィチニブ（IRESSA（登録商標）、AstraZeneca）、A G 1 4 7 8、A G 1 5 7 1（SU5271; Sugen）、チオテパおよびC Y T O X A N（登録商標）シクロスホスファミドなどのアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファン、およびピボスルファンなどのスルホン酸アルキル；ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ、およびウレドーパなどのアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド、およびトリメチロメラミンを含むエチレンイミンおよびメチルアメラミン；アセトゲニン（特に、プラタシンおよびプラタシノン）；カンプトテシン（合成アナログトポテカンを含む）；プリオスタチン；カリスタチン；C C - 1 0 6 5（そのアドゼレシン、カルゼレシン、およびピセレシン合成アナログを含む）；クリプトフィシン（特に、クリプトフィシン1およびクリプトフィシン8）；ドラスタチン；デュオカルマイシン（合成アナログであるKW-2189およびCB1-TM1を含む）；エリテロピン；パンクラチスタチン；サルコジクチン；スポンギスタチン；クロラムブシル、クロマファジン、クロロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノブエンピキン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマスタード；カルムスチン、クロロゾトシン、ホテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、およびラニムスチンなどのニトロソウレア；エンジン抗生物質（例えば、カリチアマイシン、特に、ウンシアラマイシン、カリチアマイシンガンマII、およびカリチアマイシンオメガII（Angew Chem. Intl. Ed. Engl.（1994）33:183-186）などの抗生物質；ジネミシンAを含むジネミシン；クロドロネートなどのビスホスホネート；エスペラミシン；ならびにネオカルチノスタチン発色団および関連色素タンパク質エンジン抗生物質発色団）、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アントラマイシン、アザセリン、プレオマイシン、カクチノマイシン、カラピシン、カミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デトルピシン、6 - ジアゾ - 5 - オキソ - L - ノルロイシン、A D R I A M Y C I N（登録商標）（ドキシソルピシン）、モルホリノ - ドキシソルピシン、シアノモルホリノ - ドキシソルピシン、2 - ピロリノ - ドキシソルピシン、およびデオキシドキシソルピシン）、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルセロマイシン、ミトマイシンCなどのミトマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ボルフィロマイシン、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルピシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルピシン；メトトレキサートおよび5 - フルオロウラシル（5-FU）などの代謝拮抗剤；デノプテリン、メトトレキサート、ブラジエノリドB、プテロプテリン、トリメトトレキサートなどの葉酸アナログ；フルダラピン、6 - メルカプトプリン、チアムニプリン、チオグアニンなどのプリンアナログ；アンシタピン、アザシチジン、6 - アザウリジン、カルモフル、シタラピン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロクスウリジンなどのピリミジンアナログ；カルステロン、プロ

10

20

30

40

50

ピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗アドレナリン剤；フォリン酸などの葉酸補給物質；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレプリン酸；エニルウラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ピサントレン；エダトレキセート；デホファミン；デメコルチン；ジアジクオン；エルホルミチン；酢酸エリプチニウム；エポチロン；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダイニン；マイタンシンおよびアンサミトシンなどのマイタンシノイド；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモール；ニトラエリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルピシン；ロソキサントロン；ポドフィリン酸；2 - エチルヒドラジド；プロカルバジン；P S K（登録商標）ポリサッカリド複合体（JHS Natural Products、ユージーン、オレゴン州）；ラゾキササン；リゾキシシン；シゾフラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン；2, 2', 2'' - トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン（特に、T-2毒素、ベラクリンA、ロリジンA、およびアングイジン）；ウレタン；ピンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトプロニトール；ミトラクトール；ピボプロマン；ガシトシン；アラビノシド（「Ara-C」）；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド、例えばT A X O L（登録商標）（パクリタキセル；Bristol-Myers Squibb Oncology、プリンストン、ニュージャージー州）、A B R A X A N E（登録商標）（クレモフォルフリー）、パクリタキセルのアルブミン加工ナノ粒子製剤（American Pharmaceutical Partners、シャウムベルク、イリノイ州）、およびT A X O T E R E（登録商標）（ドセタキセル；Rhone-Poulenc Rorer、アントニー、フランス）；クロラムブシル；G E M Z A R（登録商標）（ゲムシタピン）；6 - チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチンおよびカルボプラチンなどの白金アナログ；ピンブラスチン；エトポシド（VP-16）；イホスファミド；ミトキサントロン；ピンクリスチン；N A V E L B I N E（登録商標）（ピノレルピン）；ノバントロン；テニボシド；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；カペシタピン（XELODA（登録商標））；イバンドロネート；C P T - 1 1；トポイソメラーゼ阻害剤R F S 2 0 0 0；ジフルオロメチルオルニチン（DMFO）；レチノイン酸などのレチノイド；ならびに上記のものはいずれかの薬学的に許容される塩、酸、および誘導体。

10

20

#### 【0642】

[00528] ある特定の実施形態では、1つまたは複数のPD - 1またはPD - L1阻害剤と組み合わせて、本明細書で提供される抗体コンジュゲートのいずれかを含む組成物および療法製剤、ならびにそれを必要とする対象にそのような組合せを投与することを含む治療方法が提供される。一部の実施形態では、1つまたは複数のPD - 1またはPD - L1阻害剤は、PD - 1またはPD - L1経路の小分子遮断剤を含む。一部の実施形態では、1つまたは複数のPD - 1またはPD - L1阻害剤は、PD - 1またはPD - L1活性を阻害する抗体を含む。一部の実施形態では、1つまたは複数のPD - 1またはPD - L1阻害剤は、C A - 1 7 0、B M S - 8、B M S - 2 0 2、B M S - 9 3 6 5 5 8、C K - 3 0 1、およびA U N P 1 2からなる群から選択される。一部の実施形態では、1つまたは複数のPD - 1またはPD - L1阻害剤は、アベルマブ、ニボルマブ、ペムプロリズマブ、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、A M P - 2 2 4（GlaxoSmithKline）、M E D I 0 6 8 0 / A M P - 5 1 4（AstraZeneca）、P D R 0 0 1（Novartis）、セミプリマブ、T S R - 0 4 2（Tesarro）、チズレリズマブ / B G B - A 3 1 7（Beigene）、C K - 3 0 1（Checkpoint Therapeutics）、B M S - 9 3 6 5 5 9（Bristol-Meyers Squibb）、カムレリズマブ、シンチリマブ、トリパリマブ、ゲノリムズマブ（genolimzumab）、およびA 1 6 7（Sichuan Kelun-Biotech Biopharmaceutical）からなる群から選択される。一部の実施形態では、1つまたは複数のPD - 1またはPD - L1阻害剤は、M G A 0 1 2（Incyte/MacroGenics）、P F - 0 6 8 0 1 5 9 1（Pfizer/Merck KGaA）、L Y 3 3 0 0 0 5 4（Eli Lilly）、F A Z 0 5 3（Novartis）、P D - 1 1（Novartis）、C X - 0 7 2（CytomX）、B G B - A 3 3 3（Beigene）、B I 7 5 4 0 9 1（Boehringer Ingelheim）、J N J - 6 3 7 2 3 2 8 3（Johnson and Johnson/Janssen）、A G E N

30

40

50

2034 (Agenus)、CA-327 (Curis)、CX-188 (CytomX)、STI-A1110 (Servier)、JTX-4014 (Jounce)、(LLY)AM0001 (Armo Biosciences)、CBT-502 (CBT Pharmaceuticals)、FS118 (F-Star/Merck KGaA)、XmAb20717 (Xencor)、XmAb23104 (Xencor)、AB122 (Arcus Biosciences)、KY1003 (Kymab)、RXI-762 (RXi)からなる群から選択される。一部の実施形態では、1つまたは複数のPD-1またはPD-L1阻害剤は、PRS-332 (Pieris Pharmaceuticals)、ALPN-202 (Alpine Immune Science)、TSR-075 (Tesar/Anaptys Bio)、MCLA-145 (Merus)、MGD013 (Macrogenics)、MGD019 (Macrogenics)からなる群から選択される。一部の実施形態では、1つまたは複数のPD-1またはPD-L1阻害剤は、例えば、WO2016/077397、WO2018/156777、および2018年5月23日に出願された国際出願PCT/US2013/034213号に記載の抗PD1単一特異性または二重特異性抗体から選択される。

10

#### 【0643】

[00529] 本明細書で開示される抗体コンジュゲートと組み合わせて投与される作用剤は、抗体コンジュゲートの投与の直前に、投与と同時に、または投与の直後に投与することができる。本開示の目的では、そのような投与レジメンは、追加の療法的に活性な成分と「組み合わせた」抗体コンジュゲートの投与とみなされる。実施形態としては、本明細書で開示される抗体コンジュゲートが、本明細書で開示される化学療法剤、PD-1阻害剤、またはPD-L1阻害剤の1つまたは複数と共に共製剤化されている医薬組成物が挙げられる。

20

#### 【0644】

##### 15. 療法応用

[00530] 療法応用の場合、本明細書で提供される抗体コンジュゲートは、当技術分野で公知であるものおよび上記で考察されているものなどの薬学的に許容される剤形で、哺乳動物、一般にはヒトに投与することができる。例えば、抗体コンジュゲートは、筋肉内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、関節内、滑液嚢内、髄腔内、または腫瘍内経路により、ボラスとしてまたは一定期間にわたる持続注入によりヒトに静脈内投与することができる。また、抗体コンジュゲートは、局所的ならびに全身的な療法効果を発揮するように、腫瘍周囲、病変内、または病変周囲経路により好適に投与される。腹腔内経路は、例えば、卵巣腫瘍の治療に特に有用であり得る。

30

#### 【0645】

[00531] 本明細書で提供される抗体コンジュゲートは、葉酸受容体アルファ (FOLR1) が関与する任意の疾患または状態の治療に有用であり得る。一部の実施形態では、疾患または状態は、葉酸受容体アルファの過剰発現により診断することができる疾患または状態である。一部の実施形態では、疾患または状態は、抗葉酸受容体アルファ抗体による治療から利益を得ることができる疾患または状態である。一部の実施形態では、疾患または状態はがんである。

#### 【0646】

[00532] 任意の好適ながんを、本明細書で提供される抗体コンジュゲートで治療することができる。例示的で好適ながんとしては、以下のものが挙げられる：例えば、急性リンパ芽球性白血病 (ALL)、急性骨髄性白血病 (AML)、副腎皮質癌、肛門がん、虫垂がん、星状細胞腫、基底細胞癌、脳腫瘍、胆管がん、膀胱がん、骨がん、乳がん (トリプルネガティブ乳がん、すなわちTNBCを含む)、気管支腫瘍、原発不明の癌腫、心臓腫瘍、子宮頸がん、脊索腫、結腸がん、結腸直腸がん、頭蓋咽頭腫、腺管癌、胚芽腫、子宮内膜がん、上衣腫、食道がん、鼻腔神経芽細胞腫、ファロピウス管癌、線維性組織球腫、ユーイング肉腫、眼がん、胚細胞腫瘍、胆嚢がん、胃がん、消化管カルチノイド腫瘍、胃腸間質腫瘍、妊娠性絨毛性疾患、神経膠腫、頭頸部がん、肝細胞がん、組織球症、ホジキンリンパ腫、下咽頭がん、眼内黒色腫、膵島細胞腫瘍、カポジ肉腫、腎臓がん、ランゲルハンス細胞組織球症、喉頭がん、唇口腔がん、肝臓がん、上皮内小葉癌、肺がん、マクログロブリン

40

50



血症、悪性線維性組織球腫、黒色腫、メルケル細胞癌、中皮腫、NUT遺伝子が関与する原発不明正中線管癌(occult primary, midline tract carcinoma)を伴う転移性扁平上皮がん、口腔がん、多発性内分泌腺腫症候群、多発性骨髄腫、菌状息肉腫、骨髄異形成症候群、骨髄異形成/骨髄増殖性新生物、鼻腔傍鼻洞がん、鼻咽頭がん、神経芽細胞腫、非小細胞肺癌(NSCLC)、中咽頭がん、骨肉腫、卵巣がん、膵臓がん、乳頭腫、傍神経節腫、副甲状腺がん、陰茎がん、咽頭がん、褐色細胞腫、下垂体腫瘍、胸膜肺芽腫、原発性中枢神経系リンパ腫、原発性腹膜癌、前立腺がん、直腸がん、腎細胞がん、腎盂尿管がん、網膜芽細胞腫、ラブドイド腫瘍、唾液腺がん、セザリー症候群、皮膚がん、小細胞肺癌、小腸がん、軟組織肉腫、脊髄腫瘍、胃がん、T細胞リンパ腫、奇形腫、精巣がん、咽喉がん、胸腺腫および胸腺癌、甲状腺がん、尿道がん、子宮がん、膣がん、外陰部がん、

10

#### 【0647】

[00533] 一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体コンジュゲートで治療される疾患は、胃がん、結腸直腸がん、腎細胞癌、子宮頸部がん、非小細胞肺癌、卵巣がん、子宮がん、ファロピウス管癌、原発性腹膜癌、子宮体癌、子宮内膜癌、前立腺がん、乳がん、頭頸部がん、脳癌、肝臓がん、膵臓がん、中皮腫、および/または上皮由来のがんである。ある特定の実施形態では、疾患は結腸直腸がんである。一部の実施形態では、疾患は卵巣がんである。一部の実施形態では、疾患は乳がんである。一部の実施形態では、疾患は、トリプルネガティブ乳がん(TNBC)である。一部の実施形態では、疾患は肺がんである。一部の実施形態では、疾患は、非小細胞肺癌(NSCLC)である。一部の実施形態では、疾患は頭頸部がんである。一部の実施形態では、疾患は腎細胞癌である。一部の実施形態では、疾患は脳癌である。一部の実施形態では、疾患は子宮内膜がんである。

20

#### 【0648】

##### 16. 診断応用

[00534] 一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体コンジュゲートは、診断応用に使用される。例えば、抗FOLR1抗体コンジュゲートは、FOLR1タンパク質のアッセイに有用であり得る。一部の態様では、抗体コンジュゲートは、種々の細胞および組織におけるFOLR1の発現を検出するために使用することができる。こうしたアッセイは、例えば、がんなどの疾患の診断および/または予後の実施に有用であり得る。

30

#### 【0649】

[00535] 一部の診断応用および予後応用では、抗体コンジュゲートは、検出可能な部分で標識されていてもよい。好適な検出可能な部分としては、これらに限定されないが、放射性同位体、蛍光標識、および酵素基質標識が挙げられる。別の実施形態では、抗FOLR1抗体コンジュゲートは標識されている必要はなく、抗体コンジュゲートの存在は、抗FOLR1抗体コンジュゲートに特異的に結合する標識抗体を使用して検出することができる。

#### 【0650】

##### 17. 親和性精製試薬

[00536] 本明細書で提供される抗体コンジュゲートは、親和性精製剤として使用することができる。このプロセスでは、抗体コンジュゲートは、当技術分野で周知の方法を使用して、レジンまたは濾紙などの固相に固定化することができる。固定化された抗体コンジュゲートを、精製しようとする葉酸受容体アルファタンパク質(またはその断片)を含む試料と接触させ、その後、支持体を、固定化された抗体に結合している葉酸受容体アルファタンパク質を除く、試料中の実質的にすべての物質を除去することになる好適な溶媒で洗浄する。最後に、支持体を、グリシン緩衝液、pH5.0などの別の好適な溶媒で洗浄し、それにより葉酸受容体アルファタンパク質が抗体から放出されることになる。

40

#### 【0651】

##### 18. キット

[00537] 一部の実施形態では、本明細書で提供される抗FOLR1抗体コンジュゲートは、キットの形態で、つまり、所定量の試薬と手順を実施するための使用説明書とのパッケージ化

50

された組合せで提供される。一部の実施形態では、手順は、診断アッセイである。他の実施形態では、手順は、療法手順である。

【0652】

[00538] 一部の実施形態では、キットは、抗FOLR1抗体コンジュゲートを再構成するための溶媒をさらに含む。一部の実施形態では、抗FOLR1抗体コンジュゲートは、医薬組成物の形態で提供される。

【実施例】

【0653】

実施例1

抗FOLR1抗体の生成および一次スクリーニング

[00539] 相補性決定領域(CDR)を標的とする突然変異誘発性プライマーを用いた標準的オーバーラップ伸長PCRプロトコルを使用して、抗体Fabライブラリーを構築した。Heckman and Pease, Nat. Protoc., 2007, 2:924-932; Stafford et al., 2014, Protein Eng. Des. Sel. 27:97-109を参照。これらの文献は両方とも、それらの全体が参照により組み込まれる。新規抗体の選択は、標準的リボソームディスプレイプロトコルを使用して実施した。Dreier and Pluckthun, 2011, Methods Mol Biol 687:283-306を参照。この文献は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0654】

[00540] トラスツズマブHCを基本鋳型として使用したオーバーラップPCRにより構築されたナープヒトライブラリーから、リボソームディスプレイに由来する初期抗体リードを導出した。CDR H1およびH2を、Integrated DNA Technologiesから購入したオリゴヌクレオチドを使用して、Lee et al., J. Mol. Biol. 2004, 340:1073-1093の記載と同じ設計でランダム化した。この設計では、CDR H1およびH2は、天然ヒト抗体で観察されるアミノ酸分布と緊密に一致する。CDR H3は、アミノ酸ランダム化のために三量体ホスホルアミダイト混合物(TRIM)を組み込んだオリゴヌクレオチドを使用して多様化した。TRIMオリゴを、Yagodkin A et al., Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids 2007, 26:473-97に記載の通りに合成した。具体的には、TRIMを含む6つの別々のオリゴヌクレオチドを使用して、6つの別々のH3ループ長(13~18; Zemlin et al.により規定されている)を製作し、ヒトレパートリーで観察される最も一般的なループ長と一致させた。併せると、こうしたループ長は、Zemlin et al., J. Mol. Biol. 2003, 334:733-749により報告されている通り、ヒトIgGにおいて天然に生じるループ長変異のおよそ54.5%を構成する。各アミノ酸の頻度分布は、Zemlin et al.により報告されている通りの、ヒトIgGのCDR H3で観察されるアミノ酸の分布と緊密に一致するように設計した。すべてまとめると、このライブラリーは、Zhai et al., J. Mol. Biol. 2011, 412:55-71により記載の通りの、抗体安定性および抗体のフォールディングを向上させることが当分野で公知である天然ヒト抗体変異と緊密に一致する。この重鎖(HC)ライブラリーを、Stafford et al., Protein Eng Des Sel 2014, 27:97-109に記載の通り、選択プロセス全体にわたって定常未修飾トラスツズマブ軽鎖(LC)と対にした。

【0655】

[00541] Eurofins MWG Operonから購入した「ソフトランダム化」オリゴヌクレオチドを使用したオーバーラップPCRにより構築した、2つのリードに対してバイアスされたフォーカスライブラリー(focused library)から、親和性成熟抗体リード(例えば、下記のSRP1848抗体)を導出した。ソフトランダム化とは、親アミノ酸配列が他のアミノ酸よりも約30%の確率でより頻繁にコードされるように、各

10

20

30

40

50

ソフトランダム化コドンにヌクレオチドのバイアス分布が使用されるプロセスである。他のアミノ酸が各位置でコードされるが、パーセンテージはより低い。各ソフトランダム化位置では、親ヌクレオチドの70%は、他の3つのヌクレオチド10%と混合される。このライブラリーでは、CDR H1、H2、およびH3を同時にソフトランダム化し、標準的リボソームディスプレイプロトコールで選択した。初期リードの選択と同様に、親和性成熟抗体を、Stafford et al., Protein Eng Des Sel 2014, 27:97-109に記載の通り選択プロセス全体にわたって、定常未修飾トラスツズマブLCと対にした。

**【0656】**

[00542] 新規抗体の選択は、標準的リボソームディスプレイプロトコールを使用して実施した。Dreier and Pluckthun, Methods Mol. Biol., 2003, 687:283-306, Clifton, NJを参照。この文献は、その全体が参照により組み込まれる。公開されているプロトコールに従ってFabリボソームディスプレイ選択を実施した。Stafford et al., 2014, Protein Eng. Des. Sel. 27:97-109; Hanes and Pluckthun, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1997, 94:4937-4942を参照。これらの文献は両方とも、それらの全体が参照により組み込まれる。複数回の選択ラウンド後、標準的分子生物学技法を使用して、無細胞発現用に最適化されたベクターに、RT-PCR出力に由来するDNAをクローニングした。Yin et al., mAbs, 2012, 4:217-225を参照。この文献は、その全体が参照により組み込まれる。構築物はすべて、HISタグ化およびFLAGタグ化して、スクリーニング中の精製および試験を効率化した。

10

20

**【0657】**

[00543] 選択ワークフローにより生成された抗体変異体のライブラリーを大腸菌に形質転換し、抗生物質（カナマイシン）を有する寒天プレートで成長させた。個々のコロニーを液体ブロス（TB+カナマイシン）で成長させ、ローリングサークル増幅（RCA）によるDNA増幅の鋳型として使用した。次いで、変異体を、Yin et al., mAbs, 2012, 4:217-225に記載の通りに無細胞タンパク質合成反応で発現させた。

**【0658】**

[00544] 手短かに言えば、無細胞抽出物を、室温（20℃）にて30分間、50μMヨードアセトアミドで処理し、無細胞成分（Cai et al., Biotechnol Prog, 2015, 3:823-831を参照。この文献は、その全体が参照により組み込まれる）、およびHC変異体の10%（容積/容積）RCA DNA鋳型（約10μg/mLのDNA）を、抗体アセンブリには存在するが、ライブラリーでは変更されていない2.5μg/mLのトラスツズマブLCに加えて含むプレミックスに添加した。96ウェルプレート中の60マイクロリットルの無細胞反応物を、650rpmの振盪器で12時間にわたって30℃でインキュベートした。様々な選択キャンペーンの予測される多様性に依りて、400~1500（四百~千五百）個のコロニーをスクリーニングした。

30

**【0659】**

[00545] 合成後、各反応物を、3%ウシ胎仔血清（FBS）を有するPBS（pH 7.4）で1:50に希釈し、発現された変異体の機能的活性を、CHO-hFOLR1細胞（チャイニーズハムスター卵巣細胞で組換え的に発現されたヒトFOLR1）に対する、細胞に基づくELISA結合により試験した。手短かに言えば、アッセイの前日に、CHO対照細胞またはCHO-hFOLR1細胞を384ウェルプレートに播種した。アッセイ当日に、細胞を、PBS中4%パラホルムアルデヒド20μLにより暗所で15分間固定し、PBSで洗浄し、次いでPBS中30%FBSを用いて30分間室温でブロッキングした。目的の抗体変異体（1:50希釈無細胞反応物）と、固定したCHO-hFOLR1細胞との結合を可能にし、二次抗体（例えば、HRPコンジュゲート抗ヒトFcまたは抗FLAG）で検出し、次いで化学発光基質（Pierce ELISA SuperSignal（商標）基質）で検出した。化学発光は、Molecular Devices SpectraMax（登録商標）M5プレート

40

50

リーダーで定量化した。上位ヒットを、細胞に基づくELISAのシグナル/ノイズ比に基づいて選択し、それらのヌクレオチドを配列決定した。結合活性および配列分析に基づき、変異体のサブセットを、さらなる大規模化および特徴付けのために選択した。

【0660】

[00546] ELISAに基づくスクリーニングの上位リードを培養し、QIAprep (登録商標) 96 Turboミニプレップキット (Qiagen) を製造業者の使用説明書に従って使用して、プラスミドミニプレップを実施した。10  $\mu$ g/mLのミニプレップDNAを、無細胞反応物4 mLに添加し、30、650 rpmで12時間にわたって一晚インキュベートした。通常トラスツズマブLCを有するIgG変異体の場合、7.5  $\mu$ g/mLのHC変異体DNAおよび25  $\mu$ g/mLの通常トラスツズマブLCを反応物に添加した。

10

【0661】

[00547] 清澄化した無細胞反応物から発現された変異体を、半自動化ハイスループットバッチ精製法を使用して、固定化金属イオン親和性クロマトグラフィー (IMAC) 精製により精製した。手短に言えば、精製は、96ウェルプレート形式で実施し、IMACレジン50  $\mu$ L/ウェル (Ni Sepharose High Performance、GE Healthcare) をIMAC結合緩衝液 (50 mM Tris pH8.0、300 mM NaCl、10 mM イミダゾール) で平衡化し、無細胞反応物1 mLと共に15分間インキュベートし、続いてIMAC結合緩衝液で2回洗浄した。次いで、IMAC溶出緩衝液200  $\mu$ L (50 mM Tris pH 8.0、300 mM NaCl、500 mM イミダゾール) を使用して、Hisタグ抗体変異体を溶出し、96ウェルZebaプレート (7 kD MWCO、Thermo Fisher) を使用して、緩衝液をPBSに交換した。精製した抗体の量は、製造業者の使用説明書に従ってLabChip GXII (Perkin Elmer) をハーセプチン標準曲線に対して使用して、ハイスループットキャピラリー電気泳動により定量化した。

20

【0662】

[00548] 代表的な親和性成熟抗体は、下記の表5に報告されている。

【0663】

## 【表 5 - 1】

表 5. 親和性成熟(SRP1848)抗体

抗体	VH	配列番号	VL	配列番号
1	SRP1848-A01	308	トラスツズマブ	367
2	SRP1848-A02	309	トラスツズマブ	367
3	SRP1848-A04	310	トラスツズマブ	367
4	SRP1848-A06	311	トラスツズマブ	367
5	SRP1848-A07	312	トラスツズマブ	367
6	SRP1848-A08	313	トラスツズマブ	367
7	SRP1848-A09	314	トラスツズマブ	367
8	SRP1848-A10	315	トラスツズマブ	367
9	SRP1848-B01	316	トラスツズマブ	367
10	SRP1848-B03	317	トラスツズマブ	367
11	SRP1848-B04	318	トラスツズマブ	367
12	SRP1848-B05	319	トラスツズマブ	367
13	SRP1848-B06	320	トラスツズマブ	367
14	SRP1848-B07	321	トラスツズマブ	367
15	SRP1848-B09	322	トラスツズマブ	367
16	SRP1848-B10	323	トラスツズマブ	367
17	SRP1848-B11	324	トラスツズマブ	367
18	SRP1848-C01	325	トラスツズマブ	367
19	SRP1848-C03	326	トラスツズマブ	367
20	SRP1848-C04	327	トラスツズマブ	367
21	SRP1848-C05	328	トラスツズマブ	367
22	SRP1848-C07	329	トラスツズマブ	367
23	SRP1848-C10	330	トラスツズマブ	367
24	SRP1848-D02	331	トラスツズマブ	367
25	SRP1848-D03	332	トラスツズマブ	367
26	SRP1848-D04	333	トラスツズマブ	367
27	SRP1848-D05	334	トラスツズマブ	367
28	SRP1848-D07	335	トラスツズマブ	367
29	SRP1848-D09	336	トラスツズマブ	367
30	SRP1848-D10	337	トラスツズマブ	367
31	SRP1848-E01	338	トラスツズマブ	367
32	SRP1848-E02	339	トラスツズマブ	367
33	SRP1848-E03	340	トラスツズマブ	367
34	SRP1848-E05	341	トラスツズマブ	367
35	SRP1848-E06	342	トラスツズマブ	367
36	SRP1848-E07	343	トラスツズマブ	367
37	SRP1848-F01	344	トラスツズマブ	367
38	SRP1848-F02	345	トラスツズマブ	367

10

20

30

40

【表 5 - 2】

39	SRP1848-F04	346	トラスツズマブ	367
40	SRP1848-F05	347	トラスツズマブ	367
41	SRP1848-F06	348	トラスツズマブ	367
42	SRP1848-F07	349	トラスツズマブ	367
43	SRP1848-F08	350	トラスツズマブ	367
44	SRP1848-F09	351	トラスツズマブ	367
45	SRP1848-F10	352	トラスツズマブ	367
46	SRP1848-F11	353	トラスツズマブ	367
47	SRP1848-G01	354	トラスツズマブ	367
48	SRP1848-G03	355	トラスツズマブ	367
49	SRP1848-G04	356	トラスツズマブ	367
50	SRP1848-G06	357	トラスツズマブ	367
51	SRP1848-G07	358	トラスツズマブ	367
52	SRP1848-G09	359	トラスツズマブ	367
53	SRP1848-G10	360	トラスツズマブ	367
54	SRP1848-G11	361	トラスツズマブ	367
55	SRP1848-H01	362	トラスツズマブ	367

