

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7348899号
(P7348899)

(45)発行日 令和5年9月21日(2023.9.21)

(24)登録日 令和5年9月12日(2023.9.12)

(51)国際特許分類	F I	
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	Z N A
C 1 2 N 15/62 (2006.01)	C 1 2 N 15/62	Z
C 0 7 K 16/46 (2006.01)	C 0 7 K 16/46	
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	
C 0 7 K 14/495 (2006.01)	C 0 7 K 14/495	
請求項の数 28 (全212頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号	特願2020-531045(P2020-531045)	(73)特許権者	521131317 マレンゴ・セラピューティクス, インコーポレーテッド アメリカ合衆国マサチューセッツ州02139, ケンブリッジ, メモリアル・ドライブ 840, フォース・フロア
(86)(22)出願日	平成30年12月7日(2018.12.7)	(74)代理人	100118902 弁理士 山本 修
(65)公表番号	特表2021-505155(P2021-505155A)	(74)代理人	100106208 弁理士 宮前 徹
(43)公表日	令和3年2月18日(2021.2.18)	(74)代理人	100196508 弁理士 松尾 淳一
(86)国際出願番号	PCT/US2018/064506	(74)代理人	100122644 弁理士 寺地 拓己
(87)国際公開番号	WO2019/113464	(72)発明者	ロウ, アンドレアス
(87)国際公開日	令和1年6月13日(2019.6.13)		
審査請求日	令和3年12月7日(2021.12.7)		
(31)優先権主張番号	62/596,173		
(32)優先日	平成29年12月8日(2017.12.8)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 多重特異性分子及びその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

多重特異性分子であって、

- (i) TGF- (トランスフォーミング増殖因子) 阻害剤、
- (ii) 抗CSF1R (コロニー刺激因子1受容体) 抗体分子もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗CCR2 (C-Cケモカイン受容体タイプ2) 抗体分子もしくはその抗原結合フラグメント、及び

(iii) (i) 及び (ii) とは異なる腫瘍標的化抗体分子またはその抗原結合フラグメント、

を含み、前記 TGF- 阻害剤は、TGF- 1の活性、TGF- 2の活性、TGF- 3の活性、またはそれらの組合せを低減するのに有効である、前記多重特異性分子。

10

【請求項2】

前記 TGF- 阻害剤が、TGFBR1 (TGF- 受容体1) ポリペプチド、TGFBR2 (TGF- 受容体2) ポリペプチド、TGFBR3 (TGF- 受容体3) ポリペプチド、またはそれらの組合せから成る群より選択される TGF- 受容体ポリペプチドを含み、

前記 TGFBR1 ポリペプチドが：

- (i) TGFBR1 の細胞外ドメインと少なくとも 90% 同一である配列；
- (ii) TGFBR1 の細胞外ドメイン；
- (iii) 配列番号 95、96、97、120、121、もしくは122の細胞外ドメイ

20

ンと少なくとも90%同一である配列；

(i v) 配列番号 9 5、9 6、9 7、1 2 0、1 2 1、もしくは 1 2 2 の細胞外ドメイン；

(v) 配列番号 1 0 4 もしくは 1 0 5 と少なくとも90%同一である配列；または

(v i) 配列番号 1 0 4 もしくは 1 0 5 の配列、

を含み、

前記 T G F B R 2 ポリペプチドが：

(i) T G F B R 2 の細胞外ドメインと少なくとも90%同一である配列；

(i i) T G F B R 2 の細胞外ドメイン；

(i i i) 配列番号 9 8、9 9、1 2 3、もしくは 1 2 4 の細胞外ドメインと少なくとも90%同一である配列；

(i v) 配列番号 9 8、9 9、1 2 3、もしくは 1 2 4 の細胞外ドメイン；

(v) 配列番号 1 0 0、1 0 1、1 0 2、もしくは 1 0 3 と少なくとも90%同一である配列；または

(v i) 配列番号 1 0 0、1 0 1、1 0 2、もしくは 1 0 3 の配列、

を含み、そして

前記 T G F B R 3 ポリペプチドが：

(i) T G F B R 3 の細胞外ドメインと少なくとも90%同一である配列；

(i i) T G F B R 3 の細胞外ドメイン；

(i i i) 配列番号 1 0 6、1 0 7、1 2 5、もしくは 1 2 6 の細胞外ドメインと少なくとも90%同一である配列；

(i v) 配列番号 1 0 6、1 0 7、1 2 5、もしくは 1 2 6 の細胞外ドメイン；

(v) 配列番号 1 0 8 と少なくとも90%同一である配列；または

(v i) 配列番号 1 0 8 の配列、

を含む、

請求項 1 に記載の多重特異性分子。

【請求項 3】

前記 T G F - 阻害剤が、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成する 2 つの T G F - 受容体ポリペプチドを含み、

ホモ二量体は、前記 2 つの T G F - 受容体ポリペプチドが：

(i) ホモ二量体を形成する 2 つの T G F B R 1 ポリペプチド；

(i i) ホモ二量体を形成する 2 つの T G F B R 2 ポリペプチド；もしくは

(i i i) ホモ二量体を形成する 2 つの T G F B R 3 ポリペプチド、

であり、

ヘテロ二量体は、前記 2 つの T G F - 受容体ポリペプチドが：

(i) ヘテロ二量体を形成する T G F B R 1 ポリペプチド及び T G F B R 2 ポリペプチド；

(i i) ヘテロ二量体を形成する T G F B R 1 ポリペプチド及び T G F B R 3 ポリペプチド；もしくは

(i i i) ヘテロ二量体を形成する T G F B R 2 ポリペプチド及び T G F B R 3 ポリペプチド、

である、

請求項 1 または 2 に記載の多重特異性分子。

【請求項 4】

前記 T G F - 阻害剤が、第 1 の T G F - 受容体ポリペプチド及び第 2 の T G F - 受容体ポリペプチドを含み、

前記多重特異性分子が：

(a) 第 1 の重鎖定常領域 1 (C H 1) - F c 領域及び第 2 の C H 1 - F c 領域、ここで：

(i) 前記第 1 の T G F - 受容体ポリペプチドが、前記第 1 の C H 1 - F c 領域に連結され、そして

(i i) 前記第 2 の T G F - 受容体ポリペプチドが、前記第 2 の C H 1 - F c 領域に連

10

20

30

40

50

結される、または

(b) CH1及び軽鎖定常領域(CL)、ここで:

(i) 前記第1のTGF-受容体ポリペプチドが前記CH1に連結され、そして

(ii) 前記第2のTGF-受容体ポリペプチドが前記CLに連結される、

を含み、前記第1のTGF-受容体ポリペプチド及び前記第2のTGF-受容体ポリペプチドがホモ二量体またはヘテロ二量体を形成する、請求項1~3のいずれか1項に記載多重特異性分子。

【請求項5】

(a)

(i) 配列番号192のアミノ酸配列及び配列番号193のアミノ酸配列、

(ii) 配列番号192のアミノ酸配列及び配列番号195のアミノ酸配列、

(iii) 配列番号194のアミノ酸配列及び配列番号193のアミノ酸配列、もしくは

(iv) 配列番号194のアミノ酸配列及び配列番号195のアミノ酸配列;または

(b)

(i) 配列番号196のアミノ酸配列及び配列番号198のアミノ酸配列、

(ii) 配列番号196のアミノ酸配列及び配列番号199のアミノ酸配列、

(iii) 配列番号197のアミノ酸配列及び配列番号198のアミノ酸配列、もしくは

(iv) 配列番号197のアミノ酸配列及び配列番号199のアミノ酸配列、

を含む、請求項4に記載の多重特異性分子。

【請求項6】

前記抗CSF1R抗体分子またはその抗原結合フラグメントを含む、請求項1~5のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

【請求項7】

前記抗CCR2抗体分子またはその抗原結合フラグメントを含む、請求項1~5のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

【請求項8】

前記腫瘍標的化抗体分子またはその抗原結合フラグメントが、PD-L1、メソセリン、CD47、ガングロシド2(GD2)、前立腺幹細胞抗原(PSCA)、前立腺特異的膜抗原(PMSA)、前立腺特異的抗原(PSA)、癌胎児抗原(CEA)、Ronキナーゼ、c-Met、未熟ラミニン受容体、TAG-72、BING-4、カルシウム依存性塩素チャネル2、サイクリン-B1、9D7、Ep-CAM、EphA3、Her2/neu、テロメラーゼ、SAP-1、サバイピン、NY-ESO-1/LAGE-1、PRAME、SSX-2、Melan-A/MART-1、Gp100/pmel17、チロシナーゼ、MC1R、 β -カテニン、BRCA1/2、CDK4、CML66、フィブロネクチン、p53、Ras、TGF-受容体、AFP、ETA、MAGE、CA-125、BAGE、GAGE、 γ -カテニン、CDC27、 α アクチニン-4、TRP1/gp75、TRP2、ガングリオシド、WT1、上皮増殖因子受容体(EGFR)、CD20、MART-2、MUC1、MUC2、MUM1、MUM2、MUM3、NA88-1、NPM、OA1、OGT、RCC、RUI1、RUI2、SAGE、TRG、TSTA、葉酸受容体、L1-CAM、CAIX、EGFRvIII、gpA33、GD3、GM2、VEGFR、インテグリン α 5 β 1、インテグリン α 5 β 1、炭水化物(Le)、IGF1R、TRAILR1、TRAILR2、またはRANKLに結合する、請求項1~7のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

【請求項9】

前記抗原結合フラグメントが、Fab、F(ab')₂、Fv、scFv、単一ドメイン抗体、またはダイアボディ(dAb)を含む、請求項1~8のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

【請求項10】

前記抗CSF1R抗体分子もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗CCR2抗体分子もしくはその抗原結合フラグメントが、軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含み

10

20

30

40

50

、前記腫瘍標的化抗体分子またはその抗原結合フラグメントが、軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含み；

前記抗 C S F 1 R 抗体分子もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗 C C R 2 抗体分子もしくはその抗原結合フラグメントが、軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含み、前記腫瘍標的化抗体分子またはその抗原結合フラグメントが、軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含み；

前記抗 C S F 1 R 抗体分子もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗 C C R 2 抗体分子もしくはその抗原結合フラグメント、及び前記腫瘍標的化抗体分子またはその抗原結合フラグメントが、軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含み；あるいは

前記抗 C S F 1 R 抗体分子もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗 C C R 2 抗体分子もしくはその抗原結合フラグメント、及び前記腫瘍標的化抗体分子またはその抗原結合フラグメントが、軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子。

【請求項 1 1】

前記抗 C S F 1 R 抗体分子もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗 C C R 2 抗体分子もしくはその抗原結合フラグメント、及び/または前記腫瘍標的化抗体分子またはその抗原結合フラグメントが、I g G 1 の重鎖定常領域、I g G 2 の重鎖定常領域、I g G 3 の重鎖定常領域、及び I g G 4 の重鎖定常領域から成る群より選択される重鎖定常領域を含み、そして

前記重鎖定常領域が、前記抗 C S F 1 R 抗体分子もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗 C C R 2 抗体分子もしくはその抗原結合フラグメント、及び/または前記腫瘍標的化抗体分子またはその抗原結合フラグメントに連結される、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子。

【請求項 1 2】

前記抗 C S F 1 R 抗体分子もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗 C C R 2 抗体分子もしくはその抗原結合フラグメントが、第 1 の重鎖定常領域を含み、前記腫瘍標的化抗体分子またはその抗原結合フラグメントが、第 2 の重鎖定常領域を含み、

前記第 1 の重鎖定常領域及び前記第 2 の重鎖定常領域が、対形成した空洞 - 突起（「ノブインホール」）、静電相互作用、または鎖交換のうちの 1 つ以上を含み、それにより、ヘテロ多量体：ホモ多量体を、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、より大きな比率で形成する、

請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子。

【請求項 1 3】

前記第 1 の重鎖定常領域及び/または前記第 2 の重鎖定常領域が、E u 付番システムに基づいて付番される、3 4 7、3 4 9、3 5 0、3 5 1、3 6 6、3 6 8、3 7 0、3 9 2、3 9 4、3 9 5、3 9 7、3 9 8、3 9 9、4 0 5、4 0 7、または 4 0 9 のうちの 1 つ以上から選択される位置でアミノ酸置換を含む、請求項 1 2 に記載の多重特異性分子。

【請求項 1 4】

前記第 1 の重鎖定常領域及び/または前記第 2 の重鎖定常領域が、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V、及び Y 3 4 9 C から成る群より選択されるアミノ酸置換、T 3 6 6 W 及び S 3 5 4 C から成る群より選択されるアミノ酸置換、またはそれらの組合せ（付番は E u 付番システムに基づく）を含む、請求項 1 2 または 1 3 に記載の多重特異性分子。

【請求項 1 5】

(i) T G F - 阻害剤、

(i i) 抗 C S F 1 R 抗体分子またはその抗原結合フラグメント、及び

(i i i) 抗 P D - L 1 抗体分子またはその抗原結合フラグメントである腫瘍標的化抗体分子またはその抗原結合フラグメント

を含む、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子。

【請求項 1 6】

(a)

10

20

30

40

50

(i) 前記 T G F - 阻害剤が、抗 C S F 1 R 抗体分子もしくはその抗原結合フラグメントまたは前記抗 P D - L 1 抗体分子もしくはその抗原結合フラグメントに連結されるか；
または

(i i) 前記多重特異性分子が、第 1 の T G F - 阻害剤及び第 2 T G F - 阻害剤を含み、前記第 1 の T G F - 阻害剤が、前記抗 C S F 1 R 抗体分子またはその抗原結合フラグメント連結され、前記第 2 の T G F - 阻害剤が、抗 P D - L 1 抗体分子またはその抗原結合フラグメントに連結される；あるいは

(b)

(1) 前記抗 C S F 1 R 抗体分子またはその抗原結合フラグメントが、第 1 の重鎖可変領域及び第 1 の重鎖定常領域を含む第 1 の重鎖ポリペプチド、並びに第 1 の軽鎖可変領域及び第 1 の軽鎖定常領域を含む第 1 の軽鎖ポリペプチドを含み、及び/または

10

(2) 前記抗 P D - L 1 抗体分子またはその抗原結合フラグメントが、第 2 の重鎖可変領域及び第 2 の重鎖定常領域を含む第 2 の重鎖ポリペプチド、並びに第 2 の軽鎖可変領域及び第 2 の軽鎖定常領域を含む第 2 の軽鎖ポリペプチドを含み、

ここで：

(i) 前記 T G F - 阻害剤が、前記第 1 の重鎖ポリペプチドまたは前記第 2 の重鎖ポリペプチドに連結される、

(i i) 前記多重特異性分子が、第 1 の T G F - 阻害剤及び第 2 の T G F - 阻害剤を含み、前記第 1 の T G F - 阻害剤が、前記第 1 の重鎖ポリペプチドに連結され、前記第 2 の T G F - 阻害剤が、前記第 2 の重鎖ポリペプチドに連結される、

20

(i i i) 前記 T G F - 阻害剤が、前記第 1 の軽鎖ポリペプチドまたは前記第 2 の軽鎖ポリペプチドに連結される、または

(i v) 前記多重特異性分子が、第 1 の T G F - 阻害剤及び第 2 の T G F - 阻害剤を含み、前記第 1 の T G F - 阻害剤が、前記第 1 の軽鎖ポリペプチドに連結され、前記第 2 の T G F - 阻害剤が、前記第 2 の軽鎖ポリペプチドに連結される、

請求項 1 5 に記載の多重特異性分子。

【請求項 1 7】

(a)

(i) 第 1 の V L 及び第 1 の C L を含む前記抗 C S F 1 R 抗体分子またはその抗原結合フラグメントの第 1 の部分を含む第 1 のポリペプチド、

30

(i i) 第 1 の V H、第 1 の C H 1、第 1 の C H 2、及び第 1 の C H 3 を含む前記抗 C S F 1 R 抗体分子またはその抗原結合フラグメントの第 2 の部分、ならびに第 1 の T G F - 阻害剤を含む第 2 のポリペプチド、

(i i i) 第 2 の V H、第 2 の C H 1、第 2 の C H 2、及び第 2 の C H 3 を含む前記抗 P D - L 1 抗体分子またはその抗原結合フラグメントの第 1 の部分、ならびに第 2 の T G F - 阻害剤を含む第 3 のポリペプチド、そして

(i v) 第 2 の V L 及び第 2 の C L を含む前記 P D - L 1 抗体分子またはその抗原結合フラグメントの第 2 の部分を含む第 4 のポリペプチド、

を含み、前記第 1 の T G F - 阻害剤及び前記第 2 の T G F - 阻害剤が、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成するか；

40

(b)

(i) 第 1 の V L 及び第 1 の C L を含む前記抗 C S F 1 R 抗体分子またはその抗原結合フラグメントの第 1 の部分を含む第 1 のポリペプチド、

(i i) (1) 第 1 の V H、第 1 の C H 1、第 1 の C H 2、及び第 1 の C H 3 を含む前記抗 C S F 1 R 抗体分子またはその抗原結合フラグメントの第 2 の部分、ならびに (2) 第 2 の V H 及び第 2 の V L を含む s c F v を含む前記抗 P D - L 1 抗体分子またはその抗原結合フラグメント、を含む第 2 のポリペプチド、

(i i i) 第 1 の T G F - 阻害剤、第 2 の C H 1、第 2 の C H 2、及び第 2 の C H 3 を含む第 3 のポリペプチド、そして

(i v) 第 2 の T G F - 阻害剤及び第 2 の C L を含む第 4 のポリペプチド、

50

を含み、前記第 1 及び前記第 2 の T G F - 阻害剤が、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成するか；

(c)

(i) 第 1 の V L 及び第 1 の C L を含む前記抗 P D - L 1 抗体分子またはその抗原結合フラグメントの第 1 の部分を含む第 1 のポリペプチド、

(i i) (1) 第 1 の V H 、第 1 の C H 1 、第 1 の C H 2 、及び第 1 の C H 3 を含む前記抗 P D - L 1 抗体分子またはその抗原結合フラグメントの第 2 の部分、ならびに (2) 第 2 の V H 及び第 2 の V L を含む s c F v を含む前記抗 C S F 1 R 抗体分子またはその抗原結合フラグメントを含む第 2 のポリペプチド、

(i i i) 第 1 の T G F - 阻害剤、第 2 の C H 1 、第 2 の C H 2 、及び第 2 の C H 3 を含む第 3 のポリペプチド、そして

(i v) 第 2 の T G F - 阻害剤及び第 2 の C L を含む第 4 のポリペプチド、
を含み、前記第 1 及び前記第 2 の T G F - 阻害剤が、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成するか；

(d)

(i) 第 1 T G F - 阻害剤及び第 1 の C L を含む第 1 のポリペプチド、

(i i) (1) 第 2 の T G F - 阻害剤、第 1 の C H 1 、第 1 の C H 2 、及び第 1 の C H 3 、ならびに (2) 第 1 の V H 及び第 1 の V L を含む第 1 の s c F v を含む前記抗 P D - L 1 抗体分子またはその抗原結合フラグメントを含む第 2 のポリペプチド、

(i i i) (1) 第 3 の T G F - 阻害剤、第 2 の C H 1 、第 2 の C H 2 、及び第 2 の C H 3 、ならびに (2) 第 2 の V H 及び第 2 の V L を含む第 2 の s c F v を含む前記抗 C S F 1 R 抗体分子またはその抗原結合フラグメントを含む第 3 のポリペプチド、そして

(i v) 第 4 の T G F - 阻害剤及び第 2 の C L を含む第 4 のポリペプチド、
を含み、前記第 1 の T G F - 阻害剤及び前記第 2 の T G F - 阻害剤が、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成し、及び / または前記第 3 の T G F - 阻害剤及び前記第 4 の T G F - 阻害剤が、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成するか；あるいは

(e)

(i) (1) 第 1 の T G F - 阻害剤、第 1 の C H 2 、及び第 1 の C H 3 、ならびに (2) 第 1 の V H 及び第 1 の V L を含む第 1 の s c F v を含む前記抗 P D - L 1 抗体分子またはその抗原結合フラグメントを含む第 1 のポリペプチド、そして

(i i) (1) 第 2 の T G F - 阻害剤、第 2 の C H 2 、及び第 2 の C H 3 、ならびに (2) 第 2 の V H 及び第 2 の V L を含む第 2 の c F v を含む前記 C S F 1 R 抗体分子またはその抗原結合フラグメントを含む第 2 のポリペプチド、
を含む、

請求項 1 5 または 1 6 に記載の多重特異性分子。

【請求項 1 8】

前記第 1 の T G F - 受容体ポリペプチドを前記第 1 の C H 1 - F c 領域に連結するリンカー、

前記第 2 の T G F - 受容体ポリペプチドを前記第 2 の C H 1 - F c 領域に連結するリンカー、

前記第 1 の T G F - 受容体ポリペプチドを前記 C H 1 に連結するリンカー、

前記第 2 の T G F - 受容体ポリペプチドを前記 C L に連結するリンカー、

前記 T G F - 阻害剤を前記抗 C S F 1 R 抗体分子またはその抗原結合フラグメントに連結するリンカー、

前記第 1 の T G F - 阻害剤を前記抗 C S F 1 R 抗体分子またはその抗原結合フラグメントに連結するリンカー、

前記第 2 の T G F - 阻害剤を前記抗 P D - L 1 抗体分子またはその抗原結合フラグメントに連結するリンカー、

前記 T G F - 阻害剤を前記第 1 の重鎖ポリペプチドまたは前記第 2 の重鎖ポリペプチドに連結するリンカー、

10

20

30

40

50

前記第 1 の T G F - 阻害剤を前記第 1 の重鎖ポリペプチドに連結するリンカー、
 前記第 2 の T G F - 阻害剤を前記第 2 の重鎖ポリペプチドに連結するリンカー、
 前記 T G F - 阻害剤を前記第 1 の軽鎖ポリペプチドまたは前記第 2 の軽鎖ポリペプチドに連結するリンカー、

前記第 1 の T G F - 阻害剤を前記第 1 の軽鎖ポリペプチドに連結するリンカー、及び
 /または

前記第 2 の T G F - 阻害剤を前記第 2 の軽鎖ポリペプチドに連結するリンカー、
 をさらに含み、前記リンカーが、切断可能なリンカー、切断不可能なリンカー、ペプチド
 リンカー、フレキシブルリンカー、リジッドリンカー、ヘリカルリンカー、及び非ヘリカ
 ルリンカーから成る群より選択される、請求項 1 ~ 17 のいずれか 1 項に記載に多重特異
 性分子。