10

20

30

40

50

## 【0665】

## 実施例 2

## s c F v の調製

[00549] 単鎖抗体は、 $V_H V_L$  方向または  $V_L V_H$  方向のいずれかで製作され、 $V_H$  ドメインと  $V_L$  ドメインの間にはリンカー配列がある。s c F v リンカーは、典型的には (G G G G S) $n$  リピートで構成され、式中、15、20、25、または30残基のリンカーの場合、それぞれ、 $n = 3$ 、4、5、または6である。無細胞発現の場合、N末端Metが付加されるが、哺乳動物発現の場合は、リーダーペプチドが付加される。s c F v のC末端にFc配列を追加して *in vivo* 半減期を延長してもよく、またはs c F v をそのまま使用してもよい。任意選択によるリンカー配列を、s c F v とFcとの間に組み込んでよい。代表的なs c F v - Fcリンカー配列は、A A G S D Q E P K S S (配列番号378)である。任意選択により、精製およびアッセイ開発を容易にするためにC末端親和性タグを付加してもよい。代表的な親和性タグは、C末端FlagHisタグG S G D Y K D D D D K G S G H H H H H H (配列番号376)である。典型的には、配列の最後に終止コドンが挿入される。代表的なs c F v は、N末端Met残基、 $V_H$  ドメイン、G G G G S G G G G S G G G G S (配列番号377)リンカー、 $V_L$  ドメイン、A A G S D Q E P K S S (配列番号378)リンカー、Fcドメイン、FlagHisタグ、および終止コドンを含んでいてもよい。

## 【0666】

## 実施例 3

## 親和性および動力学的結合分析

[00550] 抗Fcポリクローナル抗体を、アミンカップリング化学（アミンカップリングキット、GE Life Sciences）を使用してCM5チップ（GE Life Sciences）に固定化した。固定化工程は、25  $\mu$ L / 分の流速の1 x HBS - EP + 緩衝液（GE Life Sciences；使用前に10 x ストックを希釈した）で実施した。センサー表面を、N - ヒドロキシスクシンイミド（NHS、0.05 M）および1 - エチル - 3 - （3 - ジメチルアミノプロピル） - カルボジイミド（EDC、0.2 M）の混合物で7分間にわたって活性化した。抗Fcポリクローナル抗体を、10 mM 酢酸ナトリウム、pH 4.5 中25  $\mu$ g / mL の濃度で4つすべてのフローセルに7分間にわたって注入した。エタノールアミン（1 M、pH 8.5）を7分間にわたって注入して、一切の残留活性化基をブロックした。平均12,000 応答単位（RU）の捕捉抗体を、各フローセルに固定化した。

10

【0667】

[00551] オフ速度および動力学的結合実験を、1 x HBS - EP + 緩衝液を使用して25 で実施した。5 ~ 10  $\mu$ g / mL の濃度の試験抗体および対照抗体を、10  $\mu$ L / 分の流速で12秒間にわたってフローセル2、3、および4の抗Fc表面に注入し、続いて同じ流速で30秒間にわたって緩衝液洗浄を行った。抗体試料の動力学的特徴付けは、単一濃度の抗原（オフ速度順位付けのため）または1 : 2 希釈系列の抗原（動力学的特徴付けのため）および0 nM 抗原の1回注入で実施した。リガンド（抗体）を抗Fc表面に捕捉した後、50、25、12.5、6.25、および0 nM の分析物（ヒトFOLR1-HIS）を180秒間にわたって結合させ、続いて50  $\mu$ L / 分の流速で600秒間の解離段階を行った。各リガンド捕捉と分析物結合サイクルとの間に、10 mM グリシン pH 2.0 を30  $\mu$ L / 分で30秒間にわたって2回注入し、続いて30秒間の緩衝液洗浄工程を行って再生を実施した。

20

【0668】

[00552] Biacore T200 評価ソフトウェアで1 : 1 ラングミュア結合モデルを使用して、データをフィッティングした。 $K_D$ （親和性、nM）は、結合段階および解離段階のフィッティングから算出した動力学的速度定数の比として決定した。

【0669】

実施例 4

フローサイトメトリーに基づく細胞結合アッセイ

[00553] 発現レベルが > 250 nM である変異体を、蛍光活性化細胞選別（FACS）細胞結合アッセイで試験した。CHO 細胞をトランスフェクトして、ヒト（CHO-hFOLR1）、カニクイザル（CHO-cFOLR1）、またはマウス（CHO-mFOLR1）標的分子FOLR1を、細胞表面上に安定的に発現させた。親CHO細胞を陰性対照として使用し、バックグラウンド結合レベルを決定した。親CHOおよび安定的にトランスフェクトされたCHO - hFOLR1、CHO - cFOLR1、およびCHO - mFOLR1細胞を、10% 熱不活化ウシ胎仔血清（Corning、Cellgro-Mediatech）、1% ペニシリン / ストレプトマイシン（Corning、Cellgro-Mediatech）、および2 mmol / L - glutamax（Life Technology）で補完されたハムF - 12 : 高グルコースDMEM（50:50）（Corning、Cellgro-Mediatech）中で培養した。

30

【0670】

[00554] 蛍光標識親CHO細胞および未標識CHO - hFOLR1細胞の混合物を、以下のように調製した。親CHO細胞をPBSで2回洗浄し、1 nM の CellTrace（商標）Oregon Green 488（登録商標）（Life Technologies）を有するPBS中で30分間にわたって37 にてインキュベートした。次いで、標識親CHO細胞を、ハムF - 12 培地で2回、およびFACS緩衝液（1% ウシ血清アルブミンを有するPBS）で2回洗浄した。未標識CHO - hFOLR1細胞を同様に洗浄および調製した。標識親CHO細胞および未標識CHO - hFOLR1細胞を1 : 1 比で組み合わせ、96 ウェルポリプロピレンプレートに1ウェル当たり50  $\mu$ L（1ウェル当たり200,000 個の細胞）で播種した。細胞を、FACS緩衝液で系列希釈した試験抗体（つまり、抗FOLR1変異体）50  $\mu$ L と混合し、氷上で60分間にわたってインキュベートした。細

40

50

胞をFACS緩衝液で洗浄し、 $2.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ のR-フィコエリトリンコンジュゲートヤギ抗ヒトIgG (Jackson ImmunoResearch Laboratories、ウェストグローブ、ペンシルベニア州)を含むFACS緩衝液 $100 \mu\text{L}$ と共に氷上で60分間にわたってインキュベートした。細胞をFACS緩衝液で2回洗浄し、PBS中2%パラホルムアルデヒド (Santa Cruz Biotechnology; ダラス、テキサス州)中で10分間にわたって暗所の氷上で固定し、BD LSRIIFローサイトメーター (BD Biosciences; サンノゼ、カリフォルニア州)を使用して分析した。FlowJo (登録商標)ソフトウェア (FlowJo, LLC; アッシュランド、オレゴン州)を使用してデータを分析して、平均蛍光強度を決定した。統計ソフトウェアGraphPad Prism (GraphPad Software; ラホヤ、カリフォルニア州)を使用し、非線形回帰式であるヒルスロープ (Hill slope)による1部位特異的結合を使用して結合定数を算出した。二次抗体単独を対照として使用し、加えて、CHO親細胞に対する非特異的抗体結合を測定した。

【0671】

[00555] この手順を繰り返して、CHO-cFOLR1細胞およびCHO-mFOLR1細胞での細胞結合を評価した。

【0672】

#### 実施例 5

##### 細胞殺傷分析

[00556] 抗体の内部移行を、標的陽性細胞での二次抗体細胞殺傷アッセイにより評価した。FOLR1陽性KB細胞は、ATCCから入手し、FOLR1陽性Igrov1細胞はNIHから得た。細胞を、10%熱不活化ウシ胎仔血清 (Corning, Cellgro-Mediatech、マナッサス、バージニア州)、1%ペニシリン/ストレプトマイシン (Corning, Cellgro-Mediatech、マナッサス、バージニア州)、および $2 \text{ mmol}/\text{L}$ -glutamax (Thermo Fisher Scientific、ウォルサム、マサチューセッツ州)で補完されたハムF-12:高グルコースDMEM (50:50) (Corning, Cellgro-Mediatech)で維持した。附着細胞を、カルシウムおよびマグネシウムを含まないハックス平衡塩類溶液 (HBSS)で2回洗浄し、HYQ (登録商標)TASEE (商標) (Hyclone; Thermo Fisher Scientific、ウォルサム、マサチューセッツ州)で回収し、Vi-CELL細胞生存率分析機 (Beckman Coulter、インディアナポリス、インディアナ州)で計数した。合計625個の細胞を、384ウェル平底白色ポリスチレンプレートの各ウェルに播種した。4倍の開始濃度のリード抗体を細胞培養培地で製剤化し、MultiScreen HTS 96ウェルフィルタープレート (Millipore; ビルリカ、マサチューセッツ州)で濾過した。試験抗体の系列希釈物 ( $200 \text{ nM}$ から開始した1:3系列希釈物)を、処置ウェルに添加し、次いで、切断可能なリンカーを介してヘミアステリンにコンジュゲートされた抗ヒトFcナノボディを、 $20 \text{ nM}$ の一定終濃度で各ウェルに添加した。アッセイプレートを、アッセイ前に $\text{CO}_2$ インキュベーター内で120時間にわたって $37^\circ\text{C}$ にて培養した。細胞生存率測定のため、CellTiter-Glo (登録商標)試薬 (Promega Corp. マジソン、ウィスコンシン州)  $30 \mu\text{L}$ を各ウェルに添加し、プレートを製品の使用説明書に従って処理した。相対的発光を、ENVISION (登録商標)プレートリーダー (Perkin-Elmer; ウォルサム、マサチューセッツ州)で測定した。未処置細胞を対照として使用して、相対的発光読取値を生存率に変換した。データを、 $\log$  (阻害剤) 対応答 - 可変傾き ( $\log$  (inhibitor) vs. response-variable slope)、つまりGraphPad Prism (GraphPad v 5.0、ソフトウェア、サンディエゴ、カリフォルニア州)の4パラメーターフィッティングを使用して非線形回帰分析でフィッティングした。データを、相対的細胞生存率 (ATP含有量) % 対抗体の用量として表した。

【0673】

#### 実施例 6

##### ハイブリドーマの生成

[00557] ヒトFOLR1を過剰発現するマウスMC38細胞で免疫応答性マウス (C57BL/6) を免疫した。血清中のFOLR1特異的抗体を検出し、脾臓を回収し、以前の記載さ

10

20

30

40

50



れているものと同様に、P3X細胞と融合してハイブリドーマを生成した(Aragen Biosciences、モーガンヒル、カリフォルニア州)。Chronopoulou, et al., 2014, Methods Mol Biol 1131:47-70、およびKim, et al., 2014, Methods Mol Biol 1131:31-45を参照。これらの文献は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。QIAGEN RNeasyミニキット(カタログ番号74104)を使用して、全RNAをハイブリドーマ細胞から抽出し、Clontech SMARTer RACE cDNA増幅キット(カタログ番号634923)(Lake Pharma、ベルモント、カリフォルニア州)を使用してcDNAへと変換した。陽性クローンを、ゲル電気泳動により特定し、Invitrogen TOPOキットを使用してクローン化し、標準的なサンガー法を使用して配列決定した。m6D1のCDRを、標準的な方法論により、ヒト抗体フレームワークVH1-18、VH3-33、VH2-5、VH2-70、VH4-30-4、Vk1-5、Vk3-11、Vk2-30、Vk1-33、およびVk1-16に移植して、ヒト化抗体を得た。Kuramochi, et al., 2014, Methods Mol Biol 1060:123-137を参照。この文献は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。こうした移植片のうち、h6D1-HC3/LC4(VH3-33/Vk3-11移植片)IgGおよびh6D1-HC3/LC5(VH3-33/Vk1-5移植片)IgGは、無細胞で発現させると、最も良好な収量を示し、最も高い親和性を維持した。HC3/LC4ヒト化変異体およびHC3/LC5ヒト化変異体は両方とも、Stafford, et al., 2014, Protein Eng Des Sel 4:97-109に記載の通りにソフトランダム化して軽鎖を一定のままにすることにより、重鎖CDRを標的とするFabに基づくリボソームディスプレイ(上記に記載の通り)により親和性成熟へと進行した。この文献は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0674】

[00558] ある特定の抗体は、ヒト化マウス抗体の親和性成熟により生成した。代表的な抗体候補は、下記の表6に報告されている。

【0675】

【表6】

表6. 親和性成熟ヒト化抗体(SRP2060)

抗体	VH	配列番号	VL	配列番号
56	SRP2060-E10	363	H6D1-LC4	368
57	SRP2060-E05	364	H6D1-LC4	368
58	SRP2060-B01	365	H6D1-LC5	369
59	SRP2060-A06	366	H6D1-LC5	369

【0676】

実施例7

例示的な抗FOLR1抗体の特色

[00559] 表7~9には、本明細書に記載の例示的な抗体を使用して得られた結果が示されている。

【0677】

[00560] 表7には、トラスツズマブ重鎖(HC)フレームワークに構築されたナイーブFab TRiMリボソームディスプレイライブラリーから得られた初期抗体リードの親和性成熟から単離された抗体で得られた結果が示されている。

【0678】

[00561] 表8には、表7に列挙されているものと同じ抗体で得られた動力学的結合結果

10

20

30

40

50

が示されている。

【 0 6 7 9 】

[00562] 表 9 には、ヒト化マウスクローン候補から単離された抗体から得られた結果が示されている。

【 0 6 8 0 】

【 表 7 - 1 】

表 7. 初期リードの親和性成熟抗体(トラスツズマブ HC フレームワーク)。

Fab-HC 変異体 ID	KB、2° 抗体細胞殺傷性、Nb-239		Igrov、2° 抗体細胞殺傷性、Nb-SC239		CHO-ヒト FolR1		CHO-cyno FolR1		CHO-マウス FolR1	
	EC50 (nM)	スパン (%)	EC50 (nM)	スパン (%)	B 最大 (MFI)	K <sub>D</sub> (nM)	B 最大 (MFI)	K <sub>D</sub> (nM)	B 最大 (MFI)	K <sub>D</sub> (nM)
SRP1848-A01	0.064	94	0.015	71	25899	0.39	22552	0.44	16475	0.8
SRP1848-A02	0.028	94	0.039	71	24710	0.64	18500	0.50	18569	2.4
SRP1848-A07	0.062	95	0.029	68	29182	0.61	23643	0.43	9646	0.9
SRP1848-C03	0.074	93	0.035	72	29143	0.51	25148	0.50	3310	3.0
SRP1848-F04	0.096	93	0.015	73	26867	0.73	26353	0.55	2741	11.0
SRP1848-B04	0.035	94	0.018	70	27818	0.72	27796	0.65	2187	17.9
SRP1848-B11	0.058	93	0.026	74	28394	0.56	22885	0.34	1632	3.9
SRP1848-F07	0.057	92	0.018	71	27371	0.58	18662	0.56	1387	8.8
SRP1848-E06	0.060	93	0.025	74	25611	0.48	15755	0.26	2349	1.2
SRP1848-A09	0.060	93	0.026	71	28910	0.61	20248	0.31	7990	1.0
SRP1848-E07	0.059	94	0.013	73	27284	0.54	20381	0.23	11837	1.2
SRP1848-G03	0.064	91	0.021	76	26424	0.82	19238	0.44	2220	2.4
SRP1848-A04	0.052	92	0.015	64	26810	0.43	23055	0.30	3888	2.0
SRP1848-H01	0.049	96	0.016	67	26985	0.59	17227	0.28	3950	33.8
SRP1848-B10	0.040	97	0.020	71	28186	0.83	21268	0.44	2455	7.3
SRP1848-C07	0.065	93	0.013	67	28757	0.62	18136	0.23	3170	1.4
SRP1848-F05	0.061	94	0.015	74	27155	0.72	24731	0.61	5100	18.0
SRP1848-D02	0.034	93	0.027	71	28804	0.60	27973	0.61	916	87.0
SRP1848-A08	0.039	93	0.013	65	28554	0.62	26197	0.45	3202	2.5

10

20

【 0 6 8 1 】

【 表 7 - 2 】

SRP1848-E03	0.057	94	0.027	73	26694	0.76	17427	0.43	5939	0.5
SRP1848-A10	0.033	96	0.027	75	27097	0.66	14816	0.47	10167	1.2
SRP1848-F10	0.038	94	0.009	68	25554	0.36	20700	0.40	1742	6.9
SRP1848-D05	0.055	92	0.030	73	26748	0.57	22202	0.45	1360	14.0
SRP1848-C01	0.060	90	0.023	68	28527	0.66	25941	0.60	1369	26.0
SRP1848-F01	0.047	91	0.018	69	25240	0.56	21491	0.43	3750	1.8
SRP1848-D04	0.380	97	0.068	77	29297	2.21	25737	2.84	NB	NB
SRP1848-E05	0.071	95	0.027	78	27306	0.46	28170	0.55	NB	NB
SRP1848-A06	0.046	93	0.020	72	24521	0.47	20170	0.30	2767	2.4
SRP1848-B01	0.064	95	0.031	82	26634	1.06	23881	0.83	3404	16.4
SRP1848-C04	0.006	94	0.016	68	26269	0.44	22014	0.86	2506	62.0
SRP1848-C10	0.057	96	0.036	75	27465	0.91	15966	0.27	2326	5.6
SRP1848-B09	0.073	97	0.027	74	25152	0.46	25213	0.99	1424	78.0
SRP1848-C05	0.073	92	0.021	62	26836	0.52	15199	0.35	4134	4.8
SRP1848-F02	0.054	92	0.009	54	25714	0.62	14911	0.19	2741	2.6
SRP1848-F08	0.061	94	0.024	77	26483	0.91	21024	1.07	NB	NB
SRP1848-D07	0.075	94	0.032	71	25738	0.77	24272	0.92	NB	NB
SRP1848-F11	0.054	91	0.017	70	26774	0.75	21790	0.47	1762	4.6
SRP1848-F09	0.056	93	0.050	79	23816	0.36	24178	0.75	1671	90.7
SRP1848-D10	0.016	90	0.012	54	26468	0.48	20578	0.52	1859	13.0
SRP1848-G01	0.070	91	0.022	66	27406	0.98	20913	0.56	1993	4.6
SRP1848-B06	0.058	95	0.022	72	25070	0.67	26767	1.21	NB	NB
SRP1848-D03	0.160	98	0.038	76	25977	1.90	14130	0.58	3170	9.5
SRP1848-B07	0.079	96	0.038	73	25612	0.66	25491	1.05	NB	NB
SRP1848-E02	0.046	93	0.025	71	23847	0.53	18717	0.59	1473	21.0
SRP1848-B03	0.050	94	0.028	66	26338	0.82	17228	0.41	2722	6.4

30

40

【 0 6 8 2 】

【表 7 - 3】

SRP1848-E01	0.088	92	0.029	72	26430	1.01	22420	0.96	NB	NB
SRP1848-B05	0.065	94	0.040	72	24536	0.65	21871	0.64	NB	NB
SRP1848-D09	0.042	91	0.023	70	24966	0.46	21306	0.65	NB	NB
SRP1848-F06	0.066	94	0.032	77	25598	0.87	26528	0.86	NB	NB
SRP1848-G10	0.046	97	0.019	79	25269	0.49	14163	0.24	2891	4.3
SRP1848-G04	0.051	92	0.016	75	25156	0.76	12538	0.25	1999	2.5
SRP1848-G06	0.057	96	0.026	81	25838	0.63	12830	0.31	1857	11.1
SRP1848-G07	0.058	94	0.038	78	24939	0.78	13668	0.35	1978	2.9
SRP1848-G09	0.073	97	0.036	83	25066	0.59	17685	0.35	2184	6.4
SRP1848-G11	0.040	97	0.023	84	27191	0.68	11837	0.26	2744	7.6

10

【 0 6 8 3 】

【表 8 - 1】

表 8. 初期リードの親和性成熟抗体(トラスツズマブ HC フレームワーク):速度論的結合結果

変異体 ID	Biacore 速度論		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K <sub>D</sub> (M)
SRP1848-A01	8.29E+05	1.55E-03	1.87E-09
SRP1848-A02	5.25E+05	8.82E-03	1.68E-08
SRP1848-A07	1.01E+06	8.66E-04	8.55E-10
SRP1848-C03	1.36E+06	1.52E-03	1.11E-09
SRP1848-F04	8.15E+05	1.08E-03	1.32E-09
SRP1848-B04	7.80E+05	1.17E-03	1.50E-09
SRP1848-B11	1.22E+06	1.86E-03	1.52E-09
SRP1848-F07	1.60E+06	2.49E-03	1.56E-09
SRP1848-E06	9.44E+05	1.54E-03	1.63E-09
SRP1848-A09	7.30E+05	1.33E-03	1.82E-09
SRP1848-E07	1.25E+06	2.40E-03	1.91E-09
SRP1848-G03	9.90E+05	1.97E-03	1.99E-09
SRP1848-A04	1.61E+06	3.26E-03	2.03E-09
SRP1848-H01	6.59E+05	1.39E-03	2.11E-09
SRP1848-B10	6.81E+05	1.48E-03	2.18E-09
SRP1848-C07	8.56E+05	1.89E-03	2.21E-09
SRP1848-F05	6.56E+05	1.57E-03	2.40E-09
SRP1848-D02	8.51E+05	2.05E-03	2.41E-09
SRP1848-A08	4.93E+05	1.19E-03	2.42E-09
SRP1848-E03	6.88E+05	1.83E-03	2.67E-09
SRP1848-A10	1.20E+06	3.30E-03	2.74E-09
SRP1848-F10	8.72E+05	2.47E-03	2.83E-09

20

30

【 0 6 8 4 】

【表 8 - 2】

SRP1848-D05	6.75E+05	1.98E-03	2.93E-09
SRP1848-C01	7.30E+05	2.23E-03	3.05E-09
SRP1848-F01	1.14E+06	3.62E-03	3.18E-09
SRP1848-D04	4.97E+05	1.73E-03	3.48E-09
SRP1848-E05	7.16E+05	2.51E-03	3.51E-09
SRP1848-A06	1.37E+06	4.83E-03	3.51E-09
SRP1848-B01	1.13E+06	4.16E-03	3.67E-09
SRP1848-C04	1.29E+06	4.99E-03	3.86E-09
SRP1848-C10	8.99E+05	3.63E-03	4.03E-09
SRP1848-B09	1.55E+06	6.61E-03	4.26E-09
SRP1848-C05	1.06E+06	4.54E-03	4.29E-09
SRP1848-F02	1.42E+06	6.37E-03	4.49E-09
SRP1848-F08	5.94E+05	2.72E-03	4.58E-09
SRP1848-D07	1.09E+06	5.11E-03	4.70E-09
SRP1848-F11	8.28E+05	3.90E-03	4.71E-09
SRP1848-F09	1.40E+06	6.79E-03	4.85E-09
SRP1848-D10	1.13E+06	5.58E-03	4.95E-09
SRP1848-G01	4.44E+05	2.26E-03	5.09E-09
SRP1848-B06	6.20E+05	3.17E-03	5.10E-09
SRP1848-D03	1.03E+06	5.35E-03	5.19E-09
SRP1848-B07	7.06E+05	3.78E-03	5.35E-09
SRP1848-E02	1.14E+06	7.07E-03	6.21E-09
SRP1848-B03	1.13E+06	8.59E-03	7.63E-09
SRP1848-E01	6.64E+05	5.22E-03	7.87E-09
SRP1848-B05	9.76E+05	8.85E-03	9.07E-09
SRP1848-D09	1.07E+06	1.08E-02	1.01E-08

10

20

【 0 6 8 5 】

【表 8 - 3】

SRP1848-F06	4.56E+05	7.75E-03	1.70E-08
SRP1848-G10	7.58E+05	3.45E-03	4.55E-09
SRP1848-G04	5.91E+05	3.79E-03	6.40E-09
SRP1848-G06	5.69E+05	3.81E-03	6.70E-09
SRP1848-G07	6.05E+05	4.51E-03	7.45E-09
SRP1848-G09	8.56E+05	6.46E-03	7.56E-09
SRP1848-G11	6.96E+05	6.37E-03	9.14E-09

30

【 0 6 8 6 】

【表 9】

表 9. ヒト化 6D1(2060)抗体で得られた結果

40

SRP	Biacore 速度論			Igrov2 <sup>®</sup> 抗体細胞殺傷性、Nb-SC239	
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K <sub>D</sub> (M)	EC50 (nM)	スパン (%)
SRP2060-E10	5.82E+05	1.20E-03	2.06E-09	0.061	68
SRP2060-E05	5.41E+05	1.58E-03	2.92E-09	0.22	71
SRP2060-B01	5.61E+05	1.47E-03	2.62E-09	0.045	76
SRP2060-A06	5.47E+05	7.29E-03	1.33E-08	0.013	66

【 0 6 8 7 】

50

## 実施例 8

卵巣がん細胞株、子宮内膜がん細胞株、NSCLC細胞株、およびTNBC細胞株でのFOLR1発現

[00563] 卵巣がん、および子宮内膜がん、トリプルネガティブ乳がん(TNBC)、および非小細胞肺癌(NSCLC)では、高レベルのFOLR1が見出されている。報告されたFOLR1 mRNA発現レベルに基づき、卵巣がん細胞株、子宮内膜がん細胞株、TNBC細胞株、およびNSCLC細胞株のパネルを、ADC分子候補の*in vitro*試験に選択した。細胞表面上に発現するFOLR1受容体の数を測定するため、Alexa647コンジュゲート抗体1848-H01(Y180/F404)をFACS細胞結合アッセイに使用し、定量ビーズ(Bangs LaboratoriesのSimply Cellular抗ヒトIgGビーズ)で測定したコンジュゲート抗体の抗体結合能(ABC)に基づいて、FOLR1コピー数を決定した。表10に示されているように、卵巣がん細胞、子宮内膜がん細胞、TNBC細胞、およびNSCLC細胞でのFOLR1コピー数は、1細胞当たり35,000~4,000,000個の受容体の範囲だった。

【0688】

## 【表 10】

表 10. 種々の細胞株での FolR $\alpha$  コピー数

疾患適応症	細胞株	1 細胞当たりの FolR $\alpha$ コピー数
卵巣がん	OVKATE	3,590,356
	Igrov1	1,375,828
	OVMANA	1,224,753
	OVSAHO	842,703
	OVISE	678,472
	CAOV3	336,900
	OVCAR3	196,426
	OV90	97,717
子宮内膜がん	MFE-280	434,941
	HEC-1-A	220,690
	EFE-184	128,166
	HEC-1-B	176,400
	Ishikawa	194,128
	SNG-M	61,961
	NUGC-4	35,395
肺がん	H2342	1,419,355
	H1651	918,800
	H2110	347,447
	H441	251,390
	H226	85,164
	H2405	68,182
	H358	40,058
	H2052	37,677
	A549	35,078
	H1770	33,781
TNBC	HCC1143	255,813
	HEC-251	113,270
	HCC1599	65,624
	MDA-MB-468	61,588
	MDA-MB-231	50,005
	HCC38	40,712
	HCC1187	34,936
	HCC1937	23,097

10

20

30

40

50

## 【0689】

## 実施例 9

卵巣がん組織、および子宮内膜がん組織、TNBC組織、およびNSCLC組織でのFOLR1発現

[00564] 卵巣がん、および子宮内膜がん、TNBC、およびNSCLCの代表的な患者試料中のFolR 発現の広がり決定するために、免疫組織化学(IHC)染色を、上記4つの適応症について患者試料を含む市販の組織マイクロアレイ(TMA)で実施した。市販のFolR IHCアッセイキット(Biocare; カタログ番号IPI4006K G10)を製造業者の推奨プロトコールに従って使用して、TMA(Biomax; Biomax; カタログ番号BC1115b、EMC1021、BR1001、およびBC041115c)を、FolR 発現について染色した。スライドを画像化し、染色した腫瘍コアの染色をスコア化した。卵巣がんの約80%、子宮内

膜がん試料の約60%、TNBC試料の約30%、およびNSCLC試料の約50%で、FolR 陽性染色が観察され、こうした疾患が、FolR を標的とする療法剤の好適な適応症であり得ることが示唆された。卵巣試料および子宮内膜試料におけるFolR の発現の相対レベルは、表11に要約されている。