10

【請求項 19】

第 1 のポリペプチド、第 2 のポリペプチド、第 3 のポリペプチド、及び第 4 のポリペプ
 チドを含み、

前記第 1 のポリペプチド、第 2 のポリペプチド、第 3 のポリペプチド、第 4 のポリペプ
 チドが非隣接であり、そして

前記第 1 のポリペプチド、第 2 のポリペプチド、第 3 のポリペプチド、及び第 4 のポリ
 ペプチドが：

それぞれ配列番号 176、138、185、及び 147；

それぞれ配列番号 176、138、186、及び 148；

20

それぞれ配列番号 176、138、187、及び 147；

それぞれ配列番号 176、138、188、及び 148；

それぞれ配列番号 176、138、189、及び 147；

それぞれ配列番号 176、138、190、及び 148；

それぞれ配列番号 177、150、185、及び 147；

それぞれ配列番号 177、150、186、及び 148；

それぞれ配列番号 177、150、187、及び 147；

それぞれ配列番号 177、150、188、及び 148；

それぞれ配列番号 177、150、189、及び 147；

それぞれ配列番号 177、150、190、及び 148；

30

それぞれ配列番号 178、152、185、及び 147；

それぞれ配列番号 178、152、186、及び 148；

それぞれ配列番号 178、152、187、及び 147；

それぞれ配列番号 178、152、188、及び 148；

それぞれ配列番号 178、152、189、及び 147；

それぞれ配列番号 178、152、190、及び 147；

それぞれ配列番号 179、138、185、及び 147；

それぞれ配列番号 179、138、186、及び 148；

それぞれ配列番号 179、138、187、及び 148；

それぞれ配列番号 179、138、188、及び 148；

40

それぞれ配列番号 179、138、189、及び 147；

それぞれ配列番号 179、138、190、及び 148；

それぞれ配列番号 180、150、185、及び 147；

それぞれ配列番号 180、150、186、及び 148；

それぞれ配列番号 180、150、187、及び 147；

それぞれ配列番号 180、150、188、及び 148；

それぞれ配列番号 180、150、189、及び 147；

それぞれ配列番号 180、150、190、及び 148；

それぞれ配列番号 181、152、185、及び 147；

それぞれ配列番号 181、152、186、及び 148；

50

それぞれ配列番号 1 6 9、1 4 1、1 7 4、及び 1 4 1；
 それぞれ配列番号 1 7 0、1 4 1、1 7 4、及び 1 4 1；
 それぞれ配列番号 1 7 1、1 4 1、1 7 4、及び 1 4 1；
 それぞれ配列番号 1 6 9、1 4 1、1 7 5、及び 1 4 1；
 それぞれ配列番号 1 7 0、1 4 1、1 7 5、及び 1 4 1；
 それぞれ配列番号 1 7 1、1 4 1、1 7 5、及び 1 4 1；
 それぞれ配列番号 1 6 6、1 6 1、1 7 4、及び 1 4 1；
 それぞれ配列番号 1 6 7、1 6 1、1 7 4、及び 1 4 1；
 それぞれ配列番号 1 6 8、1 6 1、1 7 4、及び 1 4 1；
 それぞれ配列番号 1 6 6、1 6 1、1 7 5、及び 1 4 1；
 それぞれ配列番号 1 6 7、1 6 1、1 7 5、及び 1 4 1；
 それぞれ配列番号 1 6 8、1 6 1、1 7 5、及び 1 4 1；
 それぞれ配列番号 1 6 6、1 4 1、1 7 4、及び 1 6 1；
 それぞれ配列番号 1 6 7、1 4 1、1 7 4、及び 1 6 1；
 それぞれ配列番号 1 6 8、1 4 1、1 7 4、及び 1 6 1；
 それぞれ配列番号 1 6 6、1 4 1、1 7 5、及び 1 6 1；
 それぞれ配列番号 1 6 7、1 4 1、1 7 5、及び 1 6 1；または
 それぞれ配列番号 1 6 8、1 4 1、1 7 5、及び 1 6 1、

と少なくとも 90% 同一のアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子。

【請求項 2 0】

第 1 のポリペプチド及び第 2 のポリペプチドを含み、
 前記第 1 のポリペプチド及び第 2 のポリペプチドが非隣接であり、そして
 前記第 1 のポリペプチド及び第 2 のポリペプチドが：

それぞれ配列番号 1 4 2 及び 1 4 3；
 それぞれ配列番号 1 4 2 及び 1 4 4；
 それぞれ配列番号 1 5 7 及び 1 4 3；
 それぞれ配列番号 1 5 7 及び 1 4 4；
 それぞれ配列番号 1 5 8 及び 1 4 3；
 それぞれ配列番号 1 5 8 及び 1 4 4；
 それぞれ配列番号 1 6 3 及び 1 4 3；
 それぞれ配列番号 1 6 3 及び 1 4 4；
 それぞれ配列番号 1 6 4 及び 1 4 3；
 それぞれ配列番号 1 6 4 及び 1 4 4；
 それぞれ配列番号 1 6 5 及び 1 4 3；または
 それぞれ配列番号 1 6 5 及び 1 4 4、

と少なくとも 90% 同一のアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子。

【請求項 2 1】

請求項 1 ~ 2 0 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子をコードする配列を含む、組換えポリヌクレオチド。

【請求項 2 2】

請求項 2 1 に記載の組換えポリヌクレオチドを含む、宿主細胞。

【請求項 2 3】

請求項 1 ~ 2 0 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子を作製する方法であって、遺伝子発現及び/またはヘテロ二量体化に適した条件下で、請求項 2 2 に記載の宿主細胞を培養することを含む、前記方法。

【請求項 2 4】

請求項 1 ~ 2 0 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子と、医薬的に許容される担体、賦形剤、または安定剤とを含む、医薬品。

10

20

30

40

50

【請求項 25】

それを必要とする対象においてがんを治療する方法に使用するための、請求項 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子を含む、医薬組成物。

【請求項 26】

前記がんが、固形腫瘍がんもしくは転移性病変、または血液がんもしくは転移性病変であり、

前記固形腫瘍がんが、膵臓癌、乳癌、結腸直腸癌、肺癌、皮膚癌、卵巣癌、肝臓癌、または脳癌のうちの 1 つ以上であり；そして

前記血液がんが、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B 細胞リンパ腫、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、慢性リンパ性白血病、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯 B 細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、有毛細胞白血病、急性骨髄性白血病 (AML)、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群 (MDS)、多発性骨髄腫、または急性リンパ性白血病のうちの 1 つ以上である、請求項 25 に記載の医薬組成物。

【請求項 27】

第 2 の治療剤をさらに含む、請求項 25 または 26 に記載の医薬組成物。

【請求項 28】

前記治療剤が、抗 CTLA4 抗体、抗 PD1 抗体、抗 PD-L1 抗体、抗 PD-L2 抗体、抗 TIM3 抗体、抗 LAG3 抗体、抗 CD160 抗体、抗 2B4 抗体、抗 CD80 抗体、抗 CD86 抗体、抗 B7-H3 (CD276) 抗体、抗 B7-H4 (VTCN1) 抗体、抗 HVEM (TNFRSF14 または CD270) 抗体、抗 BTLA 抗体、抗 KIR 抗体、抗 MHC クラス I 抗体、抗 MHC クラス II 抗体、抗 GAF9 抗体、抗 VISTA 抗体、抗 BTLA 抗体、抗 TIGIT 抗体、抗 FAIR1 抗体、及び抗 A2aR 抗体から成る群より選択されるチェックポイント阻害剤である、請求項 27 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2017年12月8日に提出された米国第 62/596,173 号の優先権を主張し、その出願は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0002】

配列表

本出願は、ASCII フォーマットで電子的に提出され、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる配列表を含む。2018年12月6日に作成された上記 ASCII コピーは、E2070-7020WO__SL.txt と名付けられ、603,541 バイトのサイズである。

【背景技術】

【0003】

腫瘍関連マクロファージ (TAM) または骨髄由来サプレッサー細胞 (MDSC) を標的とする多重特異性分子及びそれを使用する方法が開示される。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0004】

本開示は、とりわけ、(i) 第 1 の免疫抑制性骨髄細胞 (IMC) 結合部分 (例えば、第 1 の腫瘍関連マクロファージ (TAM) 結合部分、または第 1 の骨髄由来サプレッサー細胞 (MDSC) 結合部分) (例えば、抗体分子)、及び (ii) 第 2 の IMC 結合部分 (例えば、第 1 の TAM 結合部分、または第 2 の MDSC 結合部分) (例えば、抗体分子)、を含む新規多重特異性分子に関し、第 1 と第 2 の IMC (例えば、TAM または MDSC) 結合部分は異なる。理論に拘束されることなく、本明細書に開示される多重特異性分子は、TAM 及び / または MDSC を枯渇させることが予期される。したがって、本明

10

20

30

40

50

細書では、とりわけ、前述の部分を含む多重特異性分子（例えば、多重特異性抗体分子）、それをコードする核酸、前述の分子を生成する方法、及び前述の分子を使用してがんを治療する方法が提供される。

【0005】

一態様では、本明細書で提供されるのは、(i)第1の免疫抑制性骨髄細胞(IMC)結合部分(例えば、第1の腫瘍関連マクロファージ(TAM)結合部分、または第1の骨髄由来サプレッサー細胞(MDSC)結合部分)(例えば、抗体分子)、及び(ii)第2のIMC結合部分(例えば、第2のTAM結合部分、または第2のMDSC結合部分)(例えば、抗体分子)を含む単離された多重特異性、例えば、二重特異性分子であり、第1と第2のIMC(例えば、TAMまたはMDSC)結合部分は異なる。

10

【0006】

いくつかの実施形態では、第1のIMC結合部分は第1のMDSC結合部分であり、第2のIMC結合部分は第2のMDSC結合部分である。いくつかの実施形態では、第1のIMC結合部分は第1のTAM結合部分であり、第2のIMC結合部分は第2のTAM結合部分である。いくつかの実施形態では、第1のTAM結合部分はCSF1R、CCR2、CXCR2、CD86、CD163、CX3CR1、MARCO、CD204、CD52、または葉酸受容体ベータに結合し、第2のTAM結合部分は、CSF1R、CCR2、CXCR2、CD86、CD163、CX3CR1、MARCO、CD204、CD52、または葉酸受容体ベータに結合する。いくつかの実施形態では、第1のTAM結合部分は、CSF1R、CCR2、またはCXCR2(例えば、ヒトのCSF1R、CCR2、またはCXCR2)に結合し、第2のTAM結合部分は、CSF1R、CCR2、またはCXCR2(例えば、ヒトのCSF1R、CCR2、またはCXCR2)に結合する。いくつかの実施形態では、第1のTAM結合部分はCSF1Rに結合し、第2のTAM結合部分はCCR2に結合する。いくつかの実施形態では、第1のTAM結合部分はCSF1Rに結合し、第2のTAM結合部分はCXCR2に結合する。いくつかの実施形態では、第1のTAM結合部分はCCR2に結合し、第2のTAM結合部分はCXCR2に結合する。

20

【0007】

いくつかの実施形態では、第1のTAM結合部分は、約10nM未満、より典型的には、10~100pMの解離定数でCSF1R、CCR2、またはCXCR2に結合し、第2のTAM結合部分は、約10nM未満、より典型的には、10~100pMの解離定数でCSF1R、CCR2、またはCXCR2に結合する。いくつかの実施形態では、第1のTAM結合部分は、CSF1R、CCR2、またはCXCR2の立体配座の、または直鎖状のエピトープに結合し、第2のTAM結合部分は、CSF1R、CCR2、またはCXCR2の立体配座の、または直鎖状のエピトープに結合する。

30

【0008】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は少なくとも2つの非隣接ポリペプチド鎖を含む。いくつかの実施形態では、第1のIMC結合部分は、第1の抗IMC抗体分子を含み、及び/または第2のIMC結合部分は、第2の抗IMC抗体分子を含む。いくつかの実施形態では、第1の抗IMC抗体分子及び第2の抗IMC抗体分子は、独立して、完全抗体(例えば、少なくとも1つ、好ましくは2つの完全重鎖、及び少なくとも1つ、好ましくは2つの完全軽鎖を含む抗体)、または抗原結合フラグメント(例えば、Fab、F(ab')₂、Fv、scFv、単ドメイン抗体、もしくはダイアボディ(dAb))である。