【0690】

【表11】

表11. 卵巣がん試料および子宮内膜がん試料でのFolR $\alpha$ 発現レベルの要約

適応症/スライドのカタログ番号 (Bio 最大 US)	疾患コアの 総数	染色強度			
		0	1+	2+	3+
隣接する正常組織を有する卵巣がん 組織マイクロアレイ、100 症例/100 コア(BC11115b)	97	21	19	29	25
子宮内膜がん組織マイクロアレイ、 102 症例/102 コア(EMC1021)	90	26	37	15	12

10

【0691】

20

実施例10

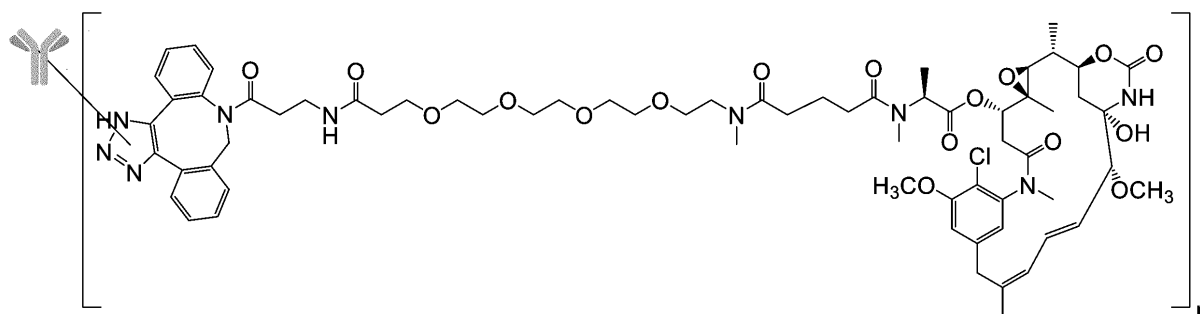
抗体-薬物コンジュゲート(ADC)評価

[00565] FolR1の細胞外ドメイン(または「FolR-ECD」)に対するbiacore親和性に基づき、HC F404部位にパラ-アジドメチル-L-フェニルアラニン(pAMF)が組み込まれた9つの抗体を、大規模化のために選択した。試験のために選択した9つの抗体は、1848-A01、1848-H01、1848-A08、1848-B04、1848-D02、1848-A07、1848-B10、1848-G10、および1848-G04だった。抗体1848-D02は、発現が不良だったため、さらなる調査には使用しなかった。残りの8つの抗体を、切断不能なマイタンシンにコンジュゲートして、下記のコンジュゲートM:

30

【0692】

【化133】



40

### コンジュゲートM

の構造を有する抗体-薬物コンジュゲート(ADC)を形成した。抗体-薬物コンジュゲート候補を、KB、Igrov1、HeLa、およびJEG3を含むFolR 発現細胞での細胞殺傷について試験した。表12には、コンジュゲート候補のKB細胞およびJEG3細胞に対するin vitro細胞傷害活性の要約が提供されている。

【0693】

## 【表 12】

表 12. 抗 FOLR1 抗体-薬物コンジュゲートの in vitro 細胞傷害活性

抗体	[IgG], µg/mL	KB 細胞での殺傷性		JEG3 細胞での殺傷性	
		EC50 (nM)	スパン (%)	EC50 (nM)	スパン (%)
1848-A01	1100	0.16	96	83*	94*
1848-A07	1021	0.17	96	80*	96*
1848-A08	1358	0.17	95	74*	95*
1848-B04	1257	0.3	98	113*	85*
1848-B10	802	0.23	98	43*	82*
1848-D02	1208	未試験	未試験	未試験	未試験
1848-G04	1415	0.31	94	38*	93*
1848-G10	1746	0.26	92	NC	NC
1848-H01	1723	0.24	93	NC	NC

\*推定

NC = 未算出

10

K B 細胞および J E G 3 細胞に対する細胞殺傷活性には A D C 間で有意差はなかった (表 12)。したがって、切断不能なマイタンシンとコンジュゲートして、薬物 - 抗体比が 2 (DAR2) のコンジュゲート M の構造を形成する 4 つのリード (1848-A01、1848-A07、1848-B04、1848-G10) を、B i a c o r e 親和性 (表 8) に基づく i n v i v o 研究および配列多様性の最大化のために選択した。加えて、D A R 2 を有する A D C には、J E G 3 細胞に対する弱い細胞傷害活性があった。

20

## 【0694】

[00566] 抗 F o l R リードの細胞殺傷活性に対する薬物 - 抗体比 (DAR) の効果を研究するため、D A R 2 を有する A D C を、細胞殺傷アッセイでの D A R 4 A D C に近づけるために、切断不能なマイタンシンにコンジュゲートされた二次 D A R 2 抗ヒト I g G ナノボディとも組み合わせた。このアッセイでは、二次ナノボディと組み合わせた場合、1848-B10 A D C が、J E G 3 細胞および I g r o v 1 細胞に対して最も高い細胞殺傷活性を示した (データ非表示)。この結果に基づき、他の 4 つのリード (1848-A01、1848-A07、1848-B04、1848-G10) に加えて、D A R 2 の 1848-B10 A D C を i n v i v o 研究に追加して、A D C 候補を評価した。i n v i v o 有効性研究試験の結果は、D A R 2 の 1848-B10 A D C のみが、K B モデルにおいて弱い腫瘍阻害を示したことを明らかにした (データ非表示)。

30

## 【0695】

[00567] 結果として、1848-B10 を、さらなる A D C 研究のためのリード抗体の 1 つとして選択した。

## 【0696】

## 実施例 11

40

## 上位 F O L R 1 抗体リードの有効性スクリーニング

[00568] D A R 2 のコンジュゲート M を含む A D C は、高レベルの F o l R を発現する K B 細胞に対して強力な i n v i t r o 活性を示した。しかしながら、A D C は、より穏健なレベルの F o l R を発現する J E G 3 細胞および I g r o v 1 細胞では不良な i n v i t r o 活性を示し、K B モデルでは i n v i v o 活性が低かった。J E G 3 細胞および I g r o v 1 細胞における F o l R 発現のパターンおよびレベルは、患者腫瘍での発現をより良好に再現するが、K B 細胞での A D C リードの評価は、異なるリードの特性を区別しないと考えられる。F o l R は、迅速な内部移行を起こし、リソソームに到達することなく再利用されるため、F o l R を標的とする A D C の活性を向上させるためには、エンドソーム区画で薬物を放出することができるリンカーを有することが有

50



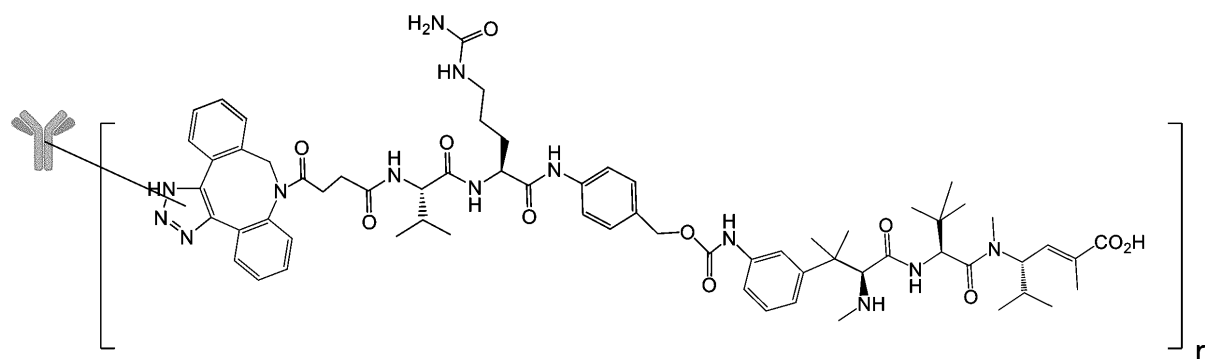
用であると予想される。加えて、原発性卵巣腫瘍および I g r o v 1 異種移植片での F o l R 発現は、不均質であり (Ab et al. 2015. Molecular Cancer Therapeutics 14 (7) : 1605-1613)、パイスタンダー活性を有する A D C は、こうした腫瘍では潜在的により高い活性を示すことができることが示唆されている。F o l R を標的とする A D C の設計を、標的の生物学的特徴ならびに卵巣がんの発現レベルおよびパターンに適応させるため、スクリーニング戦略に幾つかの変化を加えた。K B モデルを一次スクリーニングに使用し、I g r o v 1 細胞に対するリードの活性を *i n v i t r o* および *i n v i v o* で試験して、様々なリードを評価および比較した。

【 0 6 9 7 】

[00569] F o l R A D C 変異体の初期スクリーニングを、高レベルの F o l R を発現する K B 腫瘍で実施した。この研究では、同じリンカー - 弾頭 (下記のコンジュゲート P) およびコンジュゲーション部位 (Y180/F404) にコンジュゲートされた 4 つの異なる抗 F o l R 抗体の抗腫瘍効果の評価を試みた。K B 子宮頸癌細胞を、胸腺欠損ヌードマウスの皮下に移植し、表 1 3 に列挙されている 2 . 5 m g / k g の F o l R A D C 変異体の単一用量で処置した。A D C 変異体は、腫瘍が約 1 5 0 m m <sup>3</sup> に達した際に投与した。

【 0 6 9 8 】

【 化 1 3 4 】



コンジュゲート P

【 0 6 9 9 】

【 表 1 3 】

表 13. 試験した ADC 変異体

ADC 分子	抗体	コンジュゲーション部位	コンジュゲート形態	DAR
ビヒクル (PBS のみ)	--	--	--	NA
1	1848-B10	HC-Y180, F404	P	3.8
2	1848-A07	HC-Y180, F404	P	3.9
3	1848-B04	HC-Y180, F404	P	3.8
4	1848-H01	HC-Y180, F404	P	3.8

【 0 7 0 0 】

[00570] 動物体重の > 2 0 % 減少として規定される有意な体重減少が一切存在しないことにより証明されるように、どの試験物でも毒性は観察されなかった (図 6)。図 7 (A、B) は、ビヒクル対照群が研究エンドポイント (> 1 0 0 0 m m <sup>3</sup>) に到達した 2 5 日目における、K B 腫瘍成長および腫瘍サイズに対する処置の効果を示す。結果は、A D C 分

子1 (1848-B10 FoIR 抗体、Y180/F404、コンジュゲートP) およびADC分子4 (1848-H01 FoIR 抗体、Y180/F404、コンジュゲートP) が、対照と比較してKB腫瘍成長を有意に阻害したが、他の2つのADC変異体はいかなる抗腫瘍活性も呈しなかったことを示す。31日目の研究終了時まで、ADC分子1とADC分子4との間には有意差がなかった(図8)。したがって、1848-B10抗FoIR 抗体および1848-H01抗FoIR 抗体を含むADCを、さらなる特徴付けおよび試験のために調査した。

#### 【0701】

##### 実施例12

##### 抗体-薬物コンジュゲートの薬物-抗体比

[00571] 漸増DAR(2~6)および切断可能なリンカーを有するADCを評価して、こうした特徴を変化させることが分子の活性を向上させることになるかを決定した。ADCを標的とするFoIRの*in vivo*効力を増加させるため、各抗体に2、4、または6つのパラ-アジドメチル-フェニルアラニン(pAMF)残基が組み込まれている1848-B10抗体であって、切断不能なマイタンシンにコンジュゲートされている1848-B10抗体(コンジュゲートM、実施例10)および切断可能なヘミアステリンにコンジュゲートされている1848-B10抗体(コンジュゲートP、実施例11)を発現させて、DAR=2、4、または6のADCを生成した。

#### 【0702】

[00572] FoIR 陽性細胞(KB、Igrov1、およびJEG3)に対する*in vitro*細胞殺傷性は、コンジュゲートPの抗体1848-B10コンジュゲートが、中レベルのFoIR発現を示すIgrov1細胞に対してはコンジュゲートMの1848-B10コンジュゲートよりも強力であったことを示した(表14)。加えて、DARを4に増加させると、DAR2型と比較して効力が大幅に向上したADCがもたらされたが、DAR6ADCは、細胞殺傷活性をDAR4よりもさらにほんのわずかしが向上させなかった。こうしたデータに基づき、DAR4の切断可能なヘミアステリンのコンジュゲート(コンジュゲートP)を、FoIR ADCの最適なコンジュゲート形式であると決定した。

#### 【0703】

##### 【表14】

表14. 1848-B10 ADCの*in vitro*細胞傷害活性の比較

ADC分子	コンジュゲーションの部位	リンカー薬物 / コンジュゲート	DAR 予想値	DAR 測定値	KB(+++)		Igrov(++)		A549(-)	
					EC50 (nM)	スパン (%)	EC50 (nM)	スパン (%)	EC50 (nM)	スパン (%)
5	F404	コンジュゲートM	2	1.94	0.74	87	NC	NC	NK	NK
6	K42/F404	コンジュゲートM	4	3.86	0.42	94	NC	NC	NK	NK
7	K42/Y180/F404	コンジュゲートM	6	5.54	0.2	96	NC	NC	NK	NK
8	F404	コンジュゲートP	2	1.89	0.81	80	0.55	56	NK	NK
9	K42/F404	コンジュゲートP	4	3.69	0.35	94	0.17	62	NK	NK
10	K42/Y180/F404	コンジュゲートP	6	5.28	0.21	97	0.14	69	NK	NK

NC = 未算出

NK = 殺傷無し

#### 【0704】

##### 実施例13

##### ADCの異なる部位対の活性を比較するための研究

[00573] この研究では、同じFoIR 抗体(1848-B10)およびリンカー-弾頭(コンジュゲートP)を使用して、3つの異なるコンジュゲーション部位対(Y180/F404、Y180/K42、およびF404/K42)の抗腫瘍効果の比較を試みた。KB細胞およびIgrov1細胞に対する3つのADCの*in vitro*細胞殺傷活性は、非常に類似していた(表15)。

#### 【0705】

10

20

30

40

## 【表 15】

表 15. 試験した ADC (コンジュゲート P) の *in vitro* 細胞殺傷活性

ADC 分子	抗体	コンジュゲーション部位	コンジュゲート形態	DAR	KB 細胞での EC50 (nM)	Igrov1 細胞での EC50 (nM)
11	$\alpha$ -GFP	HC-Y180, F404	P	3.58	NK	NK
12	1848-B10	HC-Y180, LC-K42	P	3.93	0.21	0.085
1	1848-B10	HC-Y180, F404	P	3.82	0.21	0.083
9	1848-B10	HC-F404, LC-K42	P	3.90	0.19	0.061

10

## 【0706】

[00574] *in vivo* 有効性試験のため、KB 子宮頸癌細胞を胸腺欠損ヌードマウスに皮下移植し、表 15 に列挙されている 2.5 mg/kg の FOLR ADC 変異体の単一用量で処置した。ADC は、腫瘍が約 150 mm<sup>3</sup> に達した際に投与した。動物体重の > 20% 減少として規定される有意な体重減少が一切存在しないことにより証明されるように、どの試験物でも毒性は観察されなかった (図 9)。図 10 (A、B) は、ビヒクル処置腫瘍が研究エンドポイント (> 1000 mm<sup>3</sup>) に到達し、その後研究を終了した 21 日目における、KB 腫瘍成長および腫瘍サイズに対する処置の効果を示す。結果によると、異なるコンジュゲーション部位を有する 3 つすべての FOLR ADC 変異体 (ADC 分子 1、12、および 9) は、初期に腫瘍退縮を誘導し、ビヒクル対照と比較して腫瘍成長を有意に遅延させたが、対照抗 GFP ADC (ADC 分子 11) の挙動はビヒクルと同様だったことが示された (図 10 A および 10 B)。36 日目の研究終了まで、ADC 分子 12 は最良の奏功期間を呈し、この群のほとんどの腫瘍は成長が阻害されたままだったが、ADC 分子 1 および 9 では腫瘍再成長が観察された (図 10 A)。統計分析により、ADC 分子 12 は、ADC 分子 9 (p=0.0297) および ADC 分子 1 (p=0.0470) と比較して有意により有効だったことが示された (図 11)。結論として、Y180/K42 コンジュゲーション部位は、KB 腫瘍において、最良の効力および奏功期間をもたらした。

20

## 【0707】

30

## 実施例 14

## ADC 設計用のリード抗 FOLR1 抗体の選択に関する研究

[00575] 抗 FOLR ADC の潜在的リード抗体を評価するため、DAR4 を有するコンジュゲート P を形成するようにコンジュゲートされた FOLR 上位リードの選択を、*in vitro* でスクリーニングした。KB 細胞および Igrov1 細胞に対する上位抗体リードの *in vitro* 細胞殺傷活性は、非常に類似しており、結果は、表 16 に要約されている。

## 【0708】

## 【表 16】

表 16. リード ADC (コンジュゲート P) の *in vitro* 細胞殺傷活性

ADC 分子	試料	コンジュゲーションの部位	DAR	KB		Igrov1		A549	
				EC50 (nM)	スパン (%)	EC50 (nM)	スパン (%)	EC50 (nM)	スパン (%)
1	1848-B10	Y180/F404	3.82	0.21	98	0.083	76	NK	NK
2	1848-A07	Y180/F404	3.76	0.18	97	0.084	61	NK	NK
3	1848-B04	Y180/F404	3.84	0.16	97	0.081	68	NK	NK
4	1848-H01	Y180/F404	3.84	0.12	96	0.028	76	NK	NK

10

## 【0709】

[00576] 4つの上位リード抗体のDAR4を有する同じコンジュゲートPを、KBモデルでの*in vivo*有効性研究でスクリーニングした(図7、8)。こうした研究の結果に基づき、1848-B10および1848-H01を、さらなる特徴付けのための上位抗体リードとして選択した。1848-B10および1848-H01の配列ならびに対応するCDRは、表32に示されている。上位抗体リードの追加の特性は、表17に要約されている。

20

## 【0710】

## 【表 17】

表 17. リード抗体の特性

特性	1848-B10, Y180/F404	1848-H01, Y180/F404
K <sub>D</sub> (Biacore)	1.4 nM	1 nM
K <sub>D</sub> (FACS 細胞結合、(CHO-h-FOLR $\alpha$ ))	4.5 nM	3.7 nM
交差反応性、Cyno (CHO-c-FOLR $\alpha$ )	3.3 nM	3.8 nM
熱安定性 (DSC)	66.6° C, 85.9° C	66.8° C, 83.4° C
マウス PK(ADC、DAR 分析なし)*	11.2 日; 6.94mL/kg/日	14.3 日; 5.46mL/kg/日
Cyno PK (ネイキッド抗体)*	ほとんどの抗体と同等; T <sub>1/2</sub> = 13.6 日	ほとんどの抗体と同等; T <sub>1/2</sub> = 8.5 日
Cyno での ADA (ネイキッド抗体)*	非常に低い ADA 応答	すべての動物で ADA 応答が観察された。T <sub>1/2</sub> が影響を受けた。1 匹の動物では 2 回目の投与後に AUC 無し
ADC 細胞殺傷性 (Igrov1)、コンジュゲート=P	0.26nM、63%スパン	EC50<0.09nM、スパン>70% (10 回の独立実験の平均)
ADC 細胞殺傷性 (OVCAR3)、コンジュゲート=P		EC50 = 0.03 nM, スパン= 71%
KB モデルおよび臨床 Igrov1 モデルにおける複数のリードの有効性	ビヒクル群(E4)と比較して弱い腫瘍阻害	ビヒクル群(E4)と比較して有意な腫瘍阻害

30

40

DSC:示差走査熱量測定法

\*サロゲート ADC: (1)1848-B10、Y180/K42、(2)1848-H01、Y180/K42

## 【0711】

50

## 実施例 15

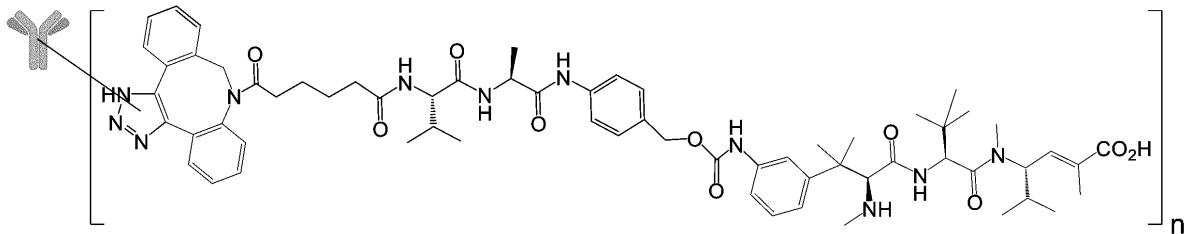
## 切断可能なヘミアステリンに最適なリンカーの選択

[00577] 異なる切断特性を有する複数のリンカーを有するヘミアステリンを生成した。抗体 1848-B10 を、リンカー変異体候補の幾つかにコンジュゲートし、得られた ADC を、*in vitro* 細胞傷害アッセイで試験した (表 18)。リンカー変異体候補の中でも、ValCit の代わりに ValAla のタンパク質分解配列を有するコンジュゲート P の代替物は、良好な細胞殺傷活性を示し (下記のコンジュゲート Q)、大規模化可能性および合成効率に潜在的利点をもたらした。

【0712】

【化135】

10



コンジュゲート Q

20

【0713】

【表18】

表 18. 切断可能なヘミアステリンリンカー-薬物変異体の *in vitro* 細胞傷害性の比較

ADC 分子	抗体	コンジュゲート 形態	DAR	Igrov1		A549	
				EC50 (nM)	スパン (%)	EC50 (nM)	スパン (%)
12	1848-B10, Y180/K42	P	3.74	0.12	78	NK	NK
16	1848-B10, Y180/K42	Q	3.6	0.32	66	NK	NK

30

ADC 変異体候補の複数ロットの *in vitro* 細胞傷害活性は、表 19 に要約されている。ADC 分子 4 は、異なる実験にわたって、0.03 ~ 0.66 nM の範囲の EC50 および 69 ~ 96 % の範囲のスパンを有する一貫した細胞殺傷性を示した。

【0714】

## 【表 19】

表 19. KB 細胞株および Igrov1 細胞株での *in vitro* 細胞傷害性研究の要約

細胞株	1848-H01、 Y180/F404、 コンジュゲート P (ADC 分子 4)		1848-H01、 Y180/F404、 コンジュゲート Q (ADC 分子 20)		1848-B01、 Y180/F404、 コンジュゲート P (ADC 分子 1)		1848-B10、 Y180/F404、 コンジュゲート Q (ADC 分子 17)	
	EC50 (nM)	スパン (%)	EC50 (nM)	スパン (%)	EC50 (nM)	スパン (%)	EC50 (nM)	スパン (%)
KB	0.66	78			0.45	83		
	0.12	96			0.21	98		
Igrov1	0.11	69			0.26	63		
	0.03	76			0.08	76		
			0.31	72			0.21	71
	0.16	62	0.24	42				
	0.12	68	0.21	53				
	0.06	70	0.13	54				
	0.08	80	0.13	70				
					0.09	81	0.23	70
				0.02	74	0.11	73	

10

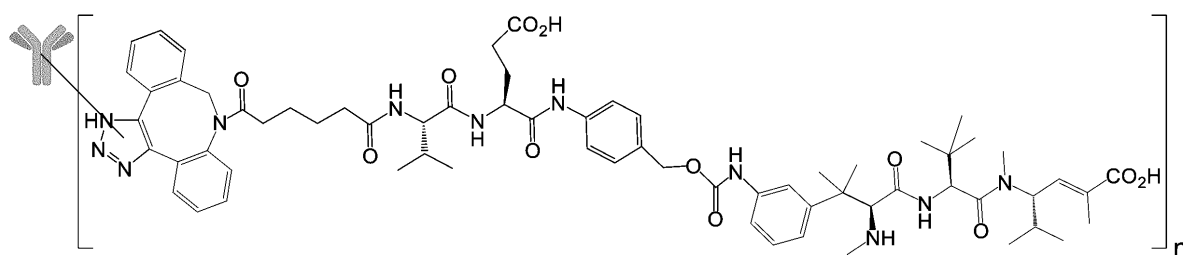
20

## 【0715】

[00578] 加えて、別々の研究では、抗体 - 薬物コンジュゲートを、抗体 1848 - B10 Y180/F404 およびコンジュゲート R (下記) を使用して合成した。

## 【0716】

## 【化 136】



30

## コンジュゲート R

コンジュゲート R は、ヘミアステリン弾頭に連結された DBCO アジポイル Val Glu を含む。コンジュゲート R を有する 1848 - H01 HC - Y180/F404 を含む ADC (ADC 分子 22) は、Igrov1 モデルにおいて、ADC 分子 4 と同等の *in vitro* 細胞殺傷活性 (データ非表示) ならびに同等の *in vivo* 活性を示した (図 14 A、14 B)。したがって、こうした結果は、代替的リンカー弾頭を有する抗体 1848 - B10 HC - Y180/F404 を、FolR を標的とする ADC に使用することができることを示す。

40

## 【0717】

## 実施例 16

## 最適な ADC リードの選択

[00579] この研究では、抗体、コンジュゲーション部位、およびリンカー弾頭を含む FolR ADC 分子の異なる態様の評価を試みた。Igrov1 卵巣がん細胞を SCID ベージュマウスに皮下移植し、表 20 に列挙されている 2.5 mg/kg の FolR ADC 変異体の単一用量で処置した。ADC は、腫瘍が約 150 mm<sup>3</sup> に達した際に投与した。

50

【 0 7 1 8 】

【 表 2 0 】

表 20. 有効性スクリーニングで試験した ADC

ADC 分子	抗体	コンジュゲーション部位	コンジュゲート形態	DAR	Igrov1 細胞殺傷性	
					EC50 (nM)	スパン (%)
1	1848-B10	Y180/F404	P	3.82	0.09	76
17	1848-B10	Y180/F404	Q	3.74	0.21	71
12	1848-B10	K42/Y180	P	3.72	0.12	78
16	1848-B10	K42/Y180	Q	3.6	0.32	66
4	1848-H01	Y180/F404	P	3.84	0.03	76
18	1848-H01	K42/Y180	P	3.87	0.14	70
19	1848-H01	K42/Y180	Q	3.61	0.23	52

10

【 0 7 1 9 】

[00580] 動物体重の > 20% 減少として規定される有意な体重減少が一切存在しないことにより証明されるように、どの試験物でも毒性は観察されなかった (図 12)。図 13 (A、B) は、ビヒクル対照処置腫瘍が研究エンドポイント (約 1000 mm<sup>3</sup>) に到達した処置後 24 日目における、Igrov1 腫瘍成長および腫瘍サイズに対する処置の効果を示す。試験した 7 つの FOLR ADC 変異体のうち、ADC 分子 4 が、ビヒクル対照と比較して腫瘍成長を有意に阻害した (図 13 A、13 B)。この結果により、Igrov-1 腫瘍では、1848-H01、Y180/F404、および SC239 が、それぞれ抗 FOLR 抗体、コンジュゲーション部位、およびリンカー弾頭の最適な組合せであると特定される。

20

【 0 7 2 0 】

実施例 17

FOLR アイソフォームに対する ADC 変異体の交差反応性

[00581] 葉酸受容体は、ヒトでは、hFOLR<sub>1</sub>、hFOLR<sub>2</sub>、および hFOLR<sub>3</sub> (また、それぞれ FOLR1、FOLR2、および FOLR3) と称される 3 つのアイソフォームを有する。hFOLR<sub>1</sub> および hFOLR<sub>2</sub> は、GPI アンカーを介して原形質膜に発現されるが、FOLR<sub>3</sub> は分泌される。正常組織では、FOLR<sub>1</sub> は、一般に分極上皮細胞の頂端表面に発現され、hFOLR<sub>2</sub> は、正常な骨髄造血の後期で、胎盤、脾臓、および胸腺で発現される。骨髄単球性系統の正常な発生では、hFOLR<sub>1</sub> は、CD14 と共に共発現される分化マーカーとして単球にて比較的低レベルで見出されるが、CD34+ 正常造血前駆細胞には見出されない。hFOLR<sub>2</sub> は、脾臓、胸腺、および骨髄においてリンパ球から低レベルで分泌される。3 つの FOLR アイソフォームは、FOLR<sub>1</sub> と高度な相同性を有し、FOLR<sub>1</sub> および FOLR<sub>2</sub> とそれぞれ 72% および 71% の配列同一性を共有する。したがって、FOLR<sub>1</sub> に対するリード抗体 1848-B10 および 1848-H01 の特異性、ならびに FOLR<sub>1</sub> および FOLR<sub>2</sub> を発現する細胞との交差反応性の程度を決定することは有用である。

30

40

【 0 7 2 1 】

[00582] 3 つの葉酸受容体アイソフォーム (hFOLR<sub>1</sub>、hFOLR<sub>2</sub>、および hFOLR<sub>3</sub>) を安定的に発現する 293T 細胞を生成し、抗体 1848-B10 および 1848-H01 に対する結合を FACS アッセイで試験した。このアッセイでは、1848-B10 ではなく 1848-H01 が、FOLR<sub>1</sub> に対して非常に弱い結合を示したが (図 15)、FOLR<sub>2</sub> に対しては示さなかった (図示せず)。FOLR<sub>1</sub> 発現細胞に対する 1848-H01 結合は、156 nM の親和性を示し、B<sub>max</sub> は、FOLR<sub>1</sub> の B<sub>max</sub> と比較して 20% に過ぎなかった。FOLR<sub>1</sub> アイソフォームおよび FOLR<sub>2</sub> アイソフォームを発現

50

する293T細胞に対する、対応するADC分子4およびADC分子1の細胞傷害活性を評価すると、10nMよりも高い濃度のADC分子4が、FolRを発現する細胞に対して弱いが特異的な細胞傷害効果を示し、EC50は約100nMであり、FolR発現細胞のEC50が10nM未満で対照的だったことが示された(図16)。

【0722】

実施例18

造血細胞におけるADC変異体の結合および細胞傷害活性

[00583] ADC分子1およびADC分子4が造血細胞の生存率に影響を及ぼすかを決定するため、FolR発現を、単離されたPBMC(n=4ドナー)のT細胞、B細胞、および単球にて決定し、抗体1848-H01および1848-B10が免疫細胞上のFolRに結合する程度を評価した。不均質な(ドナー可変性の)FolR発現は、単球では検出されなかったが、この発現は一過性であり、培養1日後に消失した(データ非表示)。その一方でFolRは、単球の部分集団にて一貫して発現された(データ非表示)。抗体1848-B10でも抗体1848-H01でも、単球に対する結合は観察されなかったが、FolR発現は、こうした細胞で検出可能だった(データ非表示)。さらに、CD14単球を、ADC分子1およびADC分子4による処置後の生存率についてアッセイして、潜在的な細胞傷害性について調べた。細胞結合が陰性であることに相関して、ADC変異体は、単球/マクロファージの生存率に影響を及ぼさず、ヒトのPB単球に臨床的影響がないことが示唆された(データ非表示)。

【0723】

[00584] FolRは、M1マクロファージでは発現が弱く、M2マクロファージおよびそれらのサブセットでは高度に発現される。したがって、抗体1848-H01および1848-B10を、単離されたマクロファージに結合する能力について評価した。しかしながら、こうした細胞ではFolR発現が確認されたにもかかわらず、抗体は、M1マクロファージにもM2マクロファージにも結合を示さなかった。この相互作用の欠如を確認するため、対応するADC分子(1、4)を、分極マクロファージに対する細胞殺傷活性について評価した(10,000個の細胞、インキュベーション期間=3日)。結合の欠如と一致して、いずれのADC変異体も、複数のドナーに由来するマクロファージに対していかなる細胞傷害活性も示さなかった(データ非表示)。

【0724】

[00585] したがって、ADC変異体は、ヒトドナーから単離された単球およびマクロファージに対する結合および細胞傷害性影響が最小限であることが実証された。

【0725】

実施例19

抗体-薬物コンジュゲートの追加特徴付け

[00586] 抗FolR抗体を含むリード抗体-薬物複合体(ADC)を評価し、特徴付けた。測定および分析した特色には、リードADCの発現および精製プロファイル、コンジュゲーション効率、ならびに臨床関連モデルにおけるADCの*in vitro*活性および*in vivo*活性が含まれていた。抗FolRリードADCの特性は、表21に要約されている。

【0726】

10

20

30

40



## 【表 2 1】

表 21. リード抗 FolR $\alpha$  ADC の特性

特性	ADC 分子 4	ADC 分子 20
MALDI による DAR	3.73	3.81
コンジュゲーション効率	93%	95%
ADC 細胞殺傷性	Igrov1: EC50 = 0.08nM. スパン = 80%	Igrov1: EC50 = 0.13 nM, スパン = 70%
前臨床 <i>in vivo</i> 有効性	5mpk 用量以上で完全 な腫瘍増殖阻害	10 および 15mpk で完 全な腫瘍阻害、5mpk で弱い腫瘍阻害

10

## 【0727】

実施例 20

用量設定有効性試験

[00587] ADC 分子 4 および ADC 分子 20 の用量応答関係性を、Igrov-1 腫瘍で評価した。この研究では、(1) ヘミアステリンに基づくリンカー弾頭にコンジュゲートされた FolR ADC 変異体 (コンジュゲート P、Q) が優れていたかを評価すること; (2) こうした FolR ADC 変異体の抗腫瘍活性を、比較用分子 (ADC 分子 21) と比較すること、および (3) 特定されたより有効な FolR ADC 変異体の最小および最大有効用量を決定することを試みた。試験物はすべて表 22 に記載されている。

20

## 【0728】

## 【表 2 2】

表 22. 用量範囲試験で試験した ADC

ADC 分子	抗体	コンジュゲーション 部位	コンジュゲート 形態	DAR
ビヒクル (PBS のみ)	NA	NA	NA	NA
4	1848-H01	Y180/F404	P	3.73
20	1848-H01	Y180/F404	Q	3.76
21	Mov19-スルホ-SPDB-DM4			3.3

30

## 【0729】

[00588] 確立 Igrv1 卵巣腫瘍を有する SCID ベージュマウスを、4 用量の ADC 分子 4 または ADC 分子 20 で 1 回処置した。用量は、2.5 mg/kg ~ 15 mg/kg の範囲だった。比較のため、ベンチマーク群を、5 mg/kg の比較用 ADC 分子 (ADC 分子 21) で 1 回処置した。有意な体重減少 (動物体重の > 20% 減少として規定される) が存在しないことにより証明されるように、どの試験物でも毒性は観察されなかった (図 17)。図 18 (A、B、C) は、ビヒクル対照処置腫瘍が研究エンドポイント (> 1000 mm<sup>3</sup>) に到達した処置後 21 日目までの Igrv1 腫瘍成長および個々の腫瘍サイズに対する処置の効果を示す。21 日目の腫瘍サイズを比較すると (ビヒクル対照に対して)、5 mg/kg および 10 mg/kg 用量の ADC 分子 4 は、p 値がより低いことに基づき、等価用量の ADC 分子 20 または比較用 ADC 分子 21 のよりも有効であることが示される (図 18 C)。最も高い用量 (15 mg/kg) では、ADC 分子 4 および ADC 分子 20 は両方とも、ビヒクル対照と比較して同様の p 値で強力な抗腫瘍活性を示した (図 18 C)。用量毎に分類した腫瘍成長曲線の対照比較は、より低い用量では ADC 分子 4 の活性のほうが優れていることに基づき、ADC 分子 4 が、ADC 分子 20 よりも

40

50

強力であることを明らかにした(図19、A~D)。処置後26日目までの腫瘍停滞が観察されたのは、ADC分子20では10mg/kgだったのに対し、ADC分子4では5mg/kgだった(図19B、図19C)。腫瘍退縮の誘導は、ADC分子20では15mg/kgから始まったのに対し、ADC分子4では10mg/kgから始まった(図19C、19D)。加えて、ADC分子4は、5、10、および15mg/kgのADC分子20および5mg/kgの比較用ADC分子21と比較して、300mm<sup>3</sup>に到達するまでの腫瘍成長を有意に遅延させた(図20)。

#### 【0730】

[00589] まとめると、こうした結果は、ADC分子4が、Igrov1腫瘍では、ADC分子20およびADC分子21よりも有意に有効であることを示している。ADC分子4の最小有効用量は、5mg/kgで観察されたが、奏功期間が最も長い最大有効用量は、15mg/kgだった。

10

#### 【0731】

##### 実施例21

カルボプラチンとの併用処置におけるADC変異体の有効性

[00590] 卵巣がんの標準的な化学療法剤であるカルボプラチンと組み合わせたADC分子4の有効性を、Igrov1腫瘍で評価した。確立Igrov1腫瘍(平均腫瘍サイズ150mm<sup>3</sup>)を保持する動物を、2回の処置で7日毎に(q7dx2)60mg/kgのカルボプラチンと共にまたは伴わずに2.5mg/kgのADC分子4の単一用量で処置した。図21Aは、ビヒクル対照処置腫瘍の平均が研究エンドポイント(約1200mm<sup>3</sup>)に到達した処置後29日目までのIgrov1腫瘍成長に対する処置の効果を示す。29日目の最終腫瘍サイズおよび腫瘍成長阻害(TGI)を分析すると、単剤ADC分子4およびカルボプラチンは、ビヒクル対照と比較して中程度の活性を呈し、TGIは、それぞれ50%および70%からの範囲だったことが示された(図21Bおよび図21C)。ADC分子4とカルボプラチンとの組合せは、カルボプラチン単独と比較して有効性を有意に向上させたが、この組合せは、単剤ADC分子4との比較では有意差を示さなかった(図21A)。併用処置動物の最終平均腫瘍サイズは、単剤カルボプラチン処置動物と比較して有意により小さかった(414mm<sup>3</sup>対842mm<sup>3</sup>、p=0.0011)(図21B)。加えて、併用処置群のTGIは、単剤カルボプラチン群の47%に対して79%とより高かった(p=0.0008)(図21C)。

20

30

#### 【0732】

[00591] 結論として、ADC分子4をカルボプラチンと組み合わせると、単剤カルボプラチンと比較して有意な追加の利益が観察された。この観察は、類似用量のADC分子4およびカルボプラチンが投与された同じモデルを使用した2つの追加独立研究でも一貫して再現された(データ非表示)。

#### 【0733】

##### 実施例22

卵巣腫瘍モデルにおけるADC変異体の有効性

[00592] ADC分子4の有効性を、ヒト卵巣細胞株OVCA R3腫瘍モデルで評価した。100~200mm<sup>3</sup>の範囲の確立OVCA R3腫瘍を保持する動物を、2.5または5mg/kgのADC分子4の単一用量で処置した。図22(A、B)は、ビヒクル対照処置腫瘍の平均が>1500mm<sup>3</sup>に達した処置後31日目における、OVCA R3腫瘍成長および最終腫瘍サイズに対する処置の効果を示す。2.5mg/kgのADC分子4による処置は、処置のおよそ12日後までの腫瘍停滞をもたらし、5mg/kgのADC分子4は、腫瘍退縮を誘発したが、処置後20日目付近で再成長が観察された(図22A)。31日目の最終腫瘍サイズを分析すると、2.5および5mg/kgのADC分子4による処置は両方とも、ビヒクル対照と比較して有意に有効であり、それぞれ60%および89%の腫瘍成長阻害(TGI)を呈することが示された(図22B)。

40

#### 【0734】

##### 実施例23

50

子宮内膜患者由来の異種移植モデルにおけるADC変異体の有効性

【00593】 子宮内膜がん患者由来の異種移植 (PDX) モデルでのFolR 発現レベルを、FolR に対するビオチン化マウスモノクローナル抗体を使用した異種移植組織の免疫組織化学分析により評価した。ADC分子4の有効性を、こうしたPDXモデルのサブセットで評価した。陰性の、低い (+)、中程度の (++)、および高い (+++) FolR 発現を有するモデルが含まれていた。確立 (約 100 ~ 200 mm<sup>3</sup>) PDX腫瘍を保持する動物は、10 mg / kg のADC分子4を週1回静脈内 (IV) 注射で受け取ったか (n=3)、または群平均が > 1,000 mm<sup>3</sup> になるまで、もしくは処置後45日目まで無処置だった (対照、n=2~3)。処置後14日目の前に腫瘍が1,000 mm<sup>3</sup> に達した場合、エンドポイントを、2,000 mm<sup>3</sup> に延長した。

10

【0735】

【00594】 試験したFolR 陽性モデルの約50%において統計的に有意な有効性が観察され、腫瘍成長阻害 (TGI) は、およそ50%から100%よりも高いパーセント (処置開始時の腫瘍サイズ未満への退縮を示す) までの範囲だった。その一方で、FolR 発現が陰性であるすべてのPDXモデルでは、有意な活性は観察されなかった。ADC分子4の抗腫瘍活性の度合いは、FolR 発現レベルと正に相関すると考えられた (例えば、FolR のレベルがより高いPDX腫瘍は、ADC分子4による処置にตอบสนองして、より高いTGIを呈した)。図示されているデータ (図23) は、有効性を呈したモデルの一部の代表的なものである: (A) FolR 発現が陰性であるPDXモデル; (B) FolR + 発現を示すPDXモデル; (C、D) FolR ++ 発現を示すPDXモデル; (E、F) FolR +++ 発現を示すPDXモデル。TGIパーセント (対照腫瘍の最終日に決定した) および対応するp値が、グラフに示されている。TGIの統計分析は、独立t検定を使用して実施した。5%未満の蓋然性 (p<0.05) を、有意であるとみなした。すべてのグラフは、平均 ± SEMとして表されている。

20

【0736】

実施例24

アベルマブとの併用処置におけるADC変異体の有効性

【00595】 PD-L1阻害剤アベルマブ (臨床等級) と組み合わせたADC分子4の有効性を、確立MC38-FolR 腫瘍を保持する動物で評価した。結果は、図24および図25に示されている。図24Aおよび図25Aは、ADC分子4、アベルマブ、またはその両方の組合せの表示用量にตอบสนองしたMC38-hFolR 腫瘍成長曲線を示す。IACUCプロトコルに基づく腫瘍サイズ制限に達したために単剤処置群の動物の > 50%を安楽死させるまでの、成長曲線が示されている。図24Bは、対照腫瘍の平均が > 1200 mm<sup>3</sup> になった12日目における、個々の腫瘍サイズの散布図である。ビヒクル対照と比較するための統計分析は、一元配置ANOVAを使用してダネット多重比較検定で実施した。5%未満の蓋然性 (p<0.05) を、有意であるとみなした。図25Bは、表示用量のADC分子4、アベルマブ、またはその両方の組合せによる処置にตอบสนองして生存する動物の割合を示す Kaplan-Meier 曲線である。すべてのグラフは、平均または個々の値 ± SEMとして表されている。

30

【0737】

【00596】 図24に示されているように、いずれかの用量 (IV注射により10 mg / kg または15 mg / kg を1回) の単剤ADC分子4またはアベルマブ (q3dx3で腹腔内投与) は、初期にはおよそ7日目までの腫瘍停滞をもたらし、併用処置は、腫瘍退縮を誘導した (図24A)。12日目の腫瘍サイズの分析は、ビヒクル対照と比較して、すべての処置群において腫瘍成長の有意な阻害を示した (図24B)。継続的にモニタリングすることにより、アベルマブと組み合わせたADC分子4は、15匹中14匹の動物において完全な退縮 (例えば、触知可能な腫瘍がないこと) がもたらされたことにより証明されるように、いずれの単剤単独と比較しても抗腫瘍活性を顕著に増強したことが明らかになった (図24B)。

40

【0738】

50

[00597] 図 25 に示されているように、10 mg/kg の ADC 分子 4 + アベルマブ群の 1 匹の動物では、腫瘍再成長が観察され、最大腫瘍サイズに達したため、59 日目に安楽死させた (図 25 A)。さらに、併用処置は、健康な動物の生存が有意に延長され、正常な体重増加を示し、処置の 112 日後までに腫瘍の再成長はなく、単剤よりも生存期間中央値が 3 ~ 4 倍長いことに基づき、治癒効果または完全寛解を示した (図 25 B)。

【0739】

実施例 25

SCID ベージュマウスにおける ADC 変異体の薬物動態特性

[00598] K B 腫瘍モデルおよび I g r o v 1 腫瘍モデルにおいて良好な有効性を示した F o l R ADC 変異体候補の非コンパートメント薬物動態パラメーターを、腫瘍不保持 SCID ベージュマウスで評価した。単回の 5 mg/kg I V ボーラスを投与し、試料を採取し、異なるマウスに由来するものをプールして、薬物動態 (PK) パラメーターの時点データを得た。F o l R ADC 変異体は、マウス F o l R に結合しないため、抗原媒介性 PK 効果は予想されない。試験物のリストおよび結果の要約は表 23 に示されている。

【0740】

【表 23】

表 23. SCID ベージュマウスにおける FolR $\alpha$  ADC 変異体の薬物動態パラメーター

パラメーター	単位	ADC 分子 4	ADC 分子 20	ADC 分子 21
用量	mg/kg	5	5	5
研究期間	日数	21	21	21
T <sub>1/2</sub>	日数	6.36	5.48	7.59
C <sub>0</sub>	$\mu$ g/mL	122	125	115
C <sub>max</sub> $\pm$ SE	$\mu$ g/mL	118 $\pm$ 5	123 $\pm$ 10	113 $\pm$ 4
AUC <sub>(0-all)</sub> $\pm$ SEM	日数* $\mu$ g/mL	476 $\pm$ 22	543 $\pm$ 22	447 $\pm$ 8
AUC <sub>(0-<math>\infty</math>)</sub>	日数* $\mu$ g/mL	523	580	510
CL	mL/日/kg	9.57	8.63	9.8
V <sub>SS</sub>	mL/kg	79.7	62.2	95.2

【0741】

[00599] 濃度 - 時間曲線の対数 - 線形プロットの回帰分析から排出半減期 (T<sub>1/2</sub>) を決定した。具体的には、ADC 分子 4 の T<sub>1/2</sub>、CL、および V<sub>SS</sub> は、それぞれ 6.36、9.57、および 79.7 だった。加えて、ADC 分子 4 の C<sub>max</sub> は、118  $\pm$  5  $\mu$  g/mL であると決定された。

【0742】

[00600] 概して、試験したすべての F o l R ADC 変異体の薬物動態特性は同等であり、同様の PK プロファイル値を呈した (図 26)。加えて、すべての試験物のマウス薬物動態プロファイルは、他の FDA 承認モノクローナル I g G 抗体の PK プロファイルと同様の PK プロファイルを呈した。

【0743】

実施例 26

カニクイザルにおける ADC リード抗体の薬物動態特性

[00601] K 4 2 / Y 1 8 0 コンジュゲーション部位を有する抗体 1 8 4 8 - B 1 0 および 1 8 4 8 - H 0 1 の非コンパートメント薬物動態 (PK) パラメーターを、カニクイザル (cynomologous monkey) (各抗体用量毎に n=3) における反復投与研究で評価した。2 回の 10 mg/kg I V 用量を 1 日目および 15 日目に投与し、試料を分析して PK パラメーターおよび抗薬物抗体 (ADA) 応答を決定した。この 2 つの抗体は、ヒト標的と同等

の親和性で c y n o F o l R に結合するため、抗原媒介性 P K 効果が予想されるであろう。表 2 4 に要約されているように、両抗体の P K プロファイルは類似している。

【 0 7 4 4 】

【表 2 4】

表 24. カニクイザルにおけるリード抗 FolR  $\alpha$  抗体の薬物動態パラメーター

処置		終末期 $t_{1/2}$	$C_0$	AUC <sub>(0-最終)</sub>	AUC <sub>(0-∞)</sub>	クリアランス	$V_{ss}$
		(日数)	( $\mu\text{g/mL}$ )	(日数* $\mu\text{g/mL}$ )	(日数* $\mu\text{g/mL}$ )	( $\text{mL/日/kg}$ )	( $\text{mL/kg}$ )
1848-B10, K42/Y180 (用量 1)	平均	9.73	263	1100	1700	6.02	78.8
	SE	1.01	8	95	171	0.59	8.4
1848-B10, K42/Y180 (用量 2)	平均	13.1	241	1670	2110	4.74	83.2
	SE	2.3	14	120	40	0.09	15.5
1848-H01, K42/Y180 (用量 1)	平均	6.54	267	1010	1310	7.83	67.3
	SE	0.51	8	60	130	0.83	2.0
1848-H01, K42/Y180 (用量 2)	平均	8.08	220	1370	1530	6.60	71.3
	SE	2.51	25	30	110	0.47	12.1

10

20

30

40

50

【 0 7 4 5 】

【00602】 抗体 1 8 4 8 - H 0 1 (K42/Y180) の平均薬物動態パラメーターは、投与 1 後および投与 2 後で類似していた。投与 1 後および投与 2 後の平均血漿クリアランスは、それぞれ 7 . 8 3  $\text{mL/日/kg}$  および 6 . 6 0  $\text{mL/日/kg}$  であり、分布容積は、それぞれ 6 7  $\text{mL/kg}$  および 7 1  $\text{mL/kg}$  だった。投与 1 および投与 2 の平均終末期半減期は、それぞれ 6 . 5 日 および 8 . 0 日 だった。1 8 4 8 - B 1 0 (K42/Y180) の平均薬物動態パラメーターは、投与 1 後および投与 2 後で同等だった。投与 1 後および投与 2 後の血漿クリアランスは、それぞれ 6 . 0 2  $\text{mL/日/kg}$  および 4 . 7 4  $\text{mL/日/kg}$  だった。投与 1 および投与 2 の平均終末期半減期値は、それぞれ 9 . 7 日 および 1 3 日 だった。分布容積は、およそ 8 0  $\text{mL/kg}$  だった。

【 0 7 4 6 】

【00603】 また、処置動物の血清試料を、抗薬物抗体の発生について分析した（データ非表示）。A D A 分析では、両抗体とも 1 5 日目（第 1 の投与後）には有意な応答はなかったことが示されたが、2 8 日目および 4 3 日目（1 5 日目における第 2 の投与後）では数匹の動物で A D A が検出された。

【 0 7 4 7 】

実施例 2 7

カニクイザルにおける A D C 候補の薬物動態学的評価

【00604】 1 日目および 2 2 日目に、I V 緩徐ボラス用量のビヒクル対照または A D C 分子 4 を雌カニクイザルに 1  $\text{mg/kg}$ 、3  $\text{mg/kg}$ 、1 0  $\text{mg/kg}$ 、および 3 0  $\text{mg/kg}$  の用量で投与し (n=3/群)、4 3 日目まで観察した。毒物動態プロファイル評価（総抗体、ADC、および遊離薬物 (I) 異化代謝産物) のため、幾つかの時点で血清および血漿をすべての群から収集した。毒物動態分析は、A D C、総抗体、および遊離薬物 (I) の循環レベルを評価することにより判断したところ、A D C 分子 4 の曝露をすべての用量で確認した。A D C、総抗体、および遊離薬物 (I) の平均  $C_{m a x}$  および A U C 値は、A D C 分子 4 の用量レベルの増加と共にほぼ用量比例的に増加し、1 日目および 2 2 日目で概して同様だった。A D C の半減期 ( $T_{1/2}$ ) は、1 . 7 日から 2 日よりも長期までの

範囲であり、 $C_{max}$  は、投与した用量に応じて  $29 \sim 560 \mu\text{g/mL}$  の範囲だった。

【0748】

実施例 28

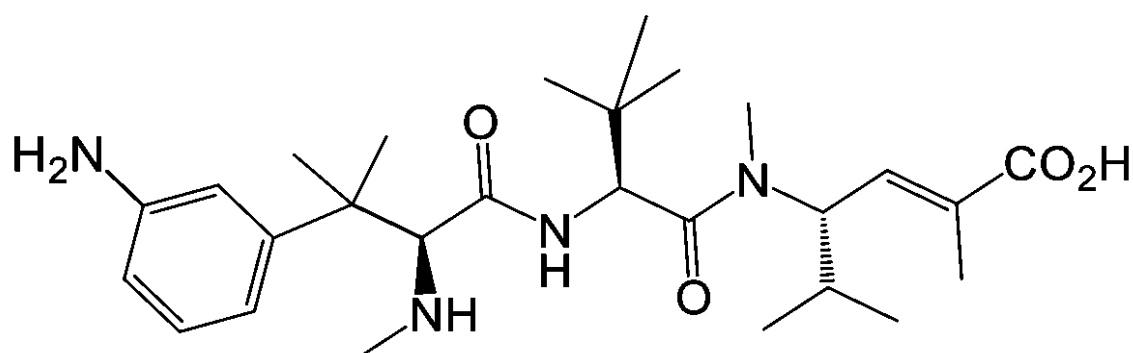
A D C 候補から放出された異化代謝産物の特定

[00605] ここで説明する抗 F o l R A D C は、エンドソームまたはリソソーム内でプロセッシングされて、代謝産物である遊離薬物 (I) の放出がもたらされ、それが周囲の細胞に浸透してバスタンダー活性を引き起こすことができることが予測される。コンジュゲート P およびコンジュゲート Q から放出される遊離薬物は、下記に示されている構造 (I) の化合物であると予測される。

【0749】

10

【化137】



20

(I)

【0750】

[00606] 培養細胞での遊離薬物 (I) の生成を確認し (図示せず)、I g r o v 1 腫瘍を A D C 分子 1 および A D C 分子 17 で処置し、投与後の様々な時点で腫瘍を回収した。腫瘍をホモジナイズし、アセトニトリルで抽出し、溶媒抽出画分を L C / M S で分析した。A D C 分子 1 および A D C 分子 17 で処置した動物では、異化代謝産物 C 1 が、腫瘍試料で検出されたが、処置マウスの血漿では検出されなかった (図 27)。C 1 の L C / M S プロファイルは、予測される異化代謝産物である遊離薬物 (I) のプロファイルと一致し、その構造は質量分析により確認した (図示せず)。遊離薬物 (I) は、*i n v i t r o* で細胞傷害活性を有し、 $E C_{50}$  は、試験した細胞株に応じて  $0.5 \sim 20 \text{ nM}$  の範囲だったことが示された (表 26、細胞株のデータはすべてが示されている訳ではない)。

30

【0751】

実施例 29

A D C 候補の I N V I V O 安定性

40

[00607] A D C 分子 4 の *i n v i v o* 安定性を、 $5 \text{ mg/kg}$  の A D C の単一用量後にヌード系統のマウスで測定した。血漿を種々の時点で収集し、総 I g G を E L I S A で分析した。循環 A D C の D A R 分析は、親和性捕捉し、続いて L C - M S を行うことにより測定した。データは、D A R 値が、研究の過程で変化しないことを示す (図 28)。観察された分解ピークも実行中には変化せず、元のストックに見出される通りの同じ量で存在する。

【0752】

実施例 30

血漿中での A D C 候補の安定性

[00608] A D C 分子 4 および A D C 分子 20 の安定性を、カニクイザルおよびヒトの血

50

漿において試験して、2つのリンカー-薬物、コンジュゲートPおよびコンジュゲートQの安定性を比較した。50 μg/mLのADCを、PBS、ヒト血漿、およびカニクイザル血漿中で、重複してインキュベートした。試料を、60分、1日、3日、7日、14日、および21日間の時点でわたってインキュベートした。親和性捕捉およびLC-MSを用いたADCのELISAおよびDAR分析による総IgGを使用して、分子の安定性を評価した。図29に示されているデータは、ADC分子4およびADC分子20の*in vitro*安定性が、ヒト血漿およびcyno血漿の両方において同等であり、DAR4は、21日目まで維持されたことを示す。また、両分子には、おそらくは抗体のC末端でクリッピングが生じたことが示され、これはインキュベーション後の1日目で観察された。このクリッピングは、重鎖のC末端にある2つのリジン残基の切断である可能性が高く、分子の安定性および活性に影響を及ぼす可能性は低い。同様のクリッピングは、IgG分子のCHO産生中に一般的に観察される。

【0753】

実施例31

ADC候補と比較用ADCとの比較

[00609] 本明細書に記載のADC候補の比較用物質はIMG N 853である。IMG N 853 (ミルベツキシマブソラブタンシン (mirvetuximab soravtansine)) は、切断可能な (スルホ-SPDB) リンカーを介してチューブリン破壊マイタンシノイドDM4に連結されたFolR 結合抗体を含む抗体-薬物コンジュゲートである。その抗体およびリンカー成分の選択を含むIMG N 853の設計は、卵巣がんおよび非小細胞肺癌の患者に由来する腫瘍試料中のレベルを反映するFolR 発現のレベルを有する前臨床モデルにおけるその抗腫瘍活性の最適化に基づいていた。IMG N 853は、その化学的特徴に基づく臨床的に有望であると考えられるが、分子の安定性、安全性、および活性に影響を及ぼす幾つかの潜在的な不安定性を有する可能性がある。したがって、IMG N 853 サロゲート (ADC分子21) およびADC分子4の特性および前臨床効果を評価するアッセイを下記に記載する。