40

【0009】

いくつかの実施形態では、第1の抗IMC抗体分子及び/または第2の抗IMC抗体分子は、IgG1、IgG2、IgG3、もしくはIgG4、またはそれらのフラグメントから選択される重鎖定常領域を含む。

【0010】

いくつかの実施形態では、第1の抗IMC抗体分子及び/または第2の抗IMC抗体分

50

子は、カッパもしくはラムダの軽鎖定常領域、またはそれらのフラグメントから選択される軽鎖定常領域を含む。いくつかの実施形態では、第1の抗I M C抗体分子は、カッパ軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含み、第2の抗I M C抗体分子は、ラムダ軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含む。いくつかの実施形態では、第1の抗I M C抗体分子は、ラムダ軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含み、第2の抗I M C抗体分子は、カッパ軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含む。いくつかの実施形態では、第1の抗I M C抗体分子と第2の抗I M C抗体分子は、共通の軽鎖可変領域を有する。

【0011】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、I g G 1、I g G 2、及びI g G 4の重鎖定常領域、より具体的には、ヒトI g G 1、I g G 2、またはI g G 4の重鎖定常領域から選択される重鎖定常領域（例えば、F c領域）をさらに含む。いくつかの実施形態では、重鎖定常領域（例えば、F c領域）は、第1の抗I M C抗体分子と第2の抗I M C抗体分子の一方または両方に結合、例えば共有結合される。いくつかの実施形態では、重鎖定常領域（例えば、F c領域）は、F c受容体結合、抗体のグリコシル化、システイン残基の数、エフェクター細胞機能、または補体機能の1つ以上を増加または減少させるために改変、例えば変異導入される。いくつかの実施形態では、第1と第2の重鎖定常領域（例えば、F c領域）の界面が改変されて（例えば変異導入されて）、二量体化が、例えば、非操作の界面と比較して、増加または減少する。いくつかの実施形態では、重鎖定常領域（例えば、F c領域）の二量体化は、第1と第2のF c領域のF c界面に、対形成した空洞 - 突起（「ノブインホール」、静電相互作用、または鎖交換のうちの1つ以上を提供することにより増強され、これによって、例えば、非操作の界面と比較して、ヘテロ多量体：ホモ多量体を、より大きな比率で形成する。いくつかの実施形態では、重鎖定常領域（例えば、F c領域）は、例えば、ヒトI g G 1のF c領域の、E u付番システムに基づいて付番される、347、349、350、351、366、368、370、392、394、395、397、398、399、405、407、または409のうちの1つ以上から選択される位置でアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、重鎖定常領域（例えば、F c領域）は、E u付番システムに基づく付番で、T366S、L368A、もしくはY407V（例えば、空洞もしくはホールに対応する）、またはT366W（例えば、突起もしくはノブに対応する）、あるいはそれらの組み合わせから選択されるアミノ酸置換を含む。

【0012】

いくつかの実施形態では、重鎖定常領域（例えば、F c領域）は、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、F c受容体結合、抗体のグリコシル化、システイン残基の数、エフェクター細胞機能、または補体機能のうちの1つ以上を増加または減少させる1つ以上の変異を含む。いくつかの実施形態では、第1の抗I M C抗体分子は第1の重鎖定常領域（例えば、第1のF c領域）を含み、第2の抗I M C抗体分子は第2の重鎖定常領域（例えば、第2のF c領域）を含み、第1の重鎖定常領域は、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、第1の重鎖定常領域と第2の重鎖定常領域のヘテロ二量体化を増加させる1つ以上の変異を含み、及び/または第2の重鎖定常領域は、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、第2の重鎖定常領域と第1の重鎖定常領域のヘテロ二量体化を増加させる1つ以上の変異を含む。いくつかの実施形態では、第1及び第2の重鎖定常領域（例えば、第1及び第2のF c領域）は、対形成した空洞 - 突起（「ノブインホール」）、静電相互作用、または鎖交換のうちの1つ以上を含み、それにより、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、ヘテロ多量体：ホモ多量体をより大きな比率で形成する。いくつかの実施形態では、第1及び/または第2の重鎖定常領域（例えば、第1及び/または第2のF c領域、例えば、第1及び/または第2のI g G 1 F c領域）は、E u付番システムに基づいて付番される、347、349、350、351、366、368、370、392、394、395、397、398、399、405、407、または409のうちの1つ以上から選択される位置でアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、第1及び/または第2の重鎖定常領域（例えば、第1及び/または第2のF c領域、例えば、第1及び/または第2

の I g G 1 F c 領域) は、E u 付番システムに基づく付番で、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V、もしくは Y 3 4 9 C (例えば、空洞もしくはホールに対応する)、または T 3 6 6 W もしくは S 3 5 4 C (例えば、突起もしくはノブに対応する)、あるいはそれらの組み合わせ以下から選択されるアミノ酸置換を含む。

【0013】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子はリンカー、例えば、第1の抗 I M C 抗体分子と第2の抗 I M C 抗体分子、第1の抗 I M C 抗体分子と重鎖定常領域 (例えば、F c 領域)、または第2の抗 I M C 抗体分子と重鎖定常領域のうちの1つ以上の間にリンカーをさらに含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、切断可能なリンカー、切断不可能なリンカー、ペプチドリリンカー、フレキシブルリンカー、リジッドリンカー、ヘリカルリンカー、または非ヘリカルリンカーから選択される。いくつかの実施形態では、リンカーはペプチドリリンカーである。いくつかの実施形態では、ペプチドリリンカーは G l y 及び S e r を含む。

10

【0014】

いくつかの実施形態では、重鎖定常領域 (例えば、F c 領域) は抗体依存性細胞傷害 (A D C C) を含む。

【0015】

いくつかの実施形態では、第1のまたは第2の T A M 結合部分は、C S F 1 R に結合し、配列番号 4 8、配列番号 6 6、もしくは配列番号 6 9 の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つの C D R、または、例えば配列番号 4 8、配列番号 6 6、もしくは配列番号 6 9 の C D R からの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変 (例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換) を有する C D R などの密接に関連する C D R を含み、及び/または配列番号 5 0、配列番号 6 7、もしくは配列番号 7 0 の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つの C D R、または、例えば配列番号 5 0、配列番号 6 7、もしくは配列番号 7 0 の C D R からの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変 (例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換) を有する C D R などの密接に関連する C D R を含む、抗体分子である。いくつかの実施形態では、C S F 1 R に結合する抗体分子は、配列番号 4 8、配列番号 6 6、もしくは配列番号 6 9 の重鎖可変領域配列、または、それらと実質的に同一である (例えば、配列番号 4 8、配列番号 6 6、もしくは配列番号 6 9 のアミノ酸配列と 9 5 % ~ 9 9 . 9 % 同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、または15個を超えない改変 (例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換) を有する) アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号 5 0、配列番号 6 7、もしくは配列番号 7 0 の軽鎖可変領域配列、または、それらと実質的に同一である (例えば、配列番号 5 0、配列番号 6 7、もしくは配列番号 7 0 のアミノ酸配列と 9 5 % ~ 9 9 . 9 % 同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変 (例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換) を有する) アミノ酸配列を含む。

20

30

【0016】

いくつかの実施形態では、第1のまたは第2の T A M 結合部分は、C C R 2 に結合し、配列番号 4 4、配列番号 5 4、配列番号 5 9、配列番号 6 2、配列番号 6 4 の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つの C D R、または、例えば配列番号 4 4、配列番号 5 4、配列番号 5 9、配列番号 6 2、配列番号 6 4 の C D R からの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変 (例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換) を有する C D R などの密接に関連する C D R を含み、及び/または配列番号 4 5、配列番号 5 7、配列番号 6 0、配列番号 6 3、配列番号 6 5 の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つの C D R、または、例えば配列番号 4 5、配列番号 5 7、配列番号 6 0、配列番号 6 3、配列番号 6 5 の C D R からの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変 (例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換) を有する C D R などの密接に関連す

40

50

る C D R を含む、抗体分子である。いくつかの実施形態では、C C R 2 に結合する抗体分子は、配列番号 4 4、配列番号 5 4、配列番号 5 9、配列番号 6 2、配列番号 6 4 の重鎖可変領域配列、または、それらと実質的に同一である（例えば、配列番号 4 4、配列番号 5 4、配列番号 5 9、配列番号 6 2、配列番号 6 4 のアミノ酸配列と 9 5 % ~ 9 9 . 9 % 同一であるか、もしくは、少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、5 つ、1 0 個、もしくは 1 5 個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号 4 5、配列番号 5 7、配列番号 6 0、配列番号 6 3、配列番号 6 5 の軽鎖可変領域配列、または、それらと実質的に同一である（例えば、配列番号 4 5、配列番号 5 7、配列番号 6 0、配列番号 6 3、配列番号 6 5 のアミノ酸配列と 9 5 % ~ 9 9 . 9 % 同一であるか、もしくは、少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、5 つ、1 0 個、もしくは 1 5 個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む。

10

【 0 0 1 7 】

一実施形態では、第 1 の T A M 結合部分は、C C R 2 に結合し、配列番号 4 4 の重鎖可変領域配列からの 1 つ、2 つ、もしくは 3 つの C D R、または例えば配列番号 4 4 の C D R からの少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、2 つ、3 つ、もしくは 4 つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する C D R などの密接に関連する C D R を含むか、及び/または配列番号 4 5 の軽鎖可変領域からの 1 つ、2 つ、もしくは 3 つの C D R、または例えば配列番号 4 5 の C D R からの少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、2 つ、3 つ、もしくは 4 つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する C D R などの密接に関連する C D R を含む抗体分子であり、第 2 の T A M 結合部分は、C S F 1 R に結合し、配列番号 4 8 の重鎖可変領域配列からの 1 つ、2 つ、もしくは 3 つの C D R、または例えば配列番号 4 8 の C D R からの少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、2 つ、3 つ、もしくは 4 つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する C D R などの密接に関連する C D R を含むか、及び/または配列番号 5 0 の軽鎖可変領域配列からの 1 つ、2 つ、もしくは 3 つの C D R、または例えば配列番号 5 0 の C D R からの少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、2 つ、3 つ、もしくは 4 つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する C D R などの密接に関連する C D R を含む抗体分子である。

20

30

【 0 0 1 8 】

一実施形態では、第 1 の T A M 結合部分は、C C R 2 に結合し、配列番号 5 4 の重鎖可変領域配列からの 1 つ、2 つ、もしくは 3 つの C D R、または例えば配列番号 5 4 の C D R からの少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、2 つ、3 つ、もしくは 4 つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する C D R などの密接に関連する C D R を含むか、及び/または配列番号 5 7 の軽鎖可変領域配列からの 1 つ、2 つ、もしくは 3 つの C D R、または例えば配列番号 5 7 の C D R からの少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、2 つ、3 つ、もしくは 4 つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する C D R などの密接に関連する C D R を含む抗体分子であり、第 2 の T A M 結合部分 C S F 1 R に結合し、配列番号 6 6 の重鎖可変領域配列からの 1 つ、2 つ、もしくは 3 つの C D R、または例えば配列番号 6 6 の C D R からの少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、2 つ、3 つ、もしくは 4 つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する C D R などの密接に関連する C D R を含むか、及び/または配列番号 6 7 の軽鎖可変領域配列からの 1 つ、2 つ、もしくは 3 つの C D R、または例えば配列番号 6 7 の C D R からの少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、2 つ、3 つ、もしくは 4 つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する C D R などの密接に関連する C D R を含む抗体分子である。

40

【 0 0 1 9 】

一実施形態では、第 1 の T A M 結合部分は、C C R 2 に結合し、配列番号 5 4 の重鎖可

50

変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号54のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含むか、及び/または配列番号57の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号57のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む抗体分子であり、第2のTAM結合部分CSF1Rに結合し、配列番号69の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号69のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含むか、及び/または配列番号70の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号70のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む抗体分子である。

10

【0020】

一実施形態では、第1のTAM結合部分は、CCR2に結合し、配列番号59の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号59のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含むか、及び/または配列番号60の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号60のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む抗体分子であり、第2のTAM結合部分CSF1Rに結合し、配列番号66の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号66のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含むか、及び/または配列番号67の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号67のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む抗体分子である。

20

30

【0021】

一実施形態では、第1のTAM結合部分は、CCR2に結合し、配列番号59の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号59のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含むか、及び/または配列番号60の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号60のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む抗体分子であり、第2のTAM結合部分CSF1Rに結合し、配列番号69の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号69のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含むか、及び/または配列番号70の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号70のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、

40

50

置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換)を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む抗体分子である。

【0022】

一実施形態では、第1のTAM結合部分は、CCR2に結合し、配列番号62の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号62のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変(例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換)を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含むか、及び/または配列番号63の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号63のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変(例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換)を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む抗体分子であり、第2のTAM結合部分CSF1Rに結合し、配列番号66の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号66のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変(例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換)を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含むか、及び/または配列番号67の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号67のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変(例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換)を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む抗体分子である。

10

20

【0023】

一実施形態では、第1のTAM結合部分は、CCR2に結合し、配列番号62の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号62のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変(例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換)を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含むか、及び/または配列番号63の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号63のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変(例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換)を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む抗体分子であり、第2のTAM結合部分CSF1Rに結合し、配列番号69の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号69のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変(例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換)を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含むか、及び/または配列番号70の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号70のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変(例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換)を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む抗体分子である。

30

【0024】

一実施形態では、第1のTAM結合部分は、CCR2に結合し、配列番号64の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号64のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変(例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換)を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含むか、及び/または配列番号65の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号65のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変(例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換)を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む抗体分子であり、第2のTAM結合部分CSF1Rに結合し、配列番号66の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号66のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超え

40

50

ない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含むか、及び/または配列番号67の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号67のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む抗体分子である。

【0025】

一実施形態では、第1のTAM結合部分は、CCR2に結合し、配列番号64の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号64のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含むか、及び/または配列番号65の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号65のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む抗体分子であり、第2のTAM結合部分CSF1Rに結合し、配列番号69の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号69のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含むか、及び/または配列番号70の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または例えば配列番号70のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む抗体分子である。

【0026】

一実施形態では、第1のTAM結合部分は、CCR2に結合し、配列番号44の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号44のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号45の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号45のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子であり、第2のTAM結合部分CSF1Rに結合し、配列番号48の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号48のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号50の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号50のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子である。

【0027】

一実施形態では、第1のTAM結合部分は、CCR2に結合し、配列番号54の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号54のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号57の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号

10

20

30

40

50

57のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子であり、第2のTAM結合部分CSF1Rに結合し、配列番号66の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号66のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号67の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号67のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子である。

10

【0028】

一実施形態では、第1のTAM結合部分は、CCR2に結合し、配列番号54の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号54のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号57の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号57のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子であり、第2のTAM結合部分CSF1Rに結合し、配列番号69の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号69のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号70の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号70のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子である。

20

30

【0029】

一実施形態では、第1のTAM結合部分は、CCR2に結合し、配列番号59の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号59のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号60の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号60のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、抗体分子であり、第2のTAM結合部分CSF1Rに結合し、配列番号66の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号66のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号67の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号67のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子である。

40

50

【 0 0 3 0 】

一実施形態では、第1のTAM結合部分は、CCR2に結合し、配列番号59の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号59のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号60の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号60のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子であり、第2のTAM結合部分CSF1Rに結合し、配列番号69の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号69のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号70の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号70のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子である。

10

【 0 0 3 1 】

一実施形態では、第1のTAM結合部分は、CCR2に結合し、配列番号62の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号62のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号63の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号63のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子であり、第2のTAM結合部分CSF1Rに結合し、配列番号66の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号66のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号67の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号67のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子である。

20

30

【 0 0 3 2 】

一実施形態では、第1のTAM結合部分は、CCR2に結合し、配列番号62の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号62のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号63の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号63のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子であり、第2のTAM結合部分CSF1Rに結合し、配列番号69の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号69のアミノ酸配列と95%

40

50

～ 99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号70の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号70のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子である。

【0033】

一実施形態では、第1のTAM結合部分は、CCR2に結合し、配列番号64の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号64のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号65の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号65のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子であり、第2のTAM結合部分CSF1Rに結合し、配列番号66の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号66のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号67の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号67のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子である。

【0034】

一実施形態では、第1のTAM結合部分は、CCR2に結合し、配列番号64の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号64のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号65の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号65のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子であり、第2のTAM結合部分は、CSF1Rに結合し、配列番号69の重鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号69のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号70の軽鎖可変領域配列を含むか、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号70のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む、抗体分子である。

【0035】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、1つ以上の追加の結合部分（例えば、第3の結合部分、第4の結合部分（例えば、三重特異性または四重特異性分子））をさらに含む。いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、1つ以上の追加の結合部分（例えば、第3の結合部分、第4の結合部分（例えば、三重特異性または四重特異性分子））をさ

10

20

30

40

50

らに含む。いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、第3のTAM結合部分（例えば、抗体分子）を含み、第3のTAM結合部分は第1及び第2のTAM結合分子とは異なる。いくつかの実施形態では、第1のTAM結合部分はヒトCSF1Rに結合し、第2のTAM結合部分はヒトCCR2に結合し、第3のTAM結合部分はCXCR2に結合する。

【0036】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、腫瘍標的化部分である第3の結合部分（例えば、抗体分子）を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍標的化部分は、PD-L1、メソセリン、CD47、ガングロシド2（GD2）、前立腺幹細胞抗原（PSCA）、前立腺特異的膜抗原（PMSA）、前立腺特異的抗原（PSA）、癌胎児抗原（CEA）、Ronキナーゼ、c-Met、未熟ラミニン受容体、TAG-72、BING-4、カルシウム依存性塩素チャネル2、サイクリン-B1、9D7、Ep-CAM、EphA3、Her2/neu、テロメラゼ、SAP-1、サバイピン、NY-ESO-1/LAGE-1、PRAME、SSX-2、Melan-A/MART-1、Gp100/pmel17、チロシナーゼ、TRP-1/-2、MC1R、 α -カテニン、BRCA1/2、CDK4、CML66、フィブロネクチン、p53、Ras、TGF- β 受容体、AFP、ETA、MAGE、MUC-1、CA-125、BAGE、GAGE、NY-ESO-1、 α -カテニン、CDK4、CDC27、CD47、 α -アクチニン-4、TRP1/gp75、TRP2、gp100、Melan-A/MART1、ガングリオシド、WT1、EphA3、上皮増殖因子受容体（EGFR）、CD20、MART-2、MART-1、MUC1、MUC2、MUM1、MUM2、MUM3、NA88-1、NPM、OA1、OGT、RCC、RUI1、RUI2、SAGE、TRG、TRP1、TSTA、葉酸受容体アルファ、L1-CAM、CAIX、EGFRvIII、gpA33、GD3、GM2、VEGFR、インテグリン（インテグリンアルファVベータ3、インテグリンアルファ5ベータ1）、炭水化物（Le）、IGF1R、EphA3、TRAILR1、TRAILR2、またはRANKLに結合する。

【0037】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は二重特異性分子であり、

(i) 第1のTAM結合部分（例えば、第1のTAM抗原、例えば、CSF1R、CCR2、またはCXCR2に結合する結合部分）は、第1及び第2の非隣接ポリペプチドを含み、

(ii) 第2のTAM結合部分（例えば、第2のTAM抗原、例えば、CSF1R、CCR2、またはCXCR2に結合する結合部分）は、第3及び第4の非隣接ポリペプチドを含み、

(a) 第1のポリペプチドは、例えば、N-からC-への方向で、任意でリンカーを介して、第1のポリペプチドと第3のポリペプチドとの会合を促進する第1のドメイン（例えば、第1のFc領域）に接続された、第1のVH、第1のCH1を含み、

(b) 第2のポリペプチドは、例えば、N-からC-への方向で、第1のVL及び第1のCLを含み、

(c) 第3のポリペプチドは、例えば、N-からC-への方向で、任意でリンカーを介して、第1のポリペプチドと第3のポリペプチドとの会合を促進する第2のドメイン（例えば、第2のFc領域）に接続された、第2のVH、第2のCH1を含み、

(d) 第4のポリペプチドは、例えば、N-からC-への方向で、第2のVL及び第2のCLを含む。いくつかの実施形態では、第1と第2のドメイン（例えば、第1及び第2のFc領域）は、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成する。

【0038】

前述の態様のある特定の実施形態では、多重特異性分子は、TGF- β ベータ阻害剤をさらに含む。いくつかの実施形態では、TGF- β ベータ阻害剤はTGF- β ベータを隔離し、TGF- β ベータは内因性の膜結合型受容体を介して相互作用することもシグナル伝達することもできなくなる。いくつかの実施形態では、TGF- β ベータ阻害剤は、(i) TGF- β 1、(ii) TGF- β 2、または(iii) TGF- β 3のうちの1

つ、2つ、または全ての活性を低減する。いくつかの実施形態では、TGF-β阻害剤は、TGF-β1及びTGF-β3以下の活性を低減する。いくつかの実施形態では、TGF-β阻害剤は、TGF-β1、TGF-β2、及びTGF-β3の活性を低減する。

【0039】

いくつかの実施形態では、TGF-β阻害剤は、例えば、リンカーを介して第1のIMC結合部分（例えば、第1のTAM結合部分もしくは第1のMDS C結合部分）、または第2のIMC結合部分（例えば、第2のTAM結合部分もしくは第2のMDS C結合部分）に連結されている。いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、第1のTGF-β阻害剤及び第2のTGF-β阻害剤を含み、第1のTGF-β阻害剤は、
10

【0040】

いくつかの実施形態では、第1のIMC結合部分（例えば、第1のTAM結合部分または第1のMDS C結合部分）は、第1の重鎖ポリペプチド（例えば、第1の重鎖可変領域及び第1の重鎖定常領域（例えば、第1のFc領域）を含む第1の重鎖ポリペプチド）を含む第1の抗IMC抗体分子（例えば、第1の抗TAM抗体分子または第1の抗MDS C抗体分子）を含み、第2のIMC結合部分（例えば、第2のTAM結合部分または第2の
20

MDS C結合部分）は、第2の重鎖ポリペプチド（例えば、第2の重鎖可変領域及び第2の重鎖定常領域（例えば、第2のFc領域）を含む第2の重鎖ポリペプチド）ならびに第2の軽鎖ポリペプチド（例えば、第2の軽鎖可変領域及び第2の軽鎖定常領域を含む第2の軽鎖ポリペプチド）を含む第2の抗IMC抗体分子（例えば、第2の抗TAM抗体分子または第2の抗MDS C抗体分子）を含み、
(a) TGF-β阻害剤は、例えば、リンカーを介して第1の抗IMC抗体分子（
10