【0754】

[00610] ADC分子4の特異性をIMG N 853の特異性と比較して評価するため、ADC分子4の細胞傷害活性を、IMG N 853の緊密に近似するサロゲートと比較した。このサロゲートを、CHO細胞で一過性に発現させ、スルホ-SPDB-DM4にコンジュゲートしてADC分子21を産生した。FolR 発現が陽性であった細胞 (Igrov1およびOVCAR3) およびFolR 発現が陰性であった細胞 (A549) に対する2つのADC分子の細胞傷害活性を、競合物質としての過剰量の非コンジュゲート「ネイキッド」抗体の存在下で比較した。ADC分子4の場合、ネイキッド抗体がFolR 抗原との結合をADCと競合するため、Igrov1細胞に対する細胞殺傷活性は、非コンジュゲート抗体の存在下では約800分の1に低減された (0.053 nMのEC50から、33 nMよりも高いEC50へと)。これは、ADC分子4の細胞殺傷活性が、細胞表面上のFolR 抗原の存在に特異的であることを示す。ADC分子21の細胞殺傷活性は、細胞表面上のFolR 抗原の存在に完全には依存しない。これは、ネイキッド抗体を添加しても、Igrov1細胞に対するEC50が約3倍しかシフトしなかったからである。同様の結果がOVCAR3細胞でも観察された (図30A、図30B)。ADC分子21では、FolR 陰性A549細胞に対する強力な非特異的細胞殺傷が観察されたが、ADC分子4では非特異的細胞殺傷は観察されなかった (図30C)。こうしたデータに基づくと、ADC分子4は、FolR 陽性細胞に対してのみ強力に特異的な細胞殺傷性を示し、ADC分子21は、FolR 抗原に対するADC結合に関わらず、非特異的な細胞殺傷性を示すと結論付けることができる。結果は、表25に要約されている。

【0755】

10

20

30

40

## 【表 25】

表 25. FolR $\alpha$  陽性細胞および陰性細胞での ADC 分子 4 および ADC 分子 21 の特異的細胞傷害活性

試験した試料	Igrov1		OVCAR3		A549	
	EC50 (nM)	スパン (%)	EC50 (nM)	スパン (%)	EC50 (nM)	スパン (%)
ADC 分子 4	0.053	66	0.58	53	NK	NK
ADC 分子 4 + 0.5uM 1848-H01	>33	NC	>33	NC	NK	NK
ADC 分子 21	3.9	87	7.9	100	7.4	79
ADC 分子 21 + 0.5uM Mov19	約 11	80	10	99	7	81

NC =未算出

NK =殺傷無し

10

## 【0756】

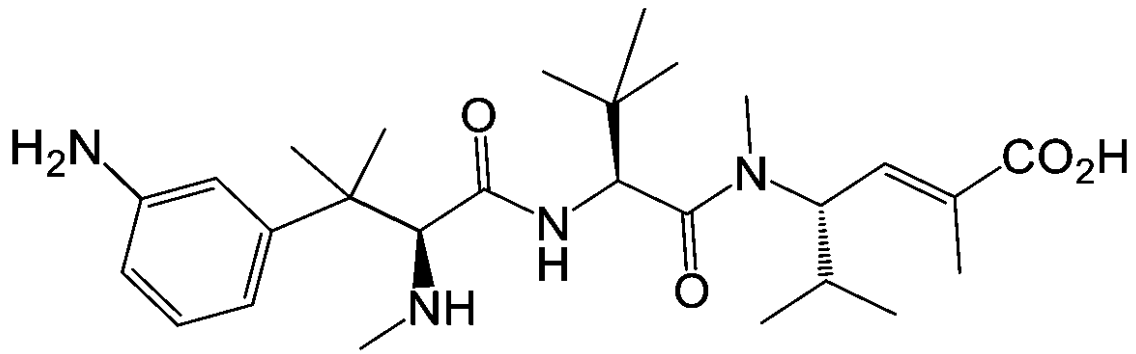
[00611] ADC 分子 4 は、FolR 陽性 Igrov1 細胞に対して特異的な細胞殺傷活性を示したが、A549 FolR 陰性細胞に対してはいかなる活性も示さなかった。対照的に、ADC 分子 21 は、陰性および陽性 FolR 細胞株の両方に対して細胞傷害活性を示し、特異性を欠如することが示唆された。特異性の欠如は、培養中のおよび *in vivo* の還元条件下でスルホ - SPDB リンカーが潜在的に不安定性であることに起因するものであるか、または細胞内への ADC の飲作用によるものであり得る。ADC 分子 4 および ADC 分子 21 から放出される遊離薬物は、それぞれ下記に示されている構造 (I) および (II) の化合物である。

20

## 【0757】



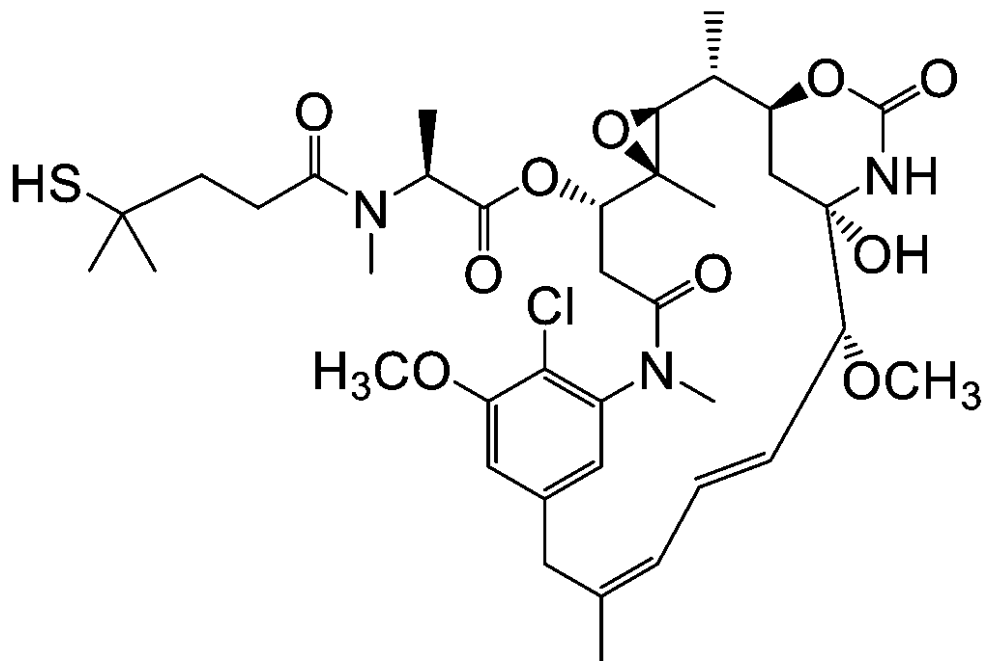
【化 1 3 8】



10

(I)

20



30

(II)

40

*in vitro*細胞傷害性研究では、放出された遊離薬物 (I) および (II) は、同等の細胞傷害活性を有していた (表 2 6)。この研究での 1 つの重要な観察は、ADC 分子 4 が、それにコンジュゲートされている理論上 4 つの遊離薬物部分 (I) よりも 1 0 倍強力であることであり、このコンジュゲートが、遊離薬物 (I) よりも高いレベルの標的細胞に対する特異的殺傷を付与することを示す。

50

【 0 7 5 8 】

【表 2 6 】

表 26. Igrov1 細胞および A549 細胞での細胞傷害活性

分子	Igrov1		A549	
	EC50 (nM)	スパン (%)	EC50 (nM)	スパン (%)
ADC 分子 4	0.06	70	NK	NK
ADC 分子 21	4.4*	85	9*	71
遊離薬物 (I)	2.4	92	11	81
遊離薬物 (II)	4.9	90	7.7	81

\*不完全な滴定に基づく推定 EC50

NC =未算出

NK =殺傷無し

10

【 0 7 5 9 】

[00612] 遊離薬物 (I) の薬物動態プロファイルを評価するため、雌 Sprague - Dawley ラット (平均体重 250 g) に、0.4 mg / kg 用量または 1 mg / kg 用量のいずれかを、留置頸静脈カテーテルを介して IV ボーラス投与により投与した (1 用量レベル当たり N=3 の動物)。投与の 0、0.83、1、2、8、24、32、48、および 72 時間後に、血液試料を収集した。遊離薬物 (I) および (II) のレベルを LC - MS / MS で測定し、Phoenix WinNonlin バージョン 6.4 (Pharsight Corporation) を使用して非コンパートメント薬物動態分析を実施した。表 27 には、この研究から収集した PK データが提供されている。遊離薬物 (I) の PK は、(I) の濃度が 2 から 8 時間まで増加し、その後検出不能だったため、推定できなかった。この研究の結果は、遊離薬物 (I) が投与 24 時間後に検出不能であるため、(I) のクリアランスは、遊離薬物 (II) のクリアランスよりも迅速であることを示唆する (データ非表示)。加えて、2 用量の遊離薬物 (I) の投与は、動物の体重に影響を及ぼさなかったが、0.4 mg / kg の遊離薬物 (II) により処置すると進行性の体重減少が観察された (図 3 1)。

20

30

【 0 7 6 0 】

【表 2 7 】

表 27. 遊離薬物(I)および(II)の薬物動態データ

Compound ID	Dose Level	終末期 t <sub>1/2</sub> (時間)	C <sub>max</sub> ± SE (ng/mL)	C <sub>0</sub> (ng/mL)	AUC <sub>0-最終</sub> ± SE (時間*ng/mL)	AUC <sub>0-inf</sub> (時間*ng/mL)	クリアランス (L/時間/kg)	V <sub>ss</sub> (L/kg)
遊離薬物 (I)	0.1 mg/kg	データ不足	5.82 ± 0.69	6.81	11.0 ± 2.1	データ不足	データ不足	データ不足
遊離薬物 (I)	0.4 mg/kg	データ不足	12.8 ± 2.1	15.5	23.9 ± 2.6	データ不足	データ不足	データ不足
遊離薬物 (II)	0.1 mg/kg	22.4	9.31 ± 2.19	10.7	96.9 ± 11.0	129	0.775	15.8
遊離薬物 (II)	0.4 mg/kg	44.3	53.3 ± 19	62.5	211 ± 70	242	1.66	44.1

40

【 0 7 6 1 】

[00613] 表 28 は、ADC 分子 4 およびその代謝産物である遊離薬物 (I) の特性の要約である。

50

【 0 7 6 2 】

【表 2 8】

表 28. ADC 分子 4 および遊離薬物(I)の特性

特性/特色	ADC 分子 4 の結果
DAR 分析でのマウスにおける ADC 分子 4 の PK	$T_{1/2}$ : 6.38 日; クリアランス速度 約 9.5 mL/kg/日; DAR4 が 21 日目まで維持
DAR 分析でのヒト血漿および cyno 血漿中における ADC 分子 4 の安定性	DAR4 が 21 日目まで維持
ラットにおける遊離薬物(I)対遊離薬物(II)の PK	遊離薬物(I)は(II)よりもクリアランスが速い
活性の特異性	ADC 分子 4 は、FolR $\alpha$ を発現しない細胞株では活性がない

10

【 0 7 6 3 】

実施例 3 2

ADC 候補対比較用 ADC の薬物連結の安定性の比較

[00614] ADC 分子 4 および比較用 ADC 分子 2 1 の安定性を、カニクイザル血漿およびヒト血漿および PBS で評価し、続いて放出された異化代謝産物である遊離薬物 (I) および (II) をそれぞれ定量化した (実施例 2 9 を参照)。図 3 2 に要約されたデータに基づくと、ADC 分子 4 の薬物連結は、ADC 分子 2 1 の薬物連結よりも安定していると考えられる。ADC 分子 2 1 は、ヒト血漿および cyno 血漿中で迅速に切断されると考えられ、血漿に添加してから 15 ~ 30 分以内に遊離薬物 (II) が検出される。その後、遊離薬物 (II) は、時間の経過と共にさらに代謝されると考えられる。対照的に、遊離薬物 (I) は、ADC 分子 4 を血漿に添加してから 15 ~ 30 分以内では検出されない。遊離薬物 (I) のレベルは、血漿中で 4 日間にわたってインキュベーションするとほんのわずかに増加するが、PBS では増加しない。これは、薬物連結が血漿中でより安定していることを示唆する。

20

【 0 7 6 4 】

実施例 3 3

排出ポンプ (efflux pump) に関する ADC 異化代謝産物の比較

[00615] 透過性糖タンパク質 1 (PgP; 多剤耐性タンパク質 1 (MDR1) としても知られている) は、細胞から外来性物質をくみ出し、様々な細胞傷害性薬物の細胞内濃度を低減させる細胞膜タンパク質である。PgP 活性は、*in vitro* および *in vivo* において化学療法誘導性細胞傷害性を鈍化させる。がん細胞は、PgP の上方制御により薬物耐性になることが多く、一部の 경우에는、この上方制御は、薬物自体により媒介される。遊離薬物 (I) および (II) (実施例 2 9) の PgP 感受性を比較するアッセイを、シスプラチン耐性細胞株モデルで実施した。

30

【 0 7 6 5 】

[00616] 遊離薬物 (I) が、卵巣がん細胞株の一部においてシスプラチン耐性に関与する (Stordal et al. 2012. PLoS One 7 (7)) P 糖タンパク質 (PgP) の特異的な基質であるかを評価するため、PgP を過剰発現する MES - SA / MX 2 細胞株および親 MES - SA 細胞において遊離薬物細胞殺傷活性を調査した。PgP を過剰発現する MES - SA / MX 2 細胞に対する、遊離薬物 (I)、遊離薬物 (II)、および対照遊離薬物 (MMAE、「III」と表記される) の細胞殺傷活性は、親 MES - SA 細胞に対するそれらの活性と比較して、異なるレベルで低減された。また、MES - SA / MX 2 細胞を PgP 阻害剤 GF 1 2 0 9 1 8 (5  $\mu$ M) で処置し、細胞表面上に PgP が存在することが、観察された細胞殺傷性低減に寄与するかをさらに調査した。PgP 阻害剤の存在下では、遊離薬物の細胞殺傷活性は、親 MES - SA 細胞株と同じレベルに戻り、MES - SA / MX 2 細

40

50

胞での P g P 過剰発現が、遊離薬物耐性の主な理由であったことが示された。

【 0 7 6 6 】

[00617] MEA-SA/MX2 細胞に対する、陽性対照遊離薬物 (III) の細胞殺傷 EC50 は、P g P 阻害剤 GF120918 の存在下および非存在下で 1.1 倍の変化を示した。これは、遊離薬物 (III) が P g P の非常に良好な基質であることを示した。遊離薬物 (I) は、MEA-SA/MX2 細胞に対する細胞殺傷 EC50 に P g P 阻害剤の存在下および非存在下で 8 倍の変化しか観察されなかったという事実に基づくと、P g P の基質としては不良である。遊離薬物 (II) も、P g P の基質としては比較的不良であるが、細胞殺傷 EC50 には 1.7 倍の変化が観察されたため、遊離薬物 (I) と比較して排出ポンプによる輸送の影響をより受け易い (表 29、図 33)。

【 0 7 6 7 】

【表 29】

表 29. Igrov1 細胞および A549 細胞の細胞傷害活性

試験した薬物	MEA-SA		MEA-SA/MX2				
	GF120918 なし		No GF120918		GF120918		EC50 シフト
	EC50 (nM)	スパン (%)	EC50 (nM)	スパン (%)	EC50 (nM)	スパン (%)	
遊離薬物 (I)	6	100	50	100	6.4	99	8
遊離薬物 (II)	1.9	100	28	100	1.7	98	17
遊離薬物 (III)	0.75	100	111	100	1	99	111

【 0 7 6 8 】

[00618] データは、遊離薬物 (I) が、遊離薬物 (II) と比較して、排出ポンプによる膜通過能動輸送のより弱い基質であることを示唆する。その結果、遊離薬物 (I) は、がん細胞からくみ出される可能性がより低くなり、それにより毒素のより良好な細胞維持に結び付き、したがって比較用 ADC 分子 2.1 と比較して ADC 分子 4 の細胞傷害性を向上させることができた。P g P 媒介性薬物排出は、ADC に対する一般的な耐性機序であり、臨床では、白金剤および PARP 阻害剤に対する耐性の重要な機序の一つである。したがって、遊離薬物 (I) は、P g P に対する基質能力が低いため、白金耐性がんおよび潜在的 PARP 耐性がんを標的とする有望な弾頭である。

【 0 7 6 9 】

実施例 3.4

腫瘍および血漿中の異化代謝産物の蓄積

[00619] ADC 分子 4 の薬物連結は、比較用 ADC 分子 2.1 の薬物連結よりも安定していると考えられるが、腫瘍細胞内で遊離薬物 (I) が ADC 分子 4 から効率的な放出をされることは、その細胞傷害性にとって重要である。ADC 分子 4 および ADC 分子 2.1 からの弾頭放出を評価するために、遊離薬物 (I) および (II) の腫瘍レベルおよび血漿レベルを、この 2 つの ADC 分子で処置した Igrov1 腫瘍を保持したマウスで測定した。図 3.4 に示されているように、ADC 分子 4 からの遊離薬物 (I) の放出および腫瘍蓄積は、ADC 分子 2.1 からの遊離薬物 (II) の放出および腫瘍蓄積と同等であるかまたはわずかに良好だった。この 2 つの弾頭の細胞傷害性が同等であることと併せると、このデータは、ADC 分子 4 の細胞傷害活性が、比較用 ADC 分子 2.1 の細胞傷害活性と少なくとも同等であることを示唆する。

【 0 7 7 0 】

[00620] 要約すると、実施例 2.9 ~ 3.2 に記載のデータは、治療指数 (TI) の拡大が、放出された弾頭の属性 (遊離薬物 (I) 対遊離薬物 (II)) および ADC 分子 4 の全体としての構造の両方から生じ得ることを示唆する。遊離薬物 (I) および (II) は、遊離薬物として投与した場合の *in vitro* 細胞傷害活性が同等であるだけでなく、ADC として投与した場合の腫瘍における蓄積も同等である。遊離薬物 (I) は遊離薬物 (II)

と比べてP g P基質能力がはるかに弱いいため、腫瘍が排出に基づく耐性を発生させても、ADC分子4は、その元の活性のほとんどを維持することになることが予測される。ADC分子4のプロテアーゼ切断可能な放出機序は、比較用ADC分子21のジスルフィド放出機序よりも高い安定性および腫瘍特異性を有する。これは、同時に、F o l R を発現する細胞に対するより高い特異性をもたらす。ADC分子4は、異化代謝産物(1)のクリアランスがより速く、耐受性がより高いことに加えて、安定性がより高いため、ADC分子4の安全性プロファイルの向上も付与される。これはすべて、ADC分子4が、サロゲートADC分子21に対して測定した通り、比較用ADC I M G N 8 5 3よりも高いT Iを有し得ることを示す。

【0771】

実施例35

抗体候補への突然変異の導入

[00621] V 2 6 2 E突然変異を、抗体変異体1848-H01(Y180/F404)に導入して、この突然変異が変異体の収量を増加させることになるかを調査した。V 2 6 2 E突然変異の導入は、精製タンパク質の品質を変化させずに、Pro A精製後の収量の約70%の増加をもたらした(親力価170mg/Lと比較して350mg/L)(データ非表示)。コンジュゲートP(実施例11)およびコンジュゲートQ(実施例15)にコンジュゲートされたV 2 6 2 E突然変異型タンパク質の特性を、コンジュゲーション効率およびADCの*in vitro*活性に関して、親コンジュゲートADC分子4と比較した。表30から分かるように、V 2 6 2 E突然変異の導入により、PコンジュゲートのI g r o v 1細胞に対する*in vitro*細胞傷害活性がわずかに低減され、Qコンジュゲートの活性がより大きく低減されたが、コンジュゲーション効率およびD A Rは同等だった。

【0772】

【表30】

表30. V262E突然変異を有するまたは有しないADC分子の比較

ADC分子	抗体	コンジュゲート	コンジュゲーション部位	DAR	コンジュゲート%	細胞殺傷性(Igrov1)	
						EC50(nM)	スパン(%)
4	1848-H01	P	Y180/F404	3.73	93%	0.083	80
20	1848-H01	Q	Y180/F404	3.81	95%	0.13	70
23	1848-H01 V262E	P	Y180/F404	3.57	89%	0.088	72
24	1848-H01 V262E	Q	Y180/F404	3.76	94%	0.19	56

【0773】

[00622] Pコンジュゲートの薬物動態特性ならびに*in vivo*安定性および*in vivo*有効性をADC分子4と比較すると、ADCのPKは、2つの変異形態間で同等であったが(表31、図36)、突然変異型Pコンジュゲート(ADC分子23)の*in vivo*活性は、ADC分子4の*in vivo*活性よりもわずかに低かった(図35A)。21日目の腫瘍サイズの統計分析は、ADC分子4による処置のみが、ビヒクルと比較して有意により小さな腫瘍をもたらしたものの、ADC分子4群およびADC分子23群の腫瘍サイズは、互いに統計的な差がないことを示した(図35B)。これに基づく、ADC分子23は、F o l R を標的とするための開発およびさらなる調査のための代替ADCとして好適である。

【0774】

10

20

30

40

## 【表 3 1】

表 31. V262E を有するまたは有しない ADC 分子の薬物動態特性

ADC 分子	SP	抗体	コンジュゲート	コンジュゲーション部位	終末期 $t_{1/2}$ (時間)	$C_0$ ( $\mu$ g/mL)	$C_{max}$ $\pm$ SE ( $\mu$ g/mL)	$AUC_{0-最終}$ $\pm$ SE (day * $\mu$ g/mL)	$AUC_{0-inf}$ $\pm$ SE (day * $\mu$ g/mL)	クリアランス (mL/days/kg)	Vss (mL/kg)
4	8193	1848-H01	P	Y180/F404	6.36	122	118 $\pm$ 5	476 $\pm$ 22	523	9.57	79.7
23	8675	1848-H01 V262E	P	Y180/F404	5.70	115	113 $\pm$ 11	599 $\pm$ 34	636	7.87	60.5

## 【 0 7 7 5 】

実施例 3 6

配列

[00623] 表 3 2 は、本明細書で参照されている配列を提供する。

## 【 0 7 7 6 】

## 【表 3 2 - 1】

表 32. 配列

配列番号	分子	領域	スキーム	配列	
1	ヒト葉酸受容体アルファ(hFOLR1)			MAQRMTTQLLLLLVWVAVVGEAQT RIAWARTELLNVCMNAKHHKEKPGP EDKLHEQCRPWKKNACCSTNTSQA HKDVSYL YRFNWNHCGEMAPACKR HFIQDTCLYECSPNLGPWIQQVDQSW RKERVNLNPLCKEDCEQWEDCRTS YTCKSNWHKGWNWTSGFNKCAVGA ACQPFHFYFPTPTVLCNEIWTHSYKVS NYSRGSGRCIQMWFDPAQGNPNEEV ARFYAAAMSGAGPWAAWPFLLSLAL MLLWLLS	10
2	カニクイザル葉酸受容体アルファ			MAQRMTTQLLLLLVWVAVVGEAQT RTARARTELLNVCMNAKHHKEKPGP EDKLHEQCRPWKKNACCSTNTSQA HKDVSYL YRFNWNHCGEMAPACKR HFIQDTCLYECSPNLGPWIQQVDQSW RKERVNLNPLCKEDCERWWEDCRTS YTCKSNWHKGWNWTSGFNKCPVGA ACQPFHFYFPTPTVLCNEIWTYSYKVS NYSRGSGRCIQMWFDPAQGNPNEEV ARFYAAAMSGAGPWAAWPFLLSLAL TLLWLLS	20
3	マウス葉酸受容体アルファ			MAHLMTVQLLLLLVMWMAECAQSRA TRARTELLNVCMDAKHHKEKPGPED NLHDQCSPWKTNSCCSTNTSQA DISYL YRFNWNHCGTMTSECKRHFIQ DTCLYECSPNLGPWIQQVDQSWRKR ILDVPLCKEDCQQWEDCQSSFTCKS NWHKGWNWSSGHNECPVGASCHPFT FYFPTSAAALCEEIWSHSYKLSNYSRGS GRCIQMWFDPAQGNPNEEVARFYAE AMSGAGFHGTWPLLCSLSLVLLWVIS	30
4	SRP1848-A01	CDR-H1	Chothia	GFNITRY	
5	SRP1848-A02	CDR-H1	Chothia	GFNISGF	
6	SRP1848-A04	CDR-H1	Chothia	GFNIDQS	
7	SRP1848-A06	CDR-H1	Chothia	GFNIGNS	
8	SRP1848-A07	CDR-H1	Chothia	GFNIGYH	
9	SRP1848-A08	CDR-H1	Chothia	GSNIRKH	
10	SRP1848-A09	CDR-H1	Chothia	GFNIRKQ	
11	SRP1848-A10	CDR-H1	Chothia	GFNIRKY	40
12	SRP1848-B01	CDR-H1	Chothia	GFNIRNY	
13	SRP1848-B03	CDR-H1	Chothia	GFNISMK	
14	SRP1848-B04	CDR-H1	Chothia	SFNISNH	
15	SRP1848-B05	CDR-H1	Chothia	GFNISNY	
16	SRP1848-B06	CDR-H1	Chothia	GFNISNY	
17	SRP1848-B07	CDR-H1	Chothia	GFNISRF	
18	SRP1848-B09	CDR-H1	Chothia	GFNITNY	
19	SRP1848-B10	CDR-H1	Chothia	GFNTTTK	

【表 3 2 - 2】

20	SRP1848-B11	CDR-H1	Chothia	GFNIGNN	
21	SRP1848-C01	CDR-H1	Chothia	GFNIGNS	
22	SRP1848-C03	CDR-H1	Chothia	GFNIGVY	
23	SRP1848-C04	CDR-H1	Chothia	GFNIRHY	
24	SRP1848-C05	CDR-H1	Chothia	GFNIRKY	
25	SRP1848-C07	CDR-H1	Chothia	GFNIRKY	
26	SRP1848-C10	CDR-H1	Chothia	GFNIRTY	
27	SRP1848-D02	CDR-H1	Chothia	GFNISHN	
28	SRP1848-D03	CDR-H1	Chothia	GFNIRYF	10
29	SRP1848-D04	CDR-H1	Chothia	GFNISHY	
30	SRP1848-D05	CDR-H1	Chothia	GFNISIS	
31	SRP1848-D07	CDR-H1	Chothia	GFNISKY	
32	SRP1848-D09	CDR-H1	Chothia	GFNISNY	
33	SRP1848-D10	CDR-H1	Chothia	GFNISRN	
34	SRP1848-E01	CDR-H1	Chothia	GFNITNK	
35	SRP1848-E02	CDR-H1	Chothia	GFNIGKY	
36	SRP1848-E03	CDR-H1	Chothia	GFNIGNY	
37	SRP1848-E05	CDR-H1	Chothia	GFNIGVY	
38	SRP1848-E06	CDR-H1	Chothia	GFNINRY	20
39	SRP1848-E07	CDR-H1	Chothia	GFNIRKS	
40	SRP1848-F01	CDR-H1	Chothia	GFNIRTY	
41	SRP1848-F02	CDR-H1	Chothia	GFNIRTY	
42	SRP1848-F04	CDR-H1	Chothia	GFNISNY	
43	SRP1848-F05	CDR-H1	Chothia	GFNISKS	
44	SRP1848-F06	CDR-H1	Chothia	GFNISLS	
45	SRP1848-F07	CDR-H1	Chothia	GFNISNH	
46	SRP1848-F08	CDR-H1	Chothia	GFNISNH	
47	SRP1848-F09	CDR-H1	Chothia	GFNISNH	
48	SRP1848-F10	CDR-H1	Chothia	GFNISNN	
49	SRP1848-F11	CDR-H1	Chothia	GFNISNN	30
50	SRP1848-G01	CDR-H1	Chothia	GFNISRH	
51	SRP1848-G03	CDR-H1	Chothia	GFNISTY	
52	SRP1848-G04	CDR-H1	Chothia	GFNIHST	
53	SRP1848-G06	CDR-H1	Chothia	GFNIRST	
54	SRP1848-G07	CDR-H1	Chothia	GFNIHST	
55	SRP1848-G09	CDR-H1	Chothia	GFNIRGT	
56	SRP1848-G10	CDR-H1	Chothia	GFNIRST	
57	SRP1848-G11	CDR-H1	Chothia	GFNISST	
58	SRP1848-H01	CDR-H1	Chothia	GFNIRTQ	
59	SRP2060-E10	CDR-H1	Chothia	GFSLSTFGM	40
60	SRP2060-E05	CDR-H1	Chothia	GFSLSTFGM	
61	SRP2060-B01	CDR-H1	Chothia	GFSLSTFGM	
62	SRP2060-A06	CDR-H1	Chothia	GFSLSTFGM	
63	SRP1848-A01	CDR-H1	Kabat	RYSIH	
64	SRP1848-A02	CDR-H1	Kabat	GFRIH	
65	SRP1848-A04	CDR-H1	Kabat	QSSIH	
66	SRP1848-A06	CDR-H1	Kabat	NSYIH	