例えば、第1の抗TAM抗体分子もしくは第1の抗MDS C抗体分子）、または第2の抗IMC抗体分子（例えば、第2の抗TAM抗体分子もしくは第2の抗MDS C抗体分子）に連結されているか、
(b) 多重特異性分子は、第1のTGF-β阻害剤及び第2のTGF-β阻害剤
30

を含み、第1のTGF-β阻害剤は、例えば、リンカーを介して第1の抗IMC抗体分子（例えば、第1の抗TAM抗体分子または第1の抗MDS C抗体分子）に連結され、第2のTGF-β阻害剤は、例えば、リンカーを介して第2の抗IMC抗体分子（
10

例えば、第2の抗TAM抗体分子または第2の抗MDS C抗体分子）に連結されているか、
(c) TGF-β阻害剤は、例えば、リンカーを介して第1の重鎖ポリペプチド（
40

例えば、第1の重鎖ポリペプチドのFc領域、例えば、第1の重鎖ポリペプチドのFc領域のC末端）、または第2の重鎖ポリペプチド（例えば、第2の重鎖ポリペプチドのFc領域、例えば、第2の重鎖ポリペプチドのFc領域のC末端）に連結されているか、
(d) 多重特異性分子は、第1のTGF-β阻害剤及び第2のTGF-β阻害剤
40

を含み、第1のTGF-β阻害剤は、例えば、リンカーを介して第1の重鎖ポリペプチド（例えば、第1の重鎖ポリペプチドのFc領域、例えば、第1の重鎖ポリペプチドのFc領域のC末端）に連結され、第2のTGF-β阻害剤は、例えば、リンカーを介して第2の重鎖ポリペプチド（例えば、第2の重鎖ポリペプチドのFc領域、例えば、
40

第2の重鎖ポリペプチドのFc領域のC末端）に連結されているか、
(e) TGF-β阻害剤は、例えば、リンカーを介して第1の軽鎖ポリペプチド（
40

例えば、第1の軽鎖ポリペプチドの定常領域、例えば、第1の軽鎖ポリペプチドの定常領域のC末端）、または第2の軽鎖ポリペプチド（例えば、第2の軽鎖ポリペプチドの定常領域、例えば、第2の軽鎖ポリペプチドの定常領域のC末端）に連結されているか、または
(f) 多重特異性分子は、第1のTGF-β阻害剤及び第2のTGF-β阻害剤
50

を含み、第1のTGF-β阻害剤は、例えば、リンカーを介して第1の軽鎖ポリペ
50

プチド（例えば、第1の軽鎖ポリペプチドの定常領域、例えば、第1の軽鎖ポリペプチドの定常領域のC末端）に連結され、第2のTGF-ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して第2の軽鎖ポリペプチド（例えば、第2の軽鎖ポリペプチドの定常領域、例えば、第2の軽鎖ポリペプチドの定常領域のC末端）に連結されている。

【0041】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、

(i) 第1のVL及び第1のCLを含む、第1のIMC結合部分（例えば、第1のTAM結合部分または第1のMDS結合部分）の第1の部分を含む第1のポリペプチド、

(ii) (1) 第1のVH、第1のCH1、第1のCH2、及び第1のCH3を含む第1のIMC結合部分（例えば、第1のTAM結合部分または第1のMDS結合部分）と、任意で(2) 第1のTGF-ベータ阻害剤とを含む第2のポリペプチド、

(iii) (1) 第2のVH、第2のCH1、第2のCH2、及び第2のCH3を含む第2のIMC結合部分（例えば、第2のTAM結合部分または第2のMDS結合部分）と、任意で(2) 第2のTGF-ベータ阻害剤とを含む第3のポリペプチド、及び

(iv) 第2のVL及び第2のCLを含む、第2のIMC結合部分（例えば、第2のTAM結合部分または第2のMDS結合部分）の第1の部分を含む第4のポリペプチド、を含み、

多重特異性分子は、第1のTGF-ベータ阻害剤または第2のTGF-ベータ阻害剤のうちの少なくとも1つを含み、任意で、第1及び第2のTGF-ベータ阻害剤は、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成する。いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図1A~1Jのうちのいずれか1つの構成を有する。

【0042】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、

(i) 第1のVL及び第1のCLを含む、第1のIMC結合部分（例えば、第1のTAM結合部分または第1のMDS結合部分）の第1の部分を含む第1のポリペプチド、

(ii) (1) 第1のVH、第1のCH1、第1のCH2、及び第1のCH3を含む第1のIMC結合部分（例えば、第1のTAM結合部分または第1のMDS結合部分）と、(2) 第2のVH及び第2のVLを含む第2のIMC結合部分（例えば、第2のTAM結合部分または第2のMDS結合部分）（例えば、scFv）とを含む第2のポリペプチド、

(iii) 第1のTGF-ベータ阻害剤、第2のCH1、第2のCH2、及び第2のCH3を含む第3のポリペプチド、及び

(iv) 第2のTGF-ベータ阻害剤及び第2のCLを含む第4のポリペプチドを含み、任意で、第1及び第2のTGF-ベータ阻害剤は、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成する。いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図2A~2D及び3A~3Dのうちのいずれか1つの構成を有する。

【0043】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、

(i) 第1のTGF-ベータ阻害剤及び第1のCLを含む第1のポリペプチド、

(ii) (1) 第2のTGF-ベータ阻害剤、第1のCH1、第1のCH2、及び第1のCH3と、(2) 第1のVH及び第1のVLを含む第1のIMC結合部分（例えば、第1のTAM結合部分または第1のMDS結合部分）（例えば、第1のscFv）とを含む第2のポリペプチド、

(iii) (1) 第3のTGF-ベータ阻害剤、第2のCH1、第2のCH2、及び第2のCH3と、(2) 第2のVH及び第2のVLを含む第2のIMC結合部分（例えば、第2のTAM結合部分または第2のMDS結合部分）（例えば、第2のscFv）とを含む第3のポリペプチド、

(iv) 第4のTGF-ベータ阻害剤及び第2のCLを含む第4のポリペプチド、を含み、任意で、第1及び第2のTGF-ベータ阻害剤は、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成し、及び/または第3及び第4の第3のTGF-ベータ阻害剤は、ホモ二量体ま

10

20

30

40

50

たはヘテロ二量体を形成する。いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 4 A ~ 4 D のうちのいずれか 1 つの構成を有する。

【 0 0 4 4 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、

(i) (1) 第 1 の T G F - ベータ阻害剤、第 1 の C H 2、及び第 1 の C H 3 と、(2) 第 1 の V H 及び第 1 の V L を含む第 1 の I M C 結合部分 (例えば、第 1 の T A M 結合部分または第 1 の M D S C 結合部分) (例えば、第 1 の s c F v) とを含む第 1 のポリペプチド、及び

(i i) (1) 第 2 の T G F - ベータ阻害剤、第 2 の C H 2、及び第 2 の C H 3 と、(2) 第 2 の V H 及び第 2 の V L を含む第 2 の I M C 結合部分 (例えば、第 2 の T A M 結合部分または第 2 の M D S C 結合部分) (例えば、第 2 の s c F v) とを含む第 2 のポリペプチド

を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 5 A ~ 5 B のうちのいずれか 1 つの構成を有する。

【 0 0 4 5 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、第 1 の T G F - ベータ阻害剤及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤を含み、第 1 の T G F - ベータ阻害剤と第 2 の T G F - ベータ阻害剤は二量体を形成する。

【 0 0 4 6 】

いくつかの実施形態では、T G F - ベータ阻害剤、または第 1、第 2、第 3、もしくは第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F - ベータ受容体ポリペプチド (例えば、T G F - ベータ受容体の細胞外ドメイン、もしくは、その機能的バリエーション) を含む。いくつかの実施形態では、T G F - ベータ阻害剤、または第 1、第 2、第 3、もしくは第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、

(i) T G F B R 1 ポリペプチド (例えば、1 つ、2 つ、3 つ、またはそれ以上の T G F B R 1 ポリペプチド)、

(i i) T G F B R 2 ポリペプチド (例えば、1 つ、2 つ、3 つ、またはそれ以上の T G F B R 2 ポリペプチド)、または

(i i i) T G F B R 3 ポリペプチド (例えば、1 つ、2 つ、3 つ、またはそれ以上の T G F B R 3 ポリペプチド)

のうちの 1 つ、2 つ、または全てを含む。

【 0 0 4 7 】

いくつかの実施形態では、T G F - ベータ阻害剤、または第 1、第 2、第 3、もしくは第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 1 ポリペプチドを含み、例えば、T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 1 の細胞外ドメイン、またはそれと実質的に同一な配列 (例えば、それと少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、もしくは 9 5 % 同一である配列) を含む。いくつかの実施形態では、T G F - ベータ阻害剤、または第 1、第 2、第 3、もしくは第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 1 ポリペプチドを含み、例えば、T G F - ベータ阻害剤は、配列番号 9 5、9 6、9 7、1 2 0、1 2 1、もしくは 1 2 2 の細胞外ドメイン、またはそれと実質的に同一な配列 (例えば、それと少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、もしくは 9 5 % 同一である配列) を含む。いくつかの実施形態では、T G F - ベータ阻害剤、または第 1、第 2、第 3、もしくは第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 1 ポリペプチドを含み、例えば、T G F - ベータ阻害剤は、配列番号 1 0 4 もしくは 1 0 5 のアミノ酸配列、またはそれと実質的に同一な配列 (例えば、それと少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、もしくは 9 5 % 同一である配列) を含む。

【 0 0 4 8 】

いくつかの実施形態では、T G F - ベータ阻害剤、または第 1、第 2、第 3、もしくは第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 2 ポリペプチドを含み、例えば、T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 2 の細胞外ドメイン、またはそれと実質的に同一な配列 (例えば、それと少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、または 9 5 % 同一である配列) を含む。

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤、または第1、第2、第3、もしくは第4のTGF-ベータ阻害剤は、TGFBR2ポリペプチドを含み、例えば、TGF-ベータ阻害剤は、配列番号98、99、123、もしくは124の細胞外ドメイン、またはそれと実質的に同一な配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤、または第1、第2、第3、もしくは第4のTGF-ベータ阻害剤は、TGFBR2ポリペプチドを含み、例えば、TGF-ベータ阻害剤は、配列番号100、101、102、及び103からなる群から選択されるアミノ酸配列、またはそれと実質的に同一な配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、または95%同一である配列）を含む。

【0049】

いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤、または第1、第2、第3、もしくは第4のTGF-ベータ阻害剤は、TGFBR3ポリペプチドを含み、例えば、TGF-ベータ阻害剤は、TGFBR3の細胞外ドメイン、またはそれと実質的に同一な配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤、または第1、第2、第3、もしくは第4のTGF-ベータ阻害剤は、TGFBR3ポリペプチドを含み、例えば、TGF-ベータ阻害剤は、配列番号106、107、125、もしくは126の細胞外ドメイン、またはそれと実質的に同一な配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤、または第1、第2、第3、もしくは第4のTGF-ベータ阻害剤は、TGFBR3ポリペプチドを含み、例えば、TGF-ベータ阻害剤は、配列番号108のアミノ酸配列、またはそれと実質的に同一な配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。

【0050】

一態様では、本明細書で開示されるのは、

(i) CSF1R結合部分（例えば、抗CSF1R抗体分子）、

(ii) PD-L1結合部分（例えば、抗PD-L1抗体分子）、及び

(iii) TGF-ベータ阻害剤

を含む単離された多重特異性分子である。

【0051】

いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤はTGF-ベータを隔離し、TGF-ベータは内因性の膜結合型受容体を介して相互作用することもシグナル伝達することもできなくなる。

【0052】

いくつかの実施形態では、CSF1R結合部分（例えば、抗CSF1R抗体分子）は、完全抗体（例えば、少なくとも1つ、好ましくは2つの完全重鎖、及び少なくとも1つ、好ましくは2つの完全軽鎖を含む抗体）、または抗原結合フラグメント（例えば、Fab、F(ab')₂、Fv、scFv、単一ドメイン抗体、もしくはダイアボディ(dAb)）である。いくつかの実施形態では、PD-L1結合部分（例えば、抗PD-L1抗体分子）は、完全抗体（例えば、少なくとも1つ、好ましくは2つの完全重鎖、及び少なくとも1つ、好ましくは2つの完全軽鎖を含む抗体）、または抗原結合フラグメント（例えば、Fab、F(ab')₂、Fv、scFv、単一ドメイン抗体、もしくはダイアボディ(dAb)）である。いくつかの実施形態では、CSF1R結合部分（例えば、抗CSF1R抗体分子）はカップもしくはラムダの軽鎖定常領域、またはそれらのフラグメントから選択される軽鎖定常領域を含む。いくつかの実施形態では、PD-L1結合部分（例えば、抗PD-L1抗体分子）は、カップもしくはラムダの軽鎖定常領域、またはそれらのフラグメントから選択される軽鎖定常領域を含む。いくつかの実施形態では、CSF1R結合部分（例えば、抗CSF1R抗体分子）は、カップ軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含み、PD-L1結合部分（例えば、抗PD-L1抗体分子）は、ラムダ軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含む。いくつかの実施形態では、CSF1R結合部分（例え

10

20

30

40

50

ば、抗CSF1R抗体分子)は、ラムダ軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含み、PD-L1結合部分(例えば、抗PD-L1抗体分子)は、カッパ軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含む。いくつかの実施形態では、CSF1R結合部分(例えば、抗CSF1R抗体分子)とPD-L1結合部分(例えば、抗PD-L1抗体分子)は、共通の軽鎖可変領域を有する。

【0053】

いくつかの実施形態では、CSF1R結合部分(例えば、抗CSF1R抗体分子)は、IgG1、IgG2、IgG3、もしくはIgG4から選択される重鎖定常領域(例えば、CH1領域及びFc領域)、またはそれらのフラグメントを含む。いくつかの実施形態では、PD-L1結合部分(例えば、抗PD-L1抗体分子)は、IgG1、IgG2、IgG3、もしくはIgG4から選択される重鎖定常領域(例えば、CH1領域及びFc領域)、またはそれらのフラグメントを含む。いくつかの実施形態では、重鎖定常領域(例えば、Fc領域)は、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、Fc受容体結合、抗体のグリコシル化、システイン残基の数、エフェクター細胞機能、または補体機能のうちの1つ以上を増加または減少させる1つ以上の変異を含む。

【0054】

いくつかの実施形態では、CSF1R結合部分(例えば、抗CSF1R抗体分子)は第1の重鎖定常領域(例えば、第1のFc領域)を含み、PD-L1結合部分(抗PD-L1抗体分子)は第2の重鎖定常領域(例えば、第2のFc領域)を含み、第1の重鎖定常領域は、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、第1の重鎖定常領域と第2の重鎖定常領域のヘテロ二量体化を増加させる1つ以上の変異を含み、及び/または第2の重鎖定常領域は、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、第2の重鎖定常領域と第1の重鎖定常領域のヘテロ二量体化を増加させる1つ以上の変異を含む。いくつかの実施形態では、第1及び第2の重鎖定常領域(例えば、第1及び第2のFc領域)は、対形成した空洞-突起(「ノブインホール」)、静電相互作用、または鎖交換のうちの1つ以上を含み、それにより、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、ヘテロ多量体:ホモ多量体を、より大きな比率で形成する。いくつかの実施形態では、第1及び/または第2の重鎖定常領域(例えば、第1及び/または第2のFc領域、例えば、第1及び/または第2のIgG1 Fc領域)は、Eu付番システムに基づいて付番される、347、349、350、351、366、368、370、392、394、395、397、398、399、405、407、または409のうちの1つ以上から選択される位置でアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、第1及び/または第2の重鎖定常領域(例えば、第1及び/または第2のFc領域、例えば、第1及び/または第2のIgG1 Fc領域)は、T366S、L368A、Y407V、もしくはY349C(例えば、空洞もしくはホールに対応する)、またはT366WもしくはS354C(例えば、突起もしくはノブに対応する)、あるいはそれらの組み合わせ(付番はEu付番システムに基づく)から選択されるアミノ酸置換を含む。

【0055】

いくつかの実施形態では、CSF1R結合部分(例えば、抗CSF1R抗体分子)は、配列番号48、配列番号66、もしくは配列番号69の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または、例えば配列番号48、配列番号66、もしくは配列番号69のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変(例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換)を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含み、及び/または配列番号50、配列番号67、もしくは配列番号70の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または、例えば配列番号50、配列番号67、もしくは配列番号70のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変(例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換)を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む。いくつかの実施形態では、CSF1R結合部分(例えば、抗CSF1R抗体分子)は、配列番号48、配列番号66、もしくは配列番号69の重鎖可変領域配列

10

20

30

40

50

、または、それらと実質的に同一である（例えば、配列番号48、配列番号66、もしくは配列番号69のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、または15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号50、配列番号67、もしくは配列番号70の軽鎖可変領域配列、または、それらと実質的に同一である（例えば、配列番号50、配列番号67、もしくは配列番号70のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む。

【0056】

いくつかの実施形態では、CSF1R結合部分（例えば、抗CSF1R抗体分子）は、配列番号48の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDRを含むか、または、例えば配列番号48のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含み、及び/または配列番号50の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDRを含むか、または、例えば配列番号50のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む。いくつかの実施形態では、CSF1R結合部分（例えば、抗CSF1R抗体分子）は、配列番号48の重鎖可変領域配列、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号48のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、または15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号50の軽鎖可変領域配列、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号50のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む。

【0057】

いくつかの実施形態では、CSF1R結合部分（例えば、抗CSF1R抗体分子）は、配列番号66の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDRを含むか、または、例えば配列番号66のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含み、及び/または配列番号67の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDRを含むか、または、例えば配列番号67のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む。いくつかの実施形態では、CSF1R結合部分（例えば、抗CSF1R抗体分子）は、配列番号66の重鎖可変領域配列、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号66のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、または15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号67の軽鎖可変領域配列、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号67のアミノ酸配列と95%～99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む。

【0058】

いくつかの実施形態では、CSF1R結合部分（例えば、抗CSF1R抗体分子）は、配列番号69の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または、例

10

20

30

40

50

例えば配列番号69のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含み、及び/または配列番号70の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または、例えば配列番号70のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む。いくつかの実施形態では、CSF1R結合部分（例えば、抗CSF1R抗体分子）は、配列番号69の重鎖可変領域配列、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号69のアミノ酸配列と95%~99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、または15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号70の軽鎖可変領域配列、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号70のアミノ酸配列と95%~99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む。

10

【0059】

いくつかの実施形態では、PD-L1結合部分（例えば、抗PD-L1抗体分子）は、配列番号109、配列番号111、もしくは配列番号113の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または、例えば配列番号109、配列番号111、もしくは配列番号113のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含み、及び/または配列番号110、配列番号112、もしくは配列番号114の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または、例えば配列番号110、配列番号112、もしくは配列番号114のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む。いくつかの実施形態では、PD-L1結合部分（例えば、抗PD-L1抗体分子）は、配列番号109、配列番号111、もしくは配列番号113の重鎖可変領域配列、または、それらと実質的に同一である（例えば、配列番号109、配列番号111、もしくは配列番号113のアミノ酸配列と95%~99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、または15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号110、配列番号112、もしくは配列番号114の軽鎖可変領域配列、または、それらと実質的に同一である（例えば、配列番号110、配列番号112、もしくは配列番号114のアミノ酸配列と95%~99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む。

20

30

【0060】

いくつかの実施形態では、PD-L1結合部分（例えば、抗PD-L1抗体分子）は、配列番号109の重鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または、例えば配列番号109のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含み、及び/または配列番号110の軽鎖可変領域配列からの1つ、2つ、もしくは3つのCDR、または、例えば配列番号110のCDRからの少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、2つ、3つ、もしくは4つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRなどの密接に関連するCDRを含む。いくつかの実施形態では、PD-L1結合部分（例えば、抗PD-L1抗体分子）は、配列番号109の重鎖可変領域配列、または、

40

50

それと実質的に同一である（例えば、配列番号 109 のアミノ酸配列と 95% ~ 99.9% 同一であるか、もしくは、少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、5 つ、10 個、または 15 個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号 110 の軽鎖可変領域配列、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号 110 のアミノ酸配列と 95% ~ 99.9% 同一であるか、もしくは、少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、5 つ、10 個、もしくは 15 個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む。

【0061】

いくつかの実施形態では、PD-L1 結合部分（例えば、抗 PD-L1 抗体分子）は、配列番号 111 の重鎖可変領域配列からの 1 つ、2 つ、もしくは 3 つの CDR、または、例えば配列番号 111 の CDR からの少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、2 つ、3 つ、もしくは 4 つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する CDR などの密接に関連する CDR を含み、及び/または配列番号 112 の軽鎖可変領域配列からの 1 つ、2 つ、もしくは 3 つの CDR、または、例えば配列番号 112 の CDR からの少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、2 つ、3 つ、もしくは 4 つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する CDR などの密接に関連する CDR を含む。いくつかの実施形態では、PD-L1 結合部分（例えば、抗 PD-L1 抗体分子）は、配列番号 111 の重鎖可変領域配列、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号 111 のアミノ酸配列と 95% ~ 99.9% 同一であるか、もしくは、少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、5 つ、10 個、または 15 個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号 112 の軽鎖可変領域配列、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号 112 のアミノ酸配列と 95% ~ 99.9% 同一であるか、もしくは、少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、5 つ、10 個、もしくは 15 個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む。

【0062】

いくつかの実施形態では、PD-L1 結合部分（例えば、抗 PD-L1 抗体分子）は、配列番号 113 の重鎖可変領域配列からの 1 つ、2 つ、もしくは 3 つの CDR、または、例えば配列番号 113 の CDR からの少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、2 つ、3 つ、もしくは 4 つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する CDR などの密接に関連する CDR を含み、及び/または配列番号 114 の軽鎖可変領域配列からの 1 つ、2 つ、もしくは 3 つの CDR、または、例えば配列番号 114 の CDR からの少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、2 つ、3 つ、もしくは 4 つを超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する CDR などの密接に関連する CDR を含む。いくつかの実施形態では、PD-L1 結合部分（例えば、抗 PD-L1 抗体分子）は、配列番号 113 の重鎖可変領域配列、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号 113 のアミノ酸配列と 95% ~ 99.9% 同一であるか、もしくは、少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、5 つ、10 個、または 15 個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含み、及び/または配列番号 114 の軽鎖可変領域配列、または、それと実質的に同一である（例えば、配列番号 114 のアミノ酸配列と 95% ~ 99.9% 同一であるか、もしくは、少なくとも 1 つのアミノ酸改変であるが、5 つ、10 個、もしくは 15 個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）アミノ酸配列を含む。

【0063】

いくつかの実施形態では、TGF-β 阻害剤は、

(i) TGF-β 1、

(ii) TGF-β 2、または

10

20

30

40

50

(i i i) T G F - ベータ 3、
 のうちの 1 つ、2 つ、または全ての活性を低減し、任意で、T G F - ベータ阻害剤は、
 (a) T G F - ベータ 1 及び T G F - ベータ 3、または
 (b) T G F - ベータ 1、T G F - ベータ 2、及び T G F - ベータ 3
 の活性を低減する。