【表 3 2 - 3】

67	SRP1848-A07	CDR-H1	Kabat	YHSIH
68	SRP1848-A08	CDR-H1	Kabat	KHSIH
69	SRP1848-A09	CDR-H1	Kabat	KQSIH
70	SRP1848-A10	CDR-H1	Kabat	KYSIH
71	SRP1848-B01	CDR-H1	Kabat	NYSIH
72	SRP1848-B03	CDR-H1	Kabat	MKYIH
73	SRP1848-B04	CDR-H1	Kabat	NHSIH
74	SRP1848-B05	CDR-H1	Kabat	NYYIH
75	SRP1848-B06	CDR-H1	Kabat	NYYIH
76	SRP1848-B07	CDR-H1	Kabat	RFYIH
77	SRP1848-B09	CDR-H1	Kabat	NYYIH
78	SRP1848-B10	CDR-H1	Kabat	TKSIH
79	SRP1848-B11	CDR-H1	Kabat	NNSIH
80	SRP1848-C01	CDR-H1	Kabat	NSYIH
81	SRP1848-C03	CDR-H1	Kabat	VYSIH
82	SRP1848-C04	CDR-H1	Kabat	HYSIH
83	SRP1848-C05	CDR-H1	Kabat	KYSIH
84	SRP1848-C07	CDR-H1	Kabat	KYSIH
85	SRP1848-C10	CDR-H1	Kabat	TYYIH
86	SRP1848-D02	CDR-H1	Kabat	HNYIH
87	SRP1848-D03	CDR-H1	Kabat	YFSIH
88	SRP1848-D04	CDR-H1	Kabat	HYSIH
89	SRP1848-D05	CDR-H1	Kabat	ISYIH
90	SRP1848-D07	CDR-H1	Kabat	KYYIH
91	SRP1848-D09	CDR-H1	Kabat	NYYIH
92	SRP1848-D10	CDR-H1	Kabat	RNSIH
93	SRP1848-E01	CDR-H1	Kabat	NKYIH
94	SRP1848-E02	CDR-H1	Kabat	KYSIH
95	SRP1848-E03	CDR-H1	Kabat	NYYIH
96	SRP1848-E05	CDR-H1	Kabat	VYYIH
97	SRP1848-E06	CDR-H1	Kabat	RYYIH
98	SRP1848-E07	CDR-H1	Kabat	KSSIH
99	SRP1848-F01	CDR-H1	Kabat	TYSIH
100	SRP1848-F02	CDR-H1	Kabat	TYSIH
101	SRP1848-F04	CDR-H1	Kabat	NYSIH
102	SRP1848-F05	CDR-H1	Kabat	KSSIH
103	SRP1848-F06	CDR-H1	Kabat	LSYIH
104	SRP1848-F07	CDR-H1	Kabat	NHSIH
105	SRP1848-F08	CDR-H1	Kabat	NHSIH
106	SRP1848-F09	CDR-H1	Kabat	NHYIH
107	SRP1848-F10	CDR-H1	Kabat	NNSIH
108	SRP1848-F11	CDR-H1	Kabat	NNYIH
109	SRP1848-G01	CDR-H1	Kabat	RHSIH
110	SRP1848-G03	CDR-H1	Kabat	TYYIH
111	SRP1848-G04	CDR-H1	Kabat	STDIH
112	SRP1848-G06	CDR-H1	Kabat	STDIH
113	SRP1848-G07	CDR-H1	Kabat	STDIH

10

20

30

40

【表 3 2 - 4】

114	SRP1848-G09	CDR-H1	Kabat	GTDIH	
115	SRP1848-G10	CDR-H1	Kabat	STDIH	
116	SRP1848-G11	CDR-H1	Kabat	STDIH	
117	SRP1848-H01	CDR-H1	Kabat	TQSIH	
118	SRP2060-E10	CDR-H1	Kabat	TFGMGVG	
119	SRP2060-E05	CDR-H1	Kabat	TFGMGVG	
120	SRP2060-B01	CDR-H1	Kabat	TFGMGVG	
121	SRP2060-A06	CDR-H1	Kabat	TFGMGVG	
122	SRP1848-A01	CDR-H2	Chothia	LPESGG	10
123	SRP1848-A02	CDR-H2	Chothia	YPESGA	
124	SRP1848-A04	CDR-H2	Chothia	YPVDGT	
125	SRP1848-A06	CDR-H2	Chothia	TPIDGN	
126	SRP1848-A07	CDR-H2	Chothia	FPVDGT	
127	SRP1848-A08	CDR-H2	Chothia	YPNDGT	
128	SRP1848-A09	CDR-H2	Chothia	FPNDGT	
129	SRP1848-A10	CDR-H2	Chothia	FPIDDI	
130	SRP1848-B01	CDR-H2	Chothia	YPVDGI	
131	SRP1848-B03	CDR-H2	Chothia	TPIDGM	
132	SRP1848-B04	CDR-H2	Chothia	YPVDGI	20
133	SRP1848-B05	CDR-H2	Chothia	SPIDGY	
134	SRP1848-B06	CDR-H2	Chothia	TPIDGY	
135	SRP1848-B07	CDR-H2	Chothia	SPYDGF	
136	SRP1848-B09	CDR-H2	Chothia	TPVDGY	
137	SRP1848-B10	CDR-H2	Chothia	YPRDGI	
138	SRP1848-B11	CDR-H2	Chothia	SPIDGF	
139	SRP1848-C01	CDR-H2	Chothia	TPNDGY	
140	SRP1848-C03	CDR-H2	Chothia	YPIDGN	
141	SRP1848-C04	CDR-H2	Chothia	YPGPGN	
142	SRP1848-C05	CDR-H2	Chothia	FPIDGI	
143	SRP1848-C07	CDR-H2	Chothia	FPIDGI	30
144	SRP1848-C10	CDR-H2	Chothia	SPIDGY	
145	SRP1848-D02	CDR-H2	Chothia	TPQDGY	
146	SRP1848-D03	CDR-H2	Chothia	FPNDGS	
147	SRP1848-D04	CDR-H2	Chothia	YPRDGI	
148	SRP1848-D05	CDR-H2	Chothia	SPIDGY	
149	SRP1848-D07	CDR-H2	Chothia	SPNDGY	
150	SRP1848-D09	CDR-H2	Chothia	SPNDGY	
151	SRP1848-D10	CDR-H2	Chothia	SPNDGT	
152	SRP1848-E01	CDR-H2	Chothia	TPFDGF	
153	SRP1848-E02	CDR-H2	Chothia	YPNDGN	40
154	SRP1848-E03	CDR-H2	Chothia	TPRDGF	
155	SRP1848-E05	CDR-H2	Chothia	TPNDGY	
156	SRP1848-E06	CDR-H2	Chothia	TPNDGY	
157	SRP1848-E07	CDR-H2	Chothia	FPYDGS	
158	SRP1848-F01	CDR-H2	Chothia	FPNDGT	
159	SRP1848-F02	CDR-H2	Chothia	FPNDGT	
160	SRP1848-F04	CDR-H2	Chothia	YPIDGI	

【表 3 2 - 5】

161	SRP1848-F05	CDR-H2	Chothia	YPNDGS
162	SRP1848-F06	CDR-H2	Chothia	SPIDGN
163	SRP1848-F07	CDR-H2	Chothia	YPNDGI
164	SRP1848-F08	CDR-H2	Chothia	YPVDGI
165	SRP1848-F09	CDR-H2	Chothia	SPLDGY
166	SRP1848-F10	CDR-H2	Chothia	FPNDGY
167	SRP1848-F11	CDR-H2	Chothia	TPIDGN
168	SRP1848-G01	CDR-H2	Chothia	APNDGS
169	SRP1848-G03	CDR-H2	Chothia	TPSDGF
170	SRP1848-G04	CDR-H2	Chothia	TPAGGA
171	SRP1848-G06	CDR-H2	Chothia	TPAGGA
172	SRP1848-G07	CDR-H2	Chothia	TPAGGA
173	SRP1848-G09	CDR-H2	Chothia	TPAGGA
174	SRP1848-G10	CDR-H2	Chothia	TPAGGA
175	SRP1848-G11	CDR-H2	Chothia	TPAGGA
176	SRP1848-H01	CDR-H2	Chothia	FPIDGI
177	SRP2060-E10	CDR-H2	Chothia	WWDDD
178	SRP2060-E05	CDR-H2	Chothia	WWDDD
179	SRP2060-B01	CDR-H2	Chothia	WWDDD
180	SRP2060-A06	CDR-H2	Chothia	WWDDD
181	SRP1848-A01	CDR-H2	Kabat	GILPESGGTSYADSVKG
182	SRP1848-A02	CDR-H2	Kabat	GIYPESGATYYADSVKG
183	SRP1848-A04	CDR-H2	Kabat	VIYPVDGTTDYADSVKG
184	SRP1848-A06	CDR-H2	Kabat	GITPIDGNTDYADSVKG
185	SRP1848-A07	CDR-H2	Kabat	EIFPVDGTTDYADSVKG
186	SRP1848-A08	CDR-H2	Kabat	SIYPNDGTTDYADSVKG
187	SRP1848-A09	CDR-H2	Kabat	SIFPNDGTTDYADSVKG
188	SRP1848-A10	CDR-H2	Kabat	DIFPIDDITDYADSVKG
189	SRP1848-B01	CDR-H2	Kabat	EIYPVDGITDYADSVKG
190	SRP1848-B03	CDR-H2	Kabat	GITPIDGMTDYADSVKG
191	SRP1848-B04	CDR-H2	Kabat	EIYPVDGITDYADSVKG
192	SRP1848-B05	CDR-H2	Kabat	GISPIDGYTDYADSMKG
193	SRP1848-B06	CDR-H2	Kabat	GITPIDGYTDYADSVKG
194	SRP1848-B07	CDR-H2	Kabat	GISPYDGFYTDYADSVKG
195	SRP1848-B09	CDR-H2	Kabat	GITPVDGYTDYADRVKG
196	SRP1848-B10	CDR-H2	Kabat	EIYPRDGITDYADSVKG
197	SRP1848-B11	CDR-H2	Kabat	DISPIDGFYTDYADSVKG
198	SRP1848-C01	CDR-H2	Kabat	GVTPNDGYTDYADSVKG
199	SRP1848-C03	CDR-H2	Kabat	EIYPIDGNTDYADSVKG
200	SRP1848-C04	CDR-H2	Kabat	EIYPGPGNTDYADSVKG
201	SRP1848-C05	CDR-H2	Kabat	DIFPIDGINDYADSVKG
202	SRP1848-C07	CDR-H2	Kabat	DIFPIDGITDYADSVKG
203	SRP1848-C10	CDR-H2	Kabat	GISPIDGYTDYADSMKG
204	SRP1848-D02	CDR-H2	Kabat	GITPQDGYTDYADSVKG
205	SRP1848-D03	CDR-H2	Kabat	DIFPNDGSTDYADSVKG
206	SRP1848-D04	CDR-H2	Kabat	EIYPRDGITDYADSVKG
207	SRP1848-D05	CDR-H2	Kabat	GISPIDGYTDYADSVKG

10

20

30

40

【表 3 2 - 6】

208	SRP1848-D07	CDR-H2	Kabat	GISPNDGYTDYADSVKG	
209	SRP1848-D09	CDR-H2	Kabat	GISPNDGYTDYADSVKG	
210	SRP1848-D10	CDR-H2	Kabat	WISPNDGTTDYADSVKG	
211	SRP1848-E01	CDR-H2	Kabat	GITPFDGFTDYADSVKG	
212	SRP1848-E02	CDR-H2	Kabat	EIYPNDGNTDYADSVKG	
213	SRP1848-E03	CDR-H2	Kabat	GITPRDGFTDYADSVKG	
214	SRP1848-E05	CDR-H2	Kabat	GITPNDGYTDYADSVKG	
215	SRP1848-E06	CDR-H2	Kabat	GITPNDGYTDYADSVKG	
216	SRP1848-E07	CDR-H2	Kabat	EIFPYDGSTDYADNVKG	10
217	SRP1848-F01	CDR-H2	Kabat	SIFPNDGTTDYADSVKG	
218	SRP1848-F02	CDR-H2	Kabat	SIFPNDGTTDYADSVKG	
219	SRP1848-F04	CDR-H2	Kabat	EIYPIDGITDYADSVKG	
220	SRP1848-F05	CDR-H2	Kabat	EIYPNDGSTDYADSVKG	
221	SRP1848-F06	CDR-H2	Kabat	GISPIDGNTDYADSVKG	
222	SRP1848-F07	CDR-H2	Kabat	EIYPNDGITDYADSVKG	
223	SRP1848-F08	CDR-H2	Kabat	EIYPVDGITDYADSVKG	
224	SRP1848-F09	CDR-H2	Kabat	GISPLDGYTDYADSVKG	
225	SRP1848-F10	CDR-H2	Kabat	SIFPNDGYTDYADSVKG	
226	SRP1848-F11	CDR-H2	Kabat	GITPIDGNTDYADSVKG	20
227	SRP1848-G01	CDR-H2	Kabat	WIAPNDGSTDYADSVKG	
228	SRP1848-G03	CDR-H2	Kabat	GITPSDGFTDYADSVKG	
229	SRP1848-G04	CDR-H2	Kabat	YITPAGGATFYADSVKG	
230	SRP1848-G06	CDR-H2	Kabat	YITPAGGATYYADNVKG	
231	SRP1848-G07	CDR-H2	Kabat	YITPAGGATWYADSVKG	
232	SRP1848-G09	CDR-H2	Kabat	YITPAGGATFYADSVKG	
233	SRP1848-G10	CDR-H2	Kabat	YITPAGGATYYADSVKG	
234	SRP1848-G11	CDR-H2	Kabat	YITPAGGATWYADSVKG	
235	SRP1848-H01	CDR-H2	Kabat	DIFPIDGITDYADSVKG	
236	SRP2060-E10	CDR-H2	Kabat	HIWWDDDKYYHPALKG	
237	SRP2060-E05	CDR-H2	Kabat	HIWWDDDKYYHPALKG	30
238	SRP2060-B01	CDR-H2	Kabat	HIWWDDDKYYHPALKG	
239	SRP2060-A06	CDR-H2	Kabat	HIWWDDDKYYYPALKG	
240	SRP1848-A01	CDR-H3		HIYPWDWFSNYVLDY	
241	SRP1848-A02	CDR-H3		HLYVWDWVLDHVLVDY	
242	SRP1848-A04	CDR-H3		GAWSWRSGYGYIDY	
243	SRP1848-A06	CDR-H3		GAWSWRSGYGYIDY	
244	SRP1848-A07	CDR-H3		GFWAWRSGYGYLDY	
245	SRP1848-A08	CDR-H3		GSWFWRAGYGYLDY	
246	SRP1848-A09	CDR-H3		GSWFWRSGYGYFLEY	
247	SRP1848-A10	CDR-H3		GSWSWPSGHSYYLDY	40
248	SRP1848-B01	CDR-H3		GFSWPSGYSYFLDY	
249	SRP1848-B03	CDR-H3		GFSWPSGYSYLDY	
250	SRP1848-B04	CDR-H3		GRYSWRAGYSYLDY	
251	SRP1848-B05	CDR-H3		GSWFWQSGYGYLDY	
252	SRP1848-B06	CDR-H3		GFSWPSGYGYQDY	
253	SRP1848-B07	CDR-H3		GFSWPAWYGYQDY	
254	SRP1848-B09	CDR-H3		GAWSWRSGYGYMDY	

【表 3 2 - 7】

255	SRP1848-B10	CDR-H3		GGWHWRSGYSYYLDY	
256	SRP1848-B11	CDR-H3		GSWSWRAGYGYYLDY	
257	SRP1848-C01	CDR-H3		GSWFWRAGYGYYLDY	
258	SRP1848-C03	CDR-H3		GSWAWRSGYSYYLDY	
259	SRP1848-C04	CDR-H3		GSLSWRAGYGYYLDY	
260	SRP1848-C05	CDR-H3		GSWSWKAGYGYYLDY	
261	SRP1848-C07	CDR-H3		GSWSWPAGYGYYQDY	
262	SRP1848-C10	CDR-H3		GSWSWPAGYGYYLDY	
263	SRP1848-D02	CDR-H3		GAWSWRAGYGYYLDY	10
264	SRP1848-D03	CDR-H3		GHWSWPSGYWYYLDY	
265	SRP1848-D04	CDR-H3		GYWFWRSGYGYYLDY	
266	SRP1848-D05	CDR-H3		GSWSWRAGYGYYLDY	
267	SRP1848-D07	CDR-H3		GFWAWRSGYGYYLDY	
268	SRP1848-D09	CDR-H3		GSWSWRHGYGYYLDY	
269	SRP1848-D10	CDR-H3		GAWSWRSGYGYYIDY	
270	SRP1848-E01	CDR-H3		GSWSWPAGYGYYQDY	
271	SRP1848-E02	CDR-H3		GSWSWRSGYGYYLDY	
272	SRP1848-E03	CDR-H3		GSWSWPAGHSYYLDY	
273	SRP1848-E05	CDR-H3		GFWAWRSGYGYYLDY	20
274	SRP1848-E06	CDR-H3		GTWSWPSGHSYYLDY	
275	SRP1848-E07	CDR-H3		GAWSWRSGYGYYIDY	
276	SRP1848-F01	CDR-H3		GSWAWRAGYSYYLDY	
277	SRP1848-F02	CDR-H3		GSWSWQAGYGYYLDY	
278	SRP1848-F04	CDR-H3		GSWFWRSGYGYYLDY	
279	SRP1848-F05	CDR-H3		GSWAWRSGYSYFLDY	
280	SRP1848-F06	CDR-H3		GFWAWRSGYGYYLDY	
281	SRP1848-F07	CDR-H3		GSWDWRSGYSYYLDY	
282	SRP1848-F08	CDR-H3		GSWYWQSGYSYYLDY	
283	SRP1848-F09	CDR-H3		GAWSWRSGYGYYIDY	
284	SRP1848-F10	CDR-H3		GSWFWRSGYGYYLDY	30
285	SRP1848-F11	CDR-H3		GSWYWRAGYGYYLDY	
286	SRP1848-G01	CDR-H3		GSWAWRSGYSYFLDY	
287	SRP1848-G03	CDR-H3		GSWSWPSGHGYFLDY	
288	SRP1848-G04	CDR-H3		YPYWFAGYMDY	
289	SRP1848-G06	CDR-H3		QPYWFAGYMDY	
290	SRP1848-G07	CDR-H3		YPFWFAGYMDY	
291	SRP1848-G09	CDR-H3		HEYWFSGYMDY	
292	SRP1848-G10	CDR-H3		YPYWFAGYIDY	
293	SRP1848-G11	CDR-H3		YPYWFSGYMDY	
294	SRP1848-H01	CDR-H3		GSWSWPSGMDYYLDY	40
295	SRP2060-E10	CDR-H3		NHFPHYYGSSHWFYFNV	
296	SRP2060-E05	CDR-H3		NHFPHYYGSSHWFYFNV	
297	SRP2060-B01	CDR-H3		NHFPHYYGSSHWFYFNV	
298	SRP2060-A06	CDR-H3		NHFPHYYGSSHWFYFDV	
299	トラスツズマブ	CDR-L1		RASQDVNTAVA	
300	H6D1-LC4	CDR-L1		KASQDINSYLS	
301	H6D1-LC5	CDR-L1		KASQDINSYLS	

【表 3 2 - 8】

302	トラスツズマブ	CDR-L2		SASFLYS	
303	H6D1-LC4	CDR-L3		RANRLVD	
304	H6D1-LC5	CDR-L2		RANRLVD	
305	トラスツズマブ	CDR-L3		QQHYTTPPT	
306	H6D1-LC4	CDR-L3		LQYDEFPYT	
307	H6D1-LC5	CDR-L3		LQYDEFPYT	
308	SRP1848-A01	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNITRYSIHWVRQAPGKGLEWVAGIL PESGGTSYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARHIYPW DWFSNYVLDYWGQGLTVTVSS	10
309	SRP1848-A02	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISGFRIHWVRQAPGKGLEWVAGIY PESGATYYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARHLYV WDWVLDHVLDYWGQGLTVTVSS	
310	SRP1848-A04	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIDQSSSIHWVRQAPGKGLEWVGVIY PVDGTTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAWS WRSGYGYIDYWGQGLTVTVSS	20
311	SRP1848-A06	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIGNSYIHWVRQAPGKGLEWVGGIT PIDGNTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAWS WRSGYGYIDYWGQGLTVTVSS	
312	SRP1848-A07	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIGYHSIHWVRQAPGKGLEWVGEIF PVDGTTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLHMNSLRAEDTAVYYCARGFWA WRSGYGYLDYWGQGLTVTVSS	30
313	SRP1848-A08	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG SNIRKHSIHWVRQAPGKGLEWVGSYI PNDGTTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSWF WRAGYGYLDYWGQGLTVTVSS	30
314	SRP1848-A09	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIRKQSIHWVRQAPGKGLEWVGSIF PNDGTTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQVNSLRAEDTAVYYCARGSWF WRSGYGYFLEYWGQGLTVTVSS	
315	SRP1848-A10	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIRKYSIHWARQAPGKGLEWVGDIY PIDDITDYADSVKGRFTISADTSKNTA YLQMNSLRAEDTAVYYCARGSWSW PSGHSYLDYWGQGLTVTVSS	40
316	SRP1848-B01	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIRNYSIHWVRQAPGKGLEWVGEIY PVDGITDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGFWS WPSGYSYFLDYWGQGLTVTVSS	

【表 3 2 - 9】

317	SRP1848-B03	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISMKYIHWVRQAPGKGLEWVGGI TPIDGMTDYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSW SWPSGYSYYLDYWGQGLTVTVSS	
318	SRP1848-B04	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASS FNISNHSIHWVRQAPGKGLEWVGEIY PVDGITDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRYS WRAGYSYYLDYWGQGLTVTVSS	10
319	SRP1848-B05	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISNYYIHWVRQAPGKGLEWVGGIS PIDGYTDYADSMKGRFTISADTSKNT AYLQMSSLRAEDTAVYYCARGSWF WQSGYGYLDYWGQGLTVTVSS	
320	SRP1848-B06	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISNYYIHWVRQAPGKGLEWVGGIT PIDGYTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGFWS WPSGYGYQDYWGQGLTVTVSS	
321	SRP1848-B07	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISRFIHWVRQAPGKGLEWVGGIS PYDGFDTYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSWS WPAGYGYQDYWGQGLTVTVSS	20
322	SRP1848-B09	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAG GFNITNYYIHWVRQAPGKGLEWVGG ITPVDGYTDYADRVKGRFTISADTSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGA WSWRSGYGYMDYWGQGLTVTVSS	
323	SRP1848-B10	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNNTTTSIHWVRQAPGKGLEWVGEI YPRDGITDYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGW HWRSGYSYYLDYWGQGLTVTVSS	30
324	SRP1848-B11	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIGNNSIHWVRQAPGKGLEWVGDIS PIDGFDTYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSWS WRAGYGYLDYWGQGLTVTVSS	
325	SRP1848-C01	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIGNSYIHWVRQAPGKGLEWVGGV TPNDGYTDYADSVKGRFTISADTSKN TTYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSWF WRAGYGYLDYWGQGLTVTVSS	40
326	SRP1848-C03	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIGVYSIHWVRQAPGKGLEWVGEIY PIDGNTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSWA WRSGYSYYLDYWGQGLTVTVSS	

【表 3 2 - 1 0】

327	SRP1848-C04	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIRHYSIHWVRQAPGKGLEWVGEIY PGPGNTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSL WRAGYGYLDYWGQGLTVTVSS	
328	SRP1848-C05	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIRKYSIHWVRQAPGKGLEWVGDI PIDGINDYADSVKGRFTISADTSKNTA YLQMNSLRAEDTAVYYCARGSW KAGYGYLDYWGQGLTVTVSS	10
329	SRP1848-C07	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIRKYSIHWVRQAPGKGLEWVGDI PIDGITDYADSMKGRFTISADTSKNTA YLQMNSLRAEDTAVYYCARGSW PAGYGYLDYWGQGLTVTVSS	
330	SRP1848-C10	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIRTYIHWVRQAPGKGLEWVGGIS PIDGYTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSW WPAGYGYLDYWGQGLTVTVSS	
331	SRP1848-D02	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISHNYIHWVRQAPGKGLEWVGGIT PQDGYTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAWS WRAGYGYLDYWGQGLTVTVSS	20
332	SRP1848-D03	VH		EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS GFNIRYFSIHWVRQAPGKGLEWVGDI FPNDGSTDYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEETAVYYCARGHW SWPSGYWYYLDYWGQGLTVTVSS	
333	SRP1848-D04	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISHYSIHWVRQAPGKGLEWVGEIY PRDGITDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLSAEDTAVYYCARGYWF WRSGYGYLDYWGQGLTVTVSS	30
334	SRP1848-D05	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISISYIHWVRQAPGKGLEWVGGISP IDGYTDYADSVKGRFTISADTSKNTA YLQMNSLRAEDTAVYYCARGSW RAGYGYLDYWGQGLTVTVSS	
335	SRP1848-D07	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISKYYIHWVRQAPGKGLEWVGGIS PNDGYTDYADSVKGRFAISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGFWA WRSGYGYLDYWGQGLTVTVSS	40
336	SRP1848-D09	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISNYYIHWVRQAPGKGLEWVGGIS PNDGYTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSW WRHGYGYLDYWGQGLTVTVSS	



【表 3 2 - 1 1】

337	SRP1848-D10	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISRNSIHWVRQAPGKGLEWVGWIS PNDGTTDYADSVKGRFTISADGSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAWS WRSGYGYIDYWGQGLTVTVSS	
338	SRP1848-E01	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNITNKYIHWVRQAPGKGLEWVGGI TPFDGFTDYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSW SWPAGYGYQDYWGQGLTVTVSS	10
339	SRP1848-E02	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIGKYSIHWVRQAPGKGLEWVGEIY PNDGNTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSW WRSGYGYLDYWGQGLTVTVSS	
340	SRP1848-E03	VH		EVQLVESGGGLAQPGGSLRLSCAASG FNIGNYYIHWVRQAPGKGLEWVGGI TPRDGFTDYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQVNSLRAEDTAVYYCARGSW WPAGHSYYLDYWGQGLTVTVSS	
341	SRP1848-E05	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRVSCAAS GFNIGVYYIHWVRQAPGKGLEWVGG ITPNDGYTDYADSVKGRFTISADTSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGF WAWRSGYGYLDYWGQGLTVTVSS	20
342	SRP1848-E06	VH		EVQLVESGGGLVQPSGSLRLSCAASG FNINRYIHWVRQAPGKGLEWVGGI TPNDGYTDYADSVKGRFTTSADTSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGT WSWPSGHSYYLDYWGQGLTVTVSS	
343	SRP1848-E07	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIRKSSIHWVRQAPGKGLEWVGEIF PYDGSTDYADNVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAWS WRSGYGYIDYWGQGLTVTVSS	30
344	SRP1848-F01	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIRTYSIHWVRQAPGKGLEWVGSIF PNDGTTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSWA WRAGYSYYLDYWGQGLTVTVSS	
345	SRP1848-F02	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIRTYSIHWVRQAPGKGLEWVGSIF PNDGTTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSW WQAGYGYLDYWGQGLTVTVSS	40
346	SRP1848-F04	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISNYSIHWVRQAPGKGLEWVGEIY PIDGITDYADSVKGRFTISADTSKNTA YLQMNSLRAEDTAVYYCARGSWFW RSGYGYLDYWGQGLTVTVSS	

【表 3 2 - 1 2】

347	SRP1848-F05	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISKSSIHWRQAPGKGLEWVGEIY PNDGSTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSWA WRSGYSYFLDYWGQGLTVTVSS	
348	SRP1848-F06	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISLSYIHWVRQAPGKGLEWVGGIS PIDGNTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGFWA WRSGYGYLDYWGQGLTVTVSS	10
349	SRP1848-F07	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISNHSIHWRQAPGKGLEWVGEIY PNDGITDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLSAEDTAVYYCARGSWD WRSGYSYLDYWGQGLTVTVSS	
350	SRP1848-F08	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAG GFNISNHSIHWRQAPGKGVWVGEI YPVDGITDYADSVKGRFTISADTSKN TAYLRMNSLRAEDTAVYYCARGSW YWQSGYSYLDYWGQGLTVTVSS	
351	SRP1848-F09	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISNHYIHWVRQAPGKGLEWVGGIS PLDGYTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAWS WRSGYGYIDYWGQGLTVTVSS	20
352	SRP1848-F10	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISNNSIHWVRQAPGKGLEWVGSIF PNDGYTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSWF WRSGYGYLDYWGQGLTVTVSS	
353	SRP1848-F11	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISNNYIHWVRQAPGKGLEWVGGIT PIDGNTDYADSVKGRFTISADTSMNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSWY WRAGYGYLDYWGQGLTVTVSS	30
354	SRP1848-G01	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISRHSIHWVRQAPGKGLEWVGWI APNDGSTDYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSW AWRSGYSYFLDYWGQGLTVTVSS	
355	SRP1848-G03	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISTYYIHWVRQAPGKGLEWVGGIT PSDGFTDYADSVKGRSTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSW WPSGHGYFLDYWGQGLTVTVSS	40
356	SRP1848-G04	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIHSTDIHWVRQAPGKGLEWVAYIT PAGGATFYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARYPYW FAGYMDYWGQGLTVTVSS	

【表 3 2 - 1 3】

357	SRP1848-G06	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIRSTDIHWVRQAPGKGLEWVAYIT PAGGATYYADNVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARQPY WFAGYMDYWGQGTLVTVSS	
358	SRP1848-G07	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIHSTDIIHWVRQAPGKGLEWVAYIT PAGGATWYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYPF WFAGYMDYWGQGTLVTVSS	10
359	SRP1848-G09	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIRGTDIIHWVRQAPGKGLEWVAYIT PAGGATFYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARHEYW FSGYMDYWGQGTLVTVSS	
360	SRP1848-G10	VH		EVQLVESGGGLVQPGSSRLRLSCAASG FNIRSTDIHWVRQAPGKGLEWVAYIT PAGGATYYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARYPYW FAGYIDYWGQGTLVTVSS	
361	SRP1848-G11	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNISSTDIIHWVRQAPGKGLEWVAYIT PAGGATWYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYPY WFSGYMDYWGQGTLVTVSS	20
362	SRP1848-H01	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIRTQSIHWVRQAPGKGLEWIGDIFP IDGITDYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARGSWSWP SGMDYYLDYWGQGTLVTVSS	
363	SRP2060-E10	VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAFSG FSLSTFGMGVGVWRQAPGKGLEWVS HIWWDDDKYYHPALKGRFTISKDNS KNTVYLLQMNSLRAEDTAVYYCGRN HFPHYYGSSHWFYFNWVGQGTTVTVS S	30
364	SRP2060-E05	VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAFSG FSLSTFGMGVGVWRQAPGKGLEWVS HIWWDDDKYYHPALKGRFTVSKDNS KNTVYLLQMNSLRAEDTAVYYCGRN HFPHYYGSSHWFYFNWVGQGTTVTVS S	
365	SRP2060-B01	VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCALSG FSLSTFGMGVGVWRQATGKGLEWV SHIWWDDDKYYHPALKGRFTISKDN SKNTVHLQMNSLRAEDTAVYYCGRN HFPHYYGSSHWFYFNWVGQGTTVTVS S	40

【 0 7 8 9 】

【表 3 2 - 1 4】

366	SRP2060-A06	VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAFSG FSLSTFGMGVGVWRQAPGKGLEWV GHIWWDDDKYYPALKGRFTISKDN SKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCGRN HFPHYGSSHWFYFDVWGQGTITVTS S	
367	トラスツズマブ	VL		DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ DVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAS FLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEI K	10
368	H6D1-LC4	VL		EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCASQ DINSYLSWYQQKPGQAPRLLIYRANR LVDGIPARFSGSGSDYTLTISSLEPE DFAVYYCLQYDEFPYTFGGGTKVEIK	
369	H6D1-LC5	VL		DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCKAS QDINSYLSWYQQKPGKAPKLLIYRAN RLVDGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQ PDDFATYYCLQYDEFPYTFGGGTKV EIK	
370	ヒトIgG1 HC定常			ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	20
371	ヒトIgG LC定常C カップ			RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEN	30
372	マウス IgG1 HC 定 常			AKTTPPSVYPLAPGSAQAQNSMVTLG CLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSET VTCNV AHPASSTKVDKIVPRDCGC KPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITL TPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVD DVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSEL PIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPI EKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQM AKDKVSLTCMITDFPEDITVEWQW NGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYS KLVNPKSNWEAGNTFTCSVLHEGLH NHHTEKSLSHSPG	40

【表 3 2 - 1 5】

373	マウスIgG LC定常 Cカップ			RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVC FLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVL NSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFN NEC	
374	カップLC			HMTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLTK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC	10
375	ラムダLD			GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKA GVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAP TECS	
376	FlagHisタグ			GSGDYKDDDDKSGSHHHHHH	
377	リンカー			GGGGSGGGSGGGGS	
378	リンカー			AAGSDQEPKSS	
379	1848-B10-VH- (G4S)3-VL	scFv		MEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFNNTTKSIHWVRQAPGKGLEWVG EIYPRDGITDYADSVKGRFTISADTSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGG WHWRSYGYLDYWGQGLTVTVSS GGGGSGGGSGGGGS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAS FLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEI K	20
380	1848-B10-VL- (G4S)3-VH	scFv		MDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRA SQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYS ASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTK VEIKGGGGSGGGSGGGGSEVQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNNTTK SIHWVRQAPGKGLEWVGEIYPRDGIT DYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQM NSLRAEDTAVYYCARGGWHWRSYGY SYLDYWGQGLTVTVSS	30

【 0 7 9 1 】

【表 3 2 - 1 6】

381	1848-B10-VH-(G4S)3-VL	scFv-Fc	<pre> MEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFNNTTKSIHWVRQAPGKGLEWVG EIYPRDGITDYADSVKGRFTISADTSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGG WHWRSGYSYYLDYWGQGTLLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGS DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQ DVNTAVAWYQQKPKGAPKLLIYSAS FLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEI KAAGSDQEPKSSDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ KLSLSLSPGK </pre>	10
382	1848-B10-VL-(G4S)3-VH	scFv-Fc	<pre> MDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRA SQDVNTAVAWYQQKPKGAPKLLIYS ASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTK VEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNNTTK SIHWVRQAPGKGLEWVGEIYPRDGIT DYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQM NSLRAEDTAVYYCARGGWHWRSGY SYYLDYWGQGTLLVTVSSAAGSDQEP KSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK </pre>	20
				30

## 【 0 7 9 2】

均等物

[00624] 上記に示されている開示は、独立した有用性を有する複数の別個の発明を包含し得る。そうした発明の各々は、その好ましい形態で開示されているが、本明細書で開示および図示されているその具体的な実施形態は、数多くの変異形態が可能であるため、限定的な意味で考慮されるべきではない。本発明の主題は、本明細書で開示される種々の要素、特徴、機能、および/または特性の新規で非自明な組合せおよび部分組合せをすべて含む。以下の特許請求の範囲には、新規で非自明であるとみなされるある特定の組合せおよび部分組合せが指し示されている。特徴、機能、要素、および/または特性の他の組合せおよび部分組合せで実現される発明は、本出願、本出願の優先権を主張する出願、または関連出願において特許請求することができる。そのような特許請求の範囲も、異なる発明に関するかまたは同じ発明に関するかに関わらず、および元の特許請求の範囲と比較して範囲がより広いか、より狭いか、等しいか、または異なるかに関わらず、本開示の発明の主題内に含まれるとみなされる。

40

30

50

【 0 7 9 3 】

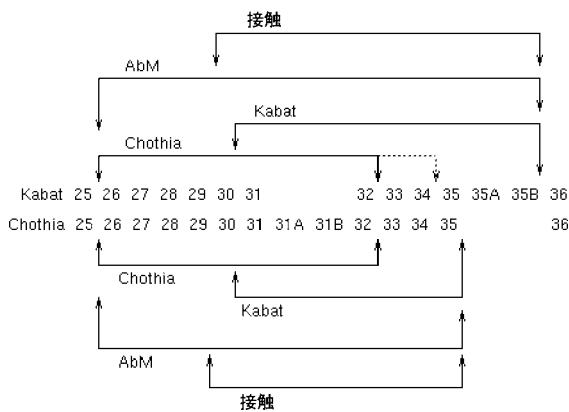
[00625] 本明細書または図面に記載されている任意の実施形態の1つまたは複数の特徴は、本発明の範囲から逸脱することなく、本明細書または図面に記載されている任意の他の実施形態の1つまたは複数の特徴と組み合わせることができる。

【 0 7 9 4 】

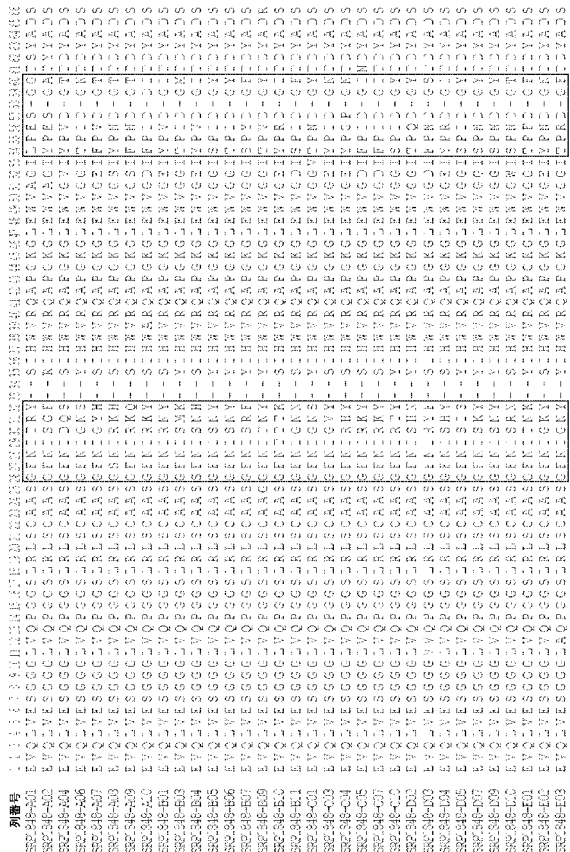
[00626] 本明細書で引用されている刊行物、特許、および特許出願はすべて、あたかも各々個々の刊行物または特許出願が、参照により組み込まれることが具体的におよび個々に示されているかの如く、参照により本明細書に組み込まれる。上述の発明は、理解を明確にするために図示および例によりある程度詳細に説明されているが、当業者であれば、本発明の教示に照らして、添付の特許請求の範囲の趣旨または範囲から逸脱することなく、それにある特定の変更および改変をなすことが可能であることは直ちに明らかであろう。

10

【 図 1 】



【 図 2 - 1 】

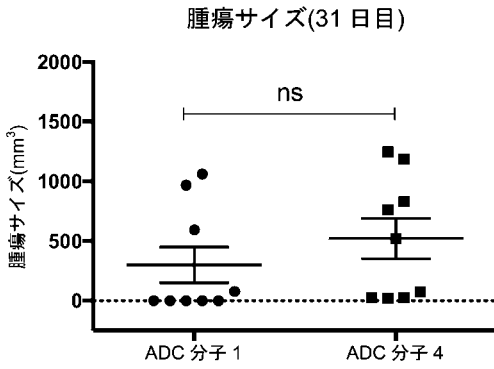




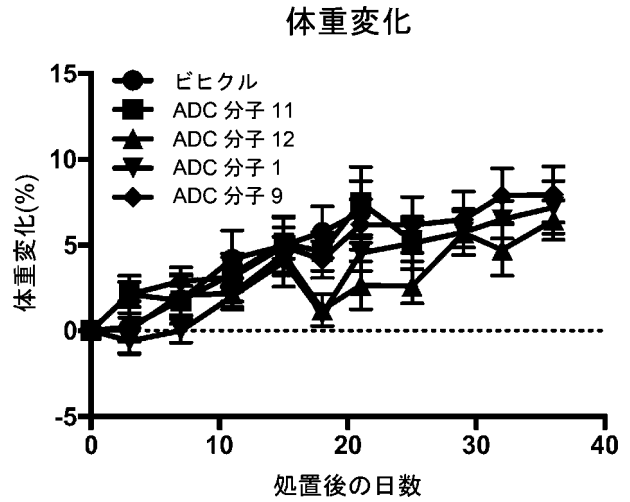




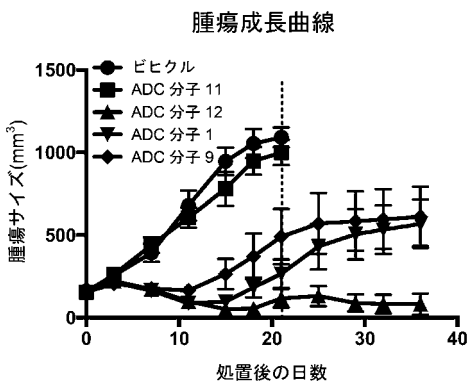
【 図 8 】



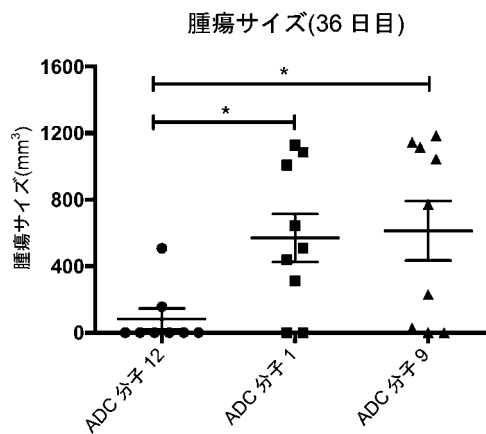
【 図 9 】



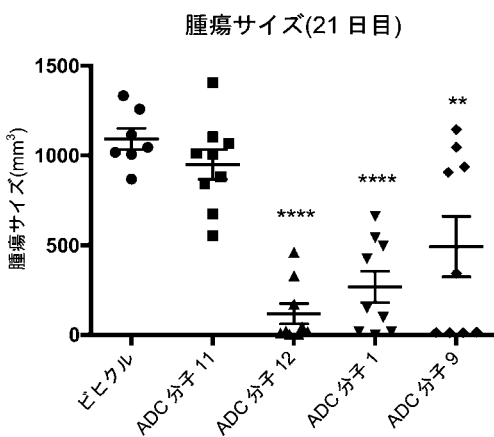
【 図 1 0 A 】



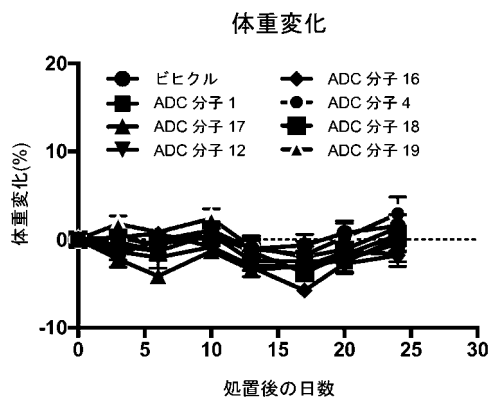
【 図 1 1 】



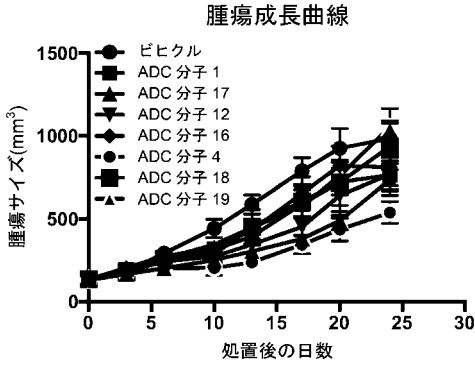
【 図 1 0 B 】



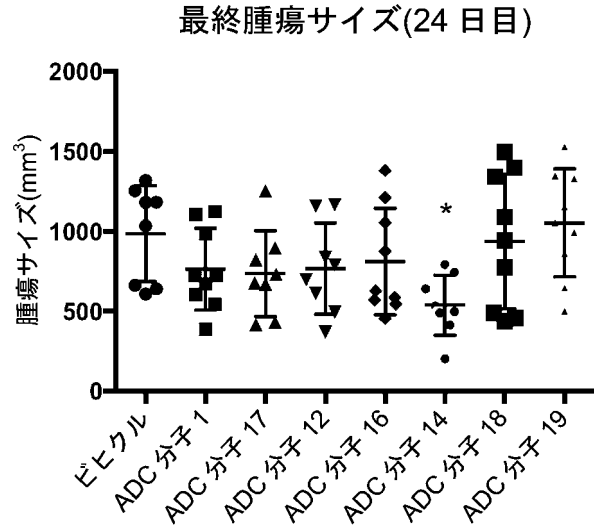
【 図 1 2 】



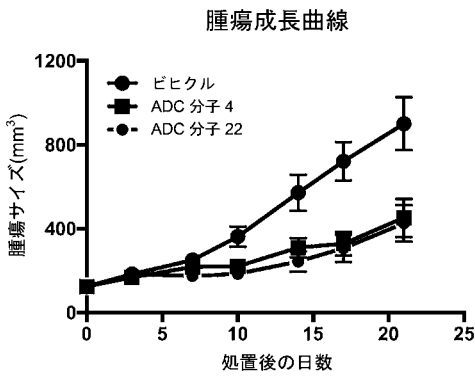
【 図 1 3 A 】



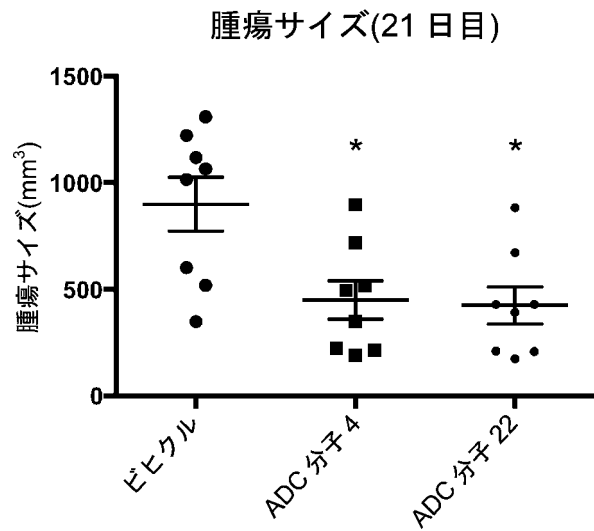
【 図 1 3 B 】



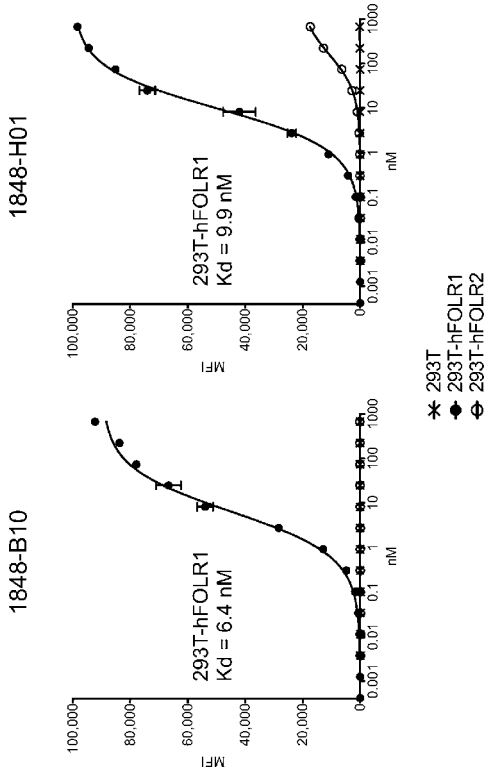
【 図 1 4 A 】



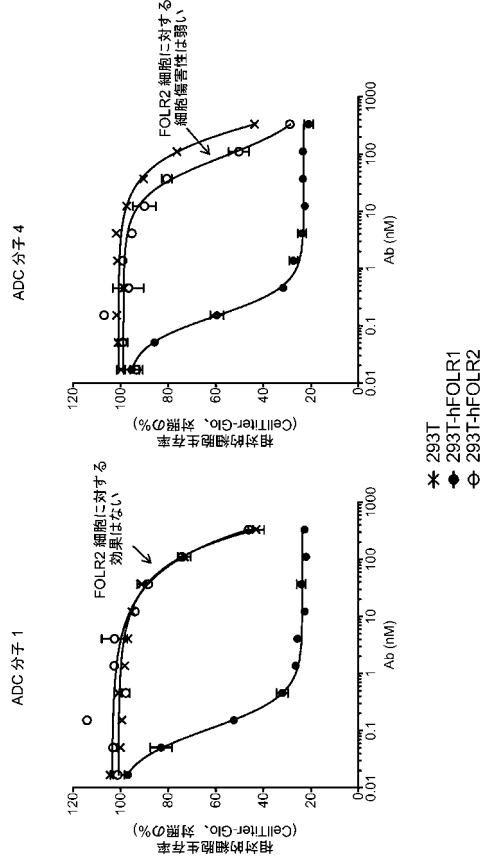
【 図 1 4 B 】



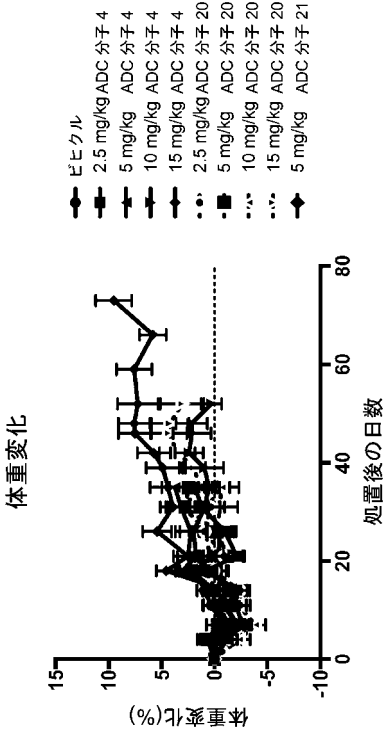
【 図 1 5 】



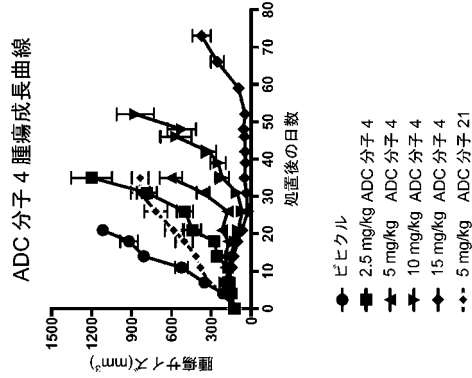
【 図 1 6 】



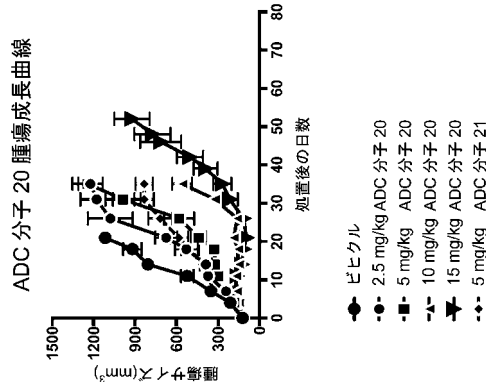
【 図 1 7 】



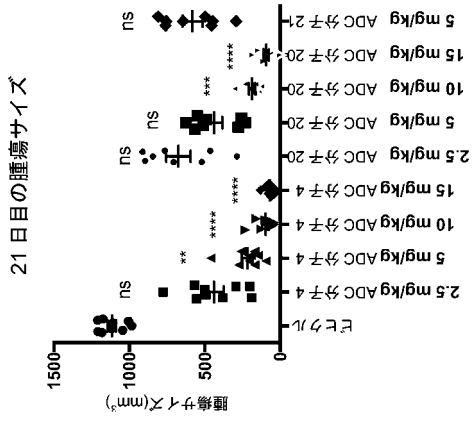
【 図 1 8 A 】



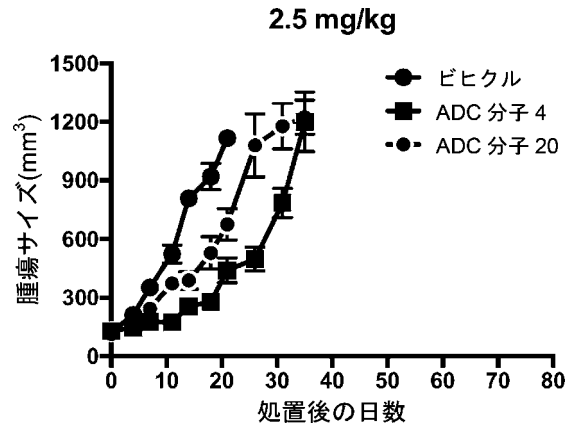
【 図 1 8 B 】



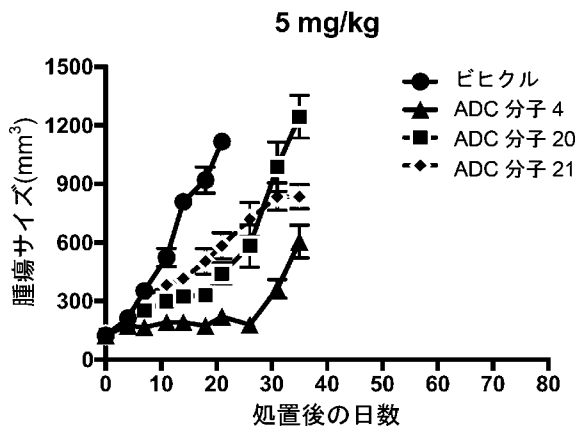
【 図 1 8 C 】



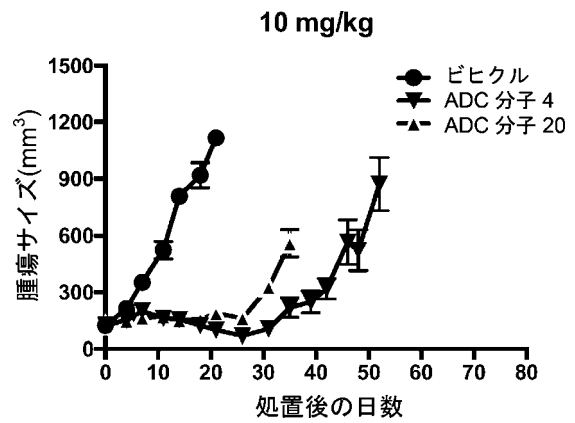
【 図 1 9 A 】



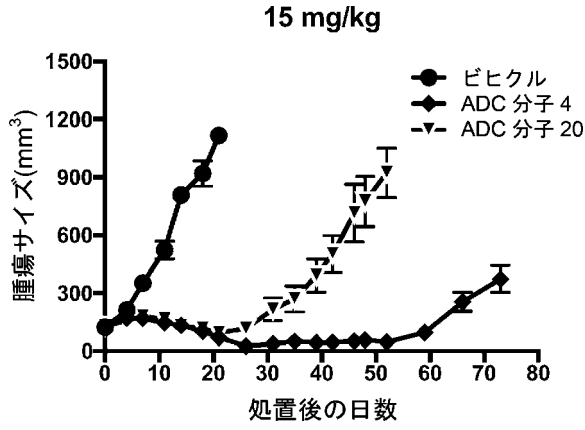
【 図 1 9 B 】



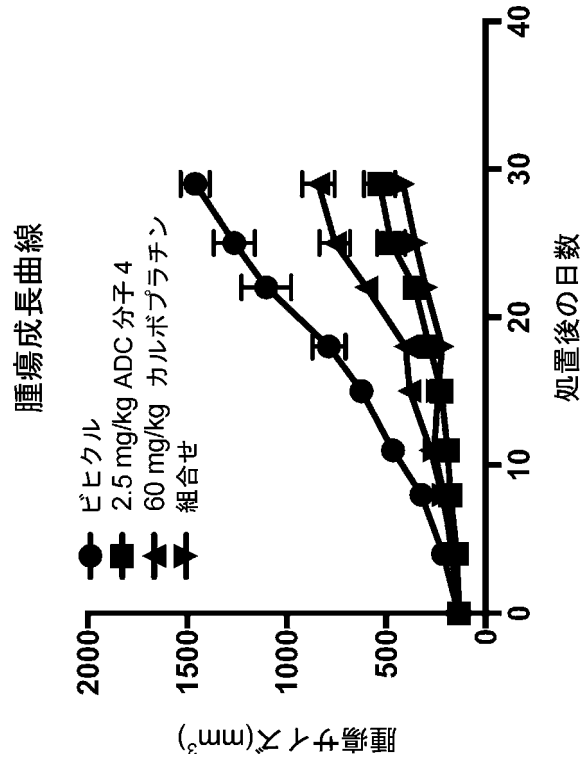
【 図 1 9 C 】



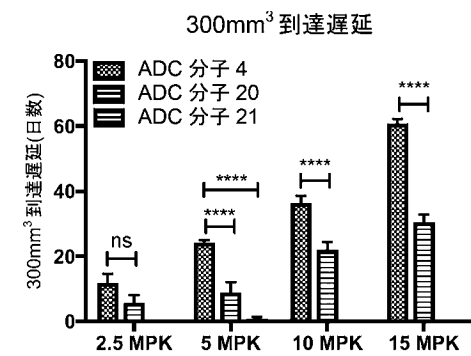
【 図 1 9 D 】



【 図 2 1 A 】

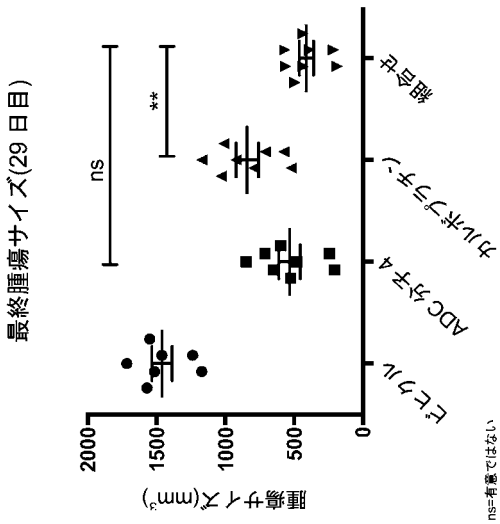


【 図 2 0 】



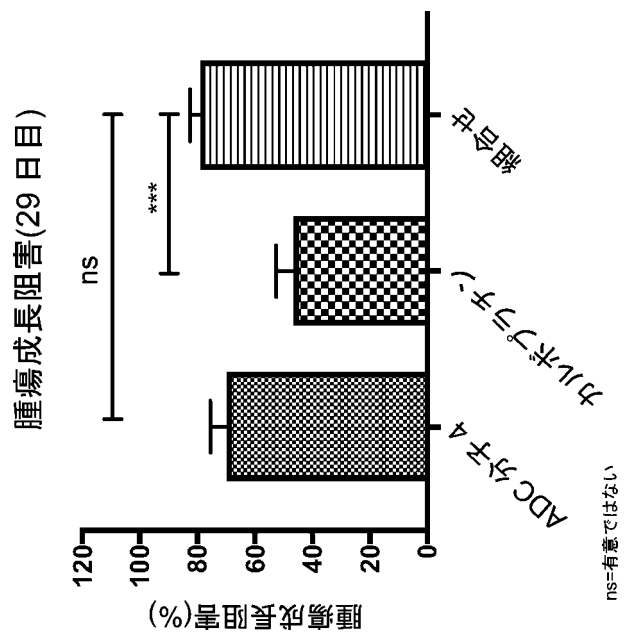
ns=有意ではない

【 図 2 1 B 】



ns=有意ではない

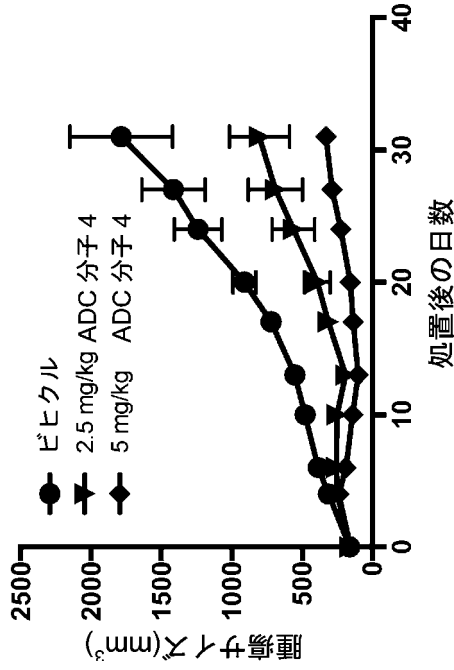
【 図 2 1 C 】



ns=有意ではない

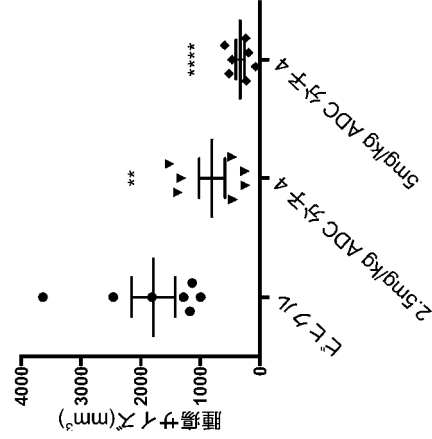
【 図 2 2 A 】

OVCAR-3 腫瘍成長曲線

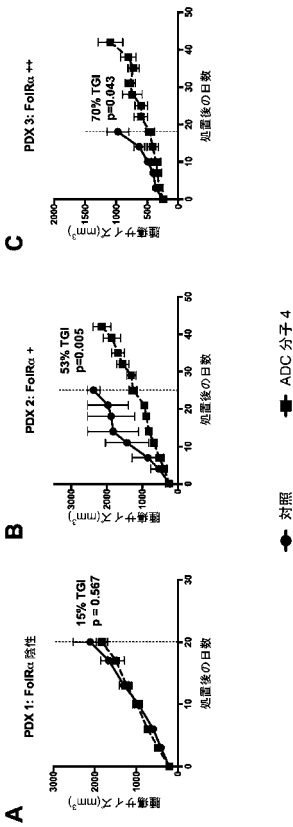


【 図 2 2 B 】

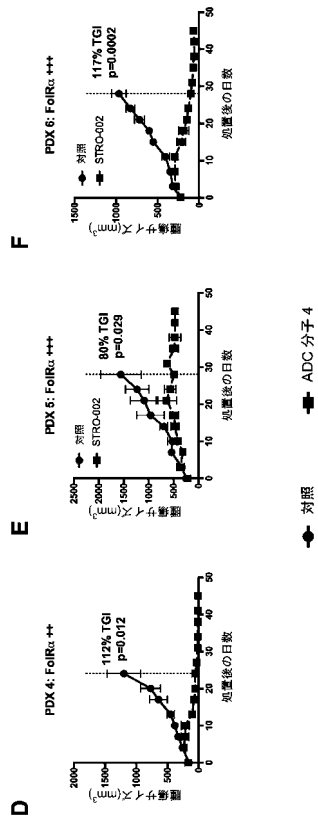
腫瘍サイズ(31日目)



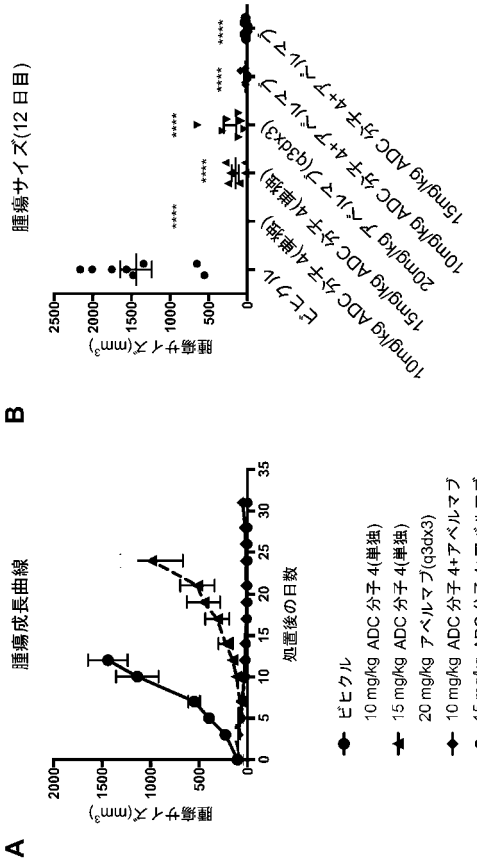
【 図 2 3 A - C 】



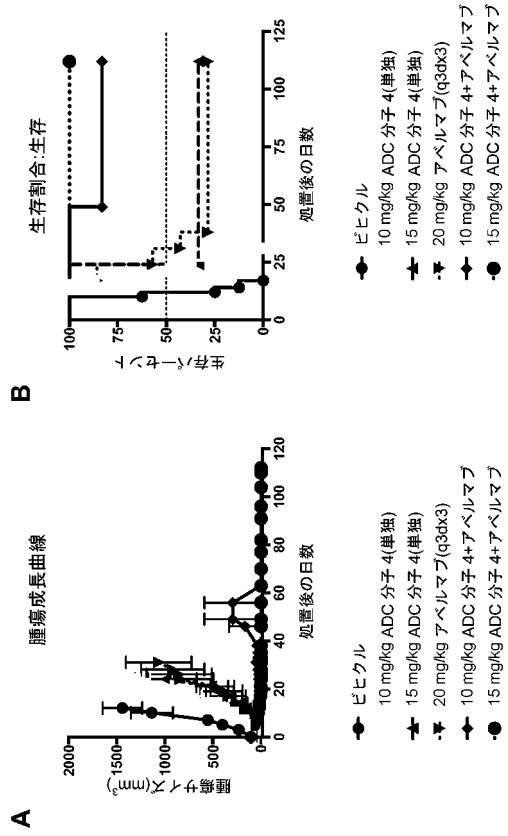
【 図 2 3 D - F 】



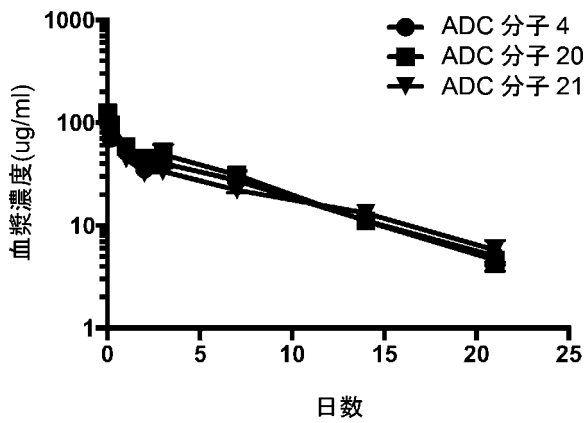
【 図 2 4 】



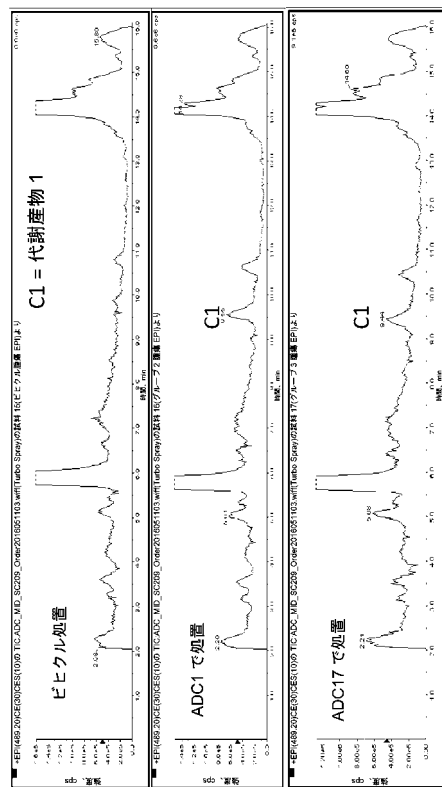
【 図 2 5 】



【 図 2 6 】



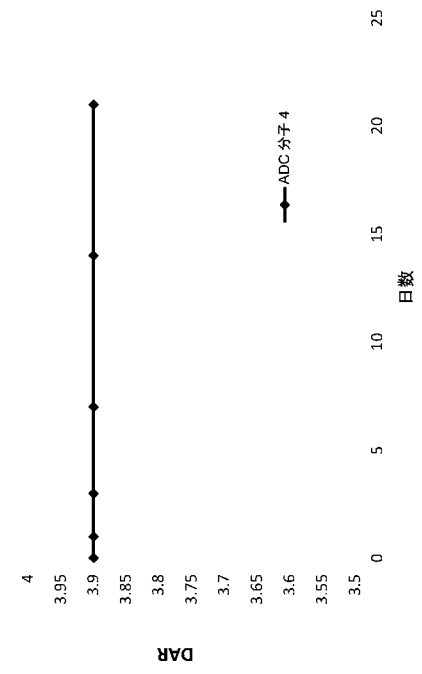
【 図 2 7 】





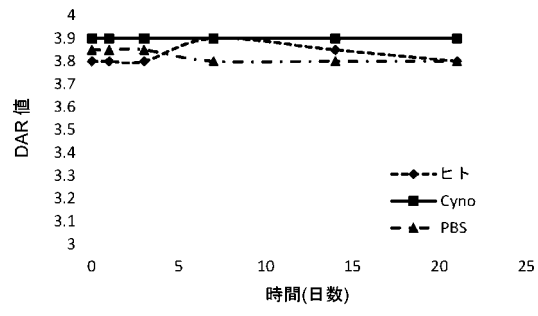
【 図 2 8 】

処置マウスの血清から単離したADCのDARレベル

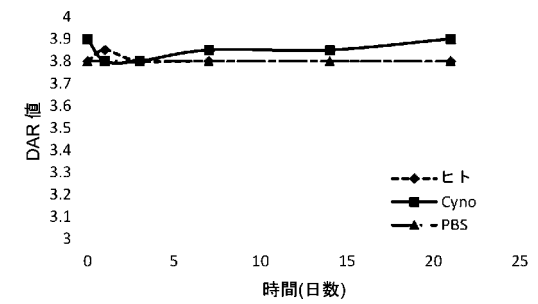


【 図 2 9 】

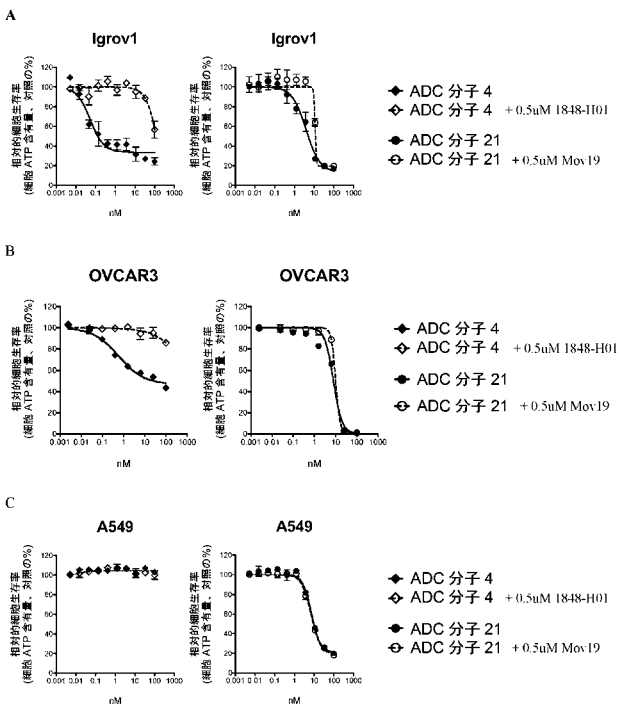
血漿安定性(DAR)-ADC分子4



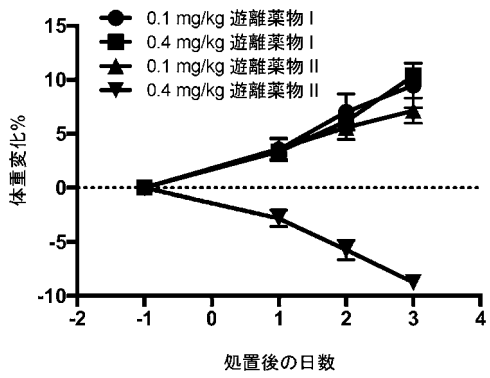
血漿安定性(DAR)-ADC分子20



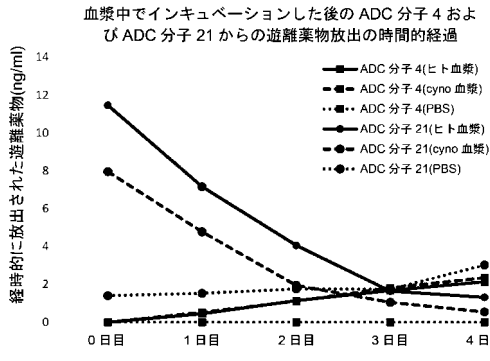
【 図 3 0 】



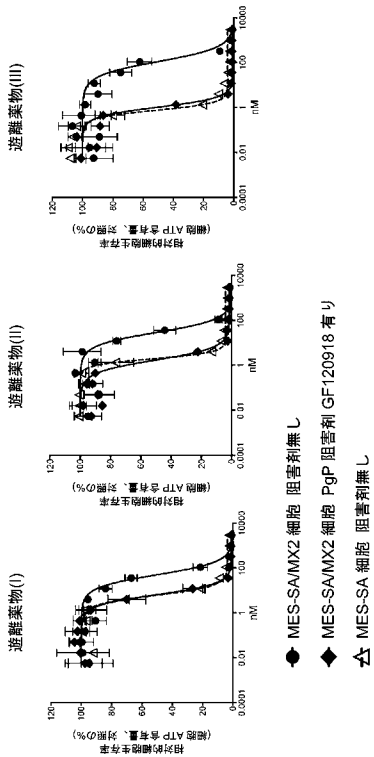
【 図 3 1 】



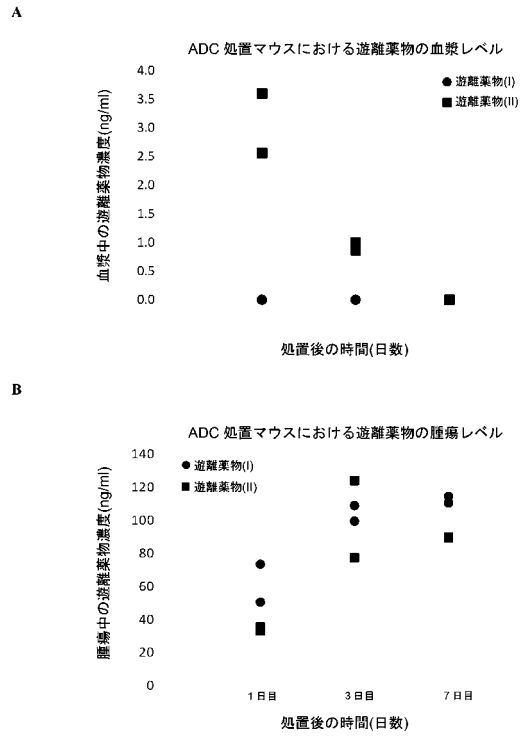
【 図 3 2 】



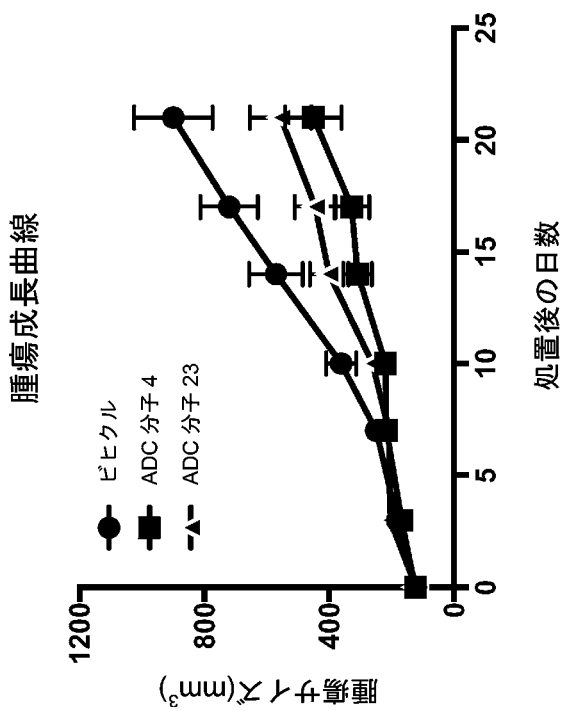
【 図 3 3 】



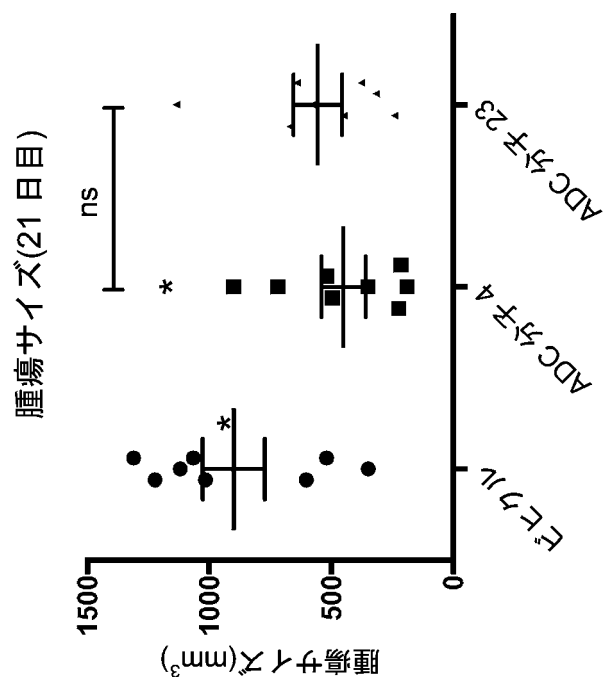
【 図 3 4 】



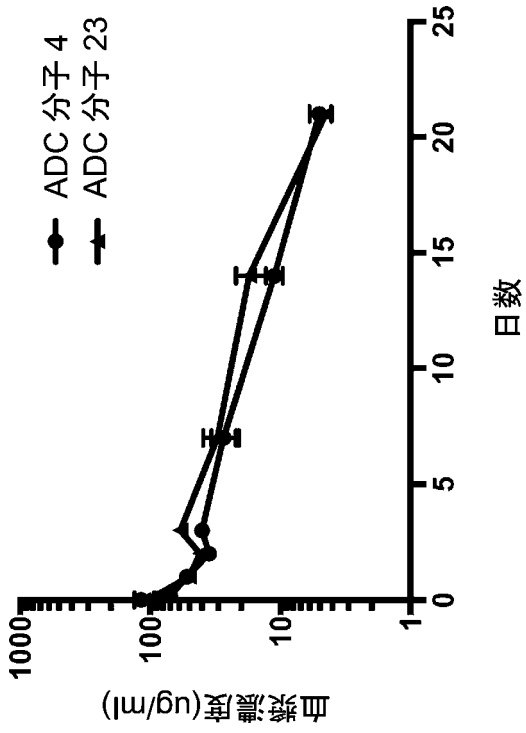
【 図 3 5 A 】



【 図 3 5 B 】



【 図 3 6 】



【 配 列 表 】

2022500454000001.app

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2019/051350
---

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K47/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	U.A. MATULONIS ET AL: "Initial safety and activity findings from a phase IB escalation study of mirvetuximab soravtansine, a folate receptor alpha (FR[alpha]-targeting antibody-drug conjugate (ADC), with pembrolizumab in platinum-resistant epithelial ovarian cancer (EOC) patients", GYNECOLOGIC ONCOLOGY., vol. 149, 25 June 2018 (2018-06-25), page 38, XP055664069, GB	1-90
Y	ISSN: 0090-8258, DOI: 10.1016/j.ygyno.2018.04.085 whole document ----- -/--	1-90
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 3 February 2020		Date of mailing of the international search report 10/02/2020
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Birikaki, LEMONIA

1

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

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2019/051350
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GANG YIN ET AL: "RF1 attenuation enables efficient non-natural amino acid incorporation for production of homogeneous antibody drug conjugates", SCIENTIFIC REPORTS, vol. 7, no. 1, 8 June 2017 (2017-06-08), XP055527126, DOI: 10.1038/s41598-017-03192-z whole document and in particular the abstract and discussion -----	1-90
Y	WO 2017/132617 A1 (SUTRO BIOPHARMA INC [US]) 3 August 2017 (2017-08-03) claims 1-40 -----	1-90
X,P	WO 2019/055931 A1 (SUTRO BIOPHARMA INC [US]) 21 March 2019 (2019-03-21) paragraph [00363] example 24 claims 1-54 -----	1-90
X,P	WO 2019/055909 A1 (SUTRO BIOPHARMA INC [US]) 21 March 2019 (2019-03-21) example 24 claims 1-54 paragraph [00528] -----	1-90
X,P	WO 2018/213260 A1 (IMMUNOGEN INC [US]; MERCK SHARP & DOHME [US]) 22 November 2018 (2018-11-22) claims 1-67 paragraph [0099] -----	1-90

1

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

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/US2019/051350

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017132617 A1	03-08-2017	AU 2017212739 A1	26-07-2018
		BR 112018015238 A2	18-12-2018
		CA 3011455 A1	03-08-2017
		CN 109069664 A	21-12-2018
		EP 3407917 A1	05-12-2018
		JP 2019506385 A	07-03-2019
		KR 20180104106 A	19-09-2018
		SG 11201806419R A	30-08-2018
		US 2019144546 A1	16-05-2019
		WO 2017132615 A1	03-08-2017
		WO 2017132617 A1	03-08-2017
		WO 2019055931 A1	21-03-2019
WO 2019055909 A1	21-03-2019		
WO 2019055931 A1	21-03-2019		
WO 2019055909 A1	21-03-2019	US 2019083641 A1	21-03-2019
		WO 2019055909 A1	21-03-2019
		WO 2019055931 A1	21-03-2019
WO 2018213260 A1	22-11-2018	AU 2018269173 A1	28-11-2019
		CA 3063893 A1	22-11-2018
		TW 201900221 A	01-01-2019
		US 2018333503 A1	22-11-2018
		WO 2018213260 A1	22-11-2018

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	4 H 0 4 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 Y	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 K 31/537 (2006.01)	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 K 38/12 (2006.01)	A 6 1 K 31/537	
A 6 1 K 38/05 (2006.01)	A 6 1 K 38/12	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	A 6 1 K 38/05	
	C 1 2 P 21/08	

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

(72)発明者 アルメイダ, ヴェニタ デ

アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 4 0 8 0, サウス サン フランシスコ, スイート 1 5 0, ユタ アベニュー 3 1 0, ストロ バイオフィーマ, インコーポレーテッド内

Fターム(参考) 4B064 AG26 AG27 CA19 CC24 CE10 DA01  
 4C076 AA95 CC17 CC27 CC41 EE41 EE59 FF70  
 4C084 AA02 AA19 BA14 BA17 BA23 BA24 BA41 NA13 ZA59 ZA81  
 ZB26 ZC75  
 4C085 AA14 AA26 BB11 EE01 EE03  
 4C086 AA01 AA02 CB22 MA02 MA04 NA13 NA14 ZA59 ZA81 ZB26  
 ZC75  
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA50 CA40 DA75 DA76 EA20  
 FA74 GA21