【 0 0 6 4 】

いくつかの実施形態では、T G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して C S F 1 R 結合部分 (例えば、抗 C S F 1 R 抗体分子) または P D - L 1 結合部分 (例えば、抗 P D - L 1 抗体分子) に連結されている。いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、第 1 の T G F - ベータ阻害剤及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤を含み、第 1 の T G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して C S F 1 R 結合部分 (例えば、抗 C S F 1 R 抗体分子) に連結され、第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して P D - L 1 結合部分 (例えば、抗 P D - L 1 抗体分子) に連結されている。

10

【 0 0 6 5 】

いくつかの実施形態では、C S F 1 R 結合部分 (例えば、抗 C S F 1 R 抗体分子) は、第 1 の重鎖ポリペプチド (例えば、第 1 の重鎖可変領域及び第 1 の重鎖定常領域 (例えば、第 1 の F c 領域) を含む第 1 の重鎖ポリペプチド) と第 1 の軽鎖ポリペプチド (例えば、第 1 の軽鎖可変領域及び第 1 の軽鎖定常領域を含む第 1 の軽鎖ポリペプチド) とを含み、P D - L 1 結合部分 (例えば、抗 P D - L 1 抗体分子) は、第 2 の重鎖ポリペプチド (例えば、第 2 の重鎖可変領域及び第 2 の重鎖定常領域 (例えば、第 2 の F c 領域) を含む第 2 の重鎖ポリペプチド) と第 2 の軽鎖ポリペプチド (例えば、第 2 の軽鎖可変領域及び第 2 の軽鎖定常領域を含む第 2 の軽鎖ポリペプチド) とを含み、

20

(a) T G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して第 1 の重鎖ポリペプチド (例えば、第 1 の重鎖ポリペプチドの F c 領域、例えば、第 1 の重鎖ポリペプチドの F c 領域の C 末端)、または第 2 の重鎖ポリペプチド (例えば、第 2 の重鎖ポリペプチドの F c 領域、例えば、第 2 の重鎖ポリペプチドの F c 領域の C 末端) に連結されているか、

(b) 多重特異性分子は、第 1 の T G F - ベータ阻害剤及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤を含み、第 1 の T G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して第 1 の重鎖ポリペプチド (例えば、第 1 の重鎖ポリペプチドの F c 領域、例えば、第 1 の重鎖ポリペプチドの F c 領域の C 末端) に連結され、第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して第 2 の重鎖ポリペプチド (例えば、第 2 の重鎖ポリペプチドの F c 領域、例えば、第 2 の重鎖ポリペプチドの F c 領域の C 末端) に連結されているか、

30

(c) T G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して第 1 の軽鎖ポリペプチド (例えば、第 1 の軽鎖ポリペプチドの定常領域、例えば、第 1 の軽鎖ポリペプチドの定常領域の C 末端)、または第 2 の軽鎖ポリペプチド (例えば、第 2 の軽鎖ポリペプチドの定常領域、例えば、第 2 の軽鎖ポリペプチドの定常領域の C 末端) に連結されているか、または

(d) 多重特異性分子は、第 1 の T G F - ベータ阻害剤及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤を含み、第 1 の T G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して第 1 の軽鎖ポリペプチド (例えば、第 1 の軽鎖ポリペプチドの定常領域、例えば、第 1 の軽鎖ポリペプチドの定常領域の C 末端) に連結され、第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して第 2 の軽鎖ポリペプチド (例えば、第 2 の軽鎖ポリペプチドの定常領域、例えば、第 2 の軽鎖ポリペプチドの定常領域の C 末端) に連結されている。

40

【 0 0 6 6 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、

(i) 第 1 の V L 及び第 1 の C L を含む C S F 1 R 結合部分の第 1 の部分を含む第 1 のポリペプチド、

(i i) (1) 第 1 の V H、第 1 の C H 1、第 1 の C H 2、及び第 1 の C H 3 を含む C S F 1 R 結合部分の第 2 の部分と、任意で (2) 第 1 の T G F - ベータ阻害剤とを含む第 2 のポリペプチド、及び

(i i i) (1) 第 2 の V H、第 2 の C H 1、第 2 の C H 2、及び第 2 の C H 3 を含む

50

P D - L 1 結合部分の第 1 の部分と、任意で (2) 第 2 の T G F - ベータ阻害剤とを含む第 3 のポリペプチド、

(i v) 第 2 の V L 及び第 2 の C L を含む P D - L 1 結合部分の第 2 の部分を含む第 4 のポリペプチド、
を含み、

多重特異性分子は、第 1 の T G F - ベータ阻害剤または第 2 の T G F - ベータ阻害剤のうちの少なくとも 1 つを含み、任意で、第 1 及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成する。いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 1 A ~ 1 J のうちのいずれか 1 つの構成を有する。

【 0 0 6 7 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、

(i) 第 1 の V L 及び第 1 の C L を含む C S F 1 R 結合部分の第 1 の部分を含む第 1 のポリペプチド、

(i i) (1) 第 1 の V H 、第 1 の C H 1 、第 1 の C H 2 、及び第 1 の C H 3 を含む C S F 1 R 結合部分の第 2 の部分と、(2) 第 2 の V H 及び第 2 の V L を含む P D - L 1 結合部分 (例えば、s c F v) とを含む第 2 のポリペプチド、

(i i i) 第 1 の T G F - ベータ阻害剤、第 2 の C H 1 、第 2 の C H 2 、及び第 2 の C H 3 を含む第 3 のポリペプチド、及び

(i v) 第 2 の T G F - ベータ阻害剤及び第 2 の C L を含む第 4 のポリペプチド ;
を含み、任意で、第 1 及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成する。いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 2 A ~ 2 D のうちのいずれか 1 つの構成を有する。

【 0 0 6 8 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は :

(i) 第 1 の V L 及び第 1 の C L を含む P D - L 1 結合部分の第 1 の部分を含む第 1 のポリペプチド、

(i i) (1) 第 1 の V H 、第 1 の C H 1 、第 1 の C H 2 、及び第 1 の C H 3 を含む P D - L 1 結合部分の第 2 の部分と、(2) 第 2 の V H 及び第 2 の V L を含む C S F 1 R 結合部分 (例えば、s c F v) とを含む第 2 のポリペプチド、

(i i i) 第 1 の T G F - ベータ阻害剤、第 2 の C H 1 、第 2 の C H 2 、及び第 2 の C H 3 を含む第 3 のポリペプチド、及び

(i v) 第 2 の T G F - ベータ阻害剤及び第 2 の C L を含む第 4 のポリペプチド
を含み、任意で、第 1 及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成する。いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 3 A ~ 3 D のうちのいずれか 1 つの構成を有する。

【 0 0 6 9 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は :

(i) 第 1 の T G F - ベータ阻害剤及び第 1 の C L を含む第 1 のポリペプチド、

(i i) (1) 第 2 の T G F - ベータ阻害剤、第 1 の C H 1 、第 1 の C H 2 、及び第 1 の C H 3 と、(2) 第 1 の V H 及び第 1 の V L を含む P D - L 1 結合部分 (例えば、第 1 の s c F v) とを含む第 2 のポリペプチド、

(i i i) (1) 第 3 の T G F - ベータ阻害剤、第 2 の C H 1 、第 2 の C H 2 、及び第 2 の C H 3 と、(2) 第 2 の V H 及び第 2 の V L を含む C S F 1 R 結合部分 (例えば、第 2 の s c F v) とを含む第 3 のポリペプチド、

(i v) 第 4 の T G F - ベータ阻害剤及び第 2 の C L を含む第 4 のポリペプチド
を含み、任意で、第 1 及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成し、及び / または第 3 及び第 4 の第 3 の T G F - ベータ阻害剤は、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成する。いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 4 A ~ 4 D のうちのいずれか 1 つの構成を有する。

【 0 0 7 0 】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、

(i) (1) 第 1 の T G F - ベータ阻害剤、第 1 の C H 2、及び第 1 の C H 3 と、(2) 第 1 の V H 及び第 1 の V L を含む P D - L 1 結合部分 (例えば、第 1 の s c F v) とを含む第 1 のポリペプチド、及び

(i i) (1) 第 2 の T G F - ベータ阻害剤、第 2 の C H 2、及び第 2 の C H 3 と、(2) 第 2 の V H 及び第 2 の V L を含む C S F 1 R 結合部分 (例えば、第 2 の s c F v) とを含む第 2 のポリペプチド

を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 5 A ~ 5 B のうちのいずれか 1 つの構成を有する。

【 0 0 7 1 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、第 1 の T G F - ベータ阻害剤及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤を含み、第 1 の T G F - ベータ阻害剤と第 2 の T G F - ベータ阻害剤は二量体を形成する。

【 0 0 7 2 】

いくつかの実施形態では、T G F - ベータ阻害剤、または第 1、第 2、第 3、もしくは第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F - ベータ受容体ポリペプチド (例えば、T G F - ベータ受容体の細胞外ドメイン、もしくは、その機能的バリエーション) を含む。いくつかの実施形態では、T G F - ベータ阻害剤、または第 1、第 2、第 3、もしくは第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、

(i) T G F B R 1 ポリペプチド (例えば、1 つ、2 つ、3 つ、またはそれ以上の T G F B R 1 ポリペプチド)、

(i i) T G F B R 2 ポリペプチド (例えば、1 つ、2 つ、3 つ、またはそれ以上の T G F B R 2 ポリペプチド)、または

(i i i) T G F B R 3 ポリペプチド (例えば、1 つ、2 つ、3 つ、またはそれ以上の T G F B R 3 ポリペプチド)

のうちの 1 つ、2 つ、または全てを含む。

【 0 0 7 3 】

いくつかの実施形態では、T G F - ベータ阻害剤、または第 1、第 2、第 3、もしくは第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 1 ポリペプチドを含み、例えば、T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 1 の細胞外ドメイン、またはそれと実質的に同一な配列 (例えば、それと少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、もしくは 9 5 % 同一である配列) を含む。いくつかの実施形態では、T G F - ベータ阻害剤、または第 1、第 2、第 3、もしくは第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 1 ポリペプチドを含み、例えば、T G F - ベータ阻害剤は、配列番号 9 5、9 6、9 7、1 2 0、1 2 1、もしくは 1 2 2 の細胞外ドメイン、またはそれと実質的に同一な配列 (例えば、それと少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、もしくは 9 5 % 同一である配列) を含む。いくつかの実施形態では、T G F - ベータ阻害剤、または第 1、第 2、第 3、もしくは第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 1 ポリペプチドを含み、例えば、T G F - ベータ阻害剤は、配列番号 1 0 4 もしくは 1 0 5 のアミノ酸配列、またはそれと実質的に同一な配列 (例えば、それと少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、もしくは 9 5 % 同一である配列) を含む。

【 0 0 7 4 】

いくつかの実施形態では、T G F - ベータ阻害剤、または第 1、第 2、第 3、もしくは第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 2 ポリペプチドを含み、例えば、T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 2 の細胞外ドメイン、またはそれと実質的に同一な配列 (例えば、それと少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、もしくは 9 5 % 同一である配列) を含む。いくつかの実施形態では、T G F - ベータ阻害剤、または第 1、第 2、第 3、もしくは第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 2 ポリペプチドを含み、例えば、T G F - ベータ阻害剤は、配列番号 9 8、9 9、1 2 3、もしくは 1 2 4 の細胞外ドメイン、またはそれと実質的に同一な配列 (例えば、それと少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、もしくは 9 5 % 同一である配列) を含む。いくつかの実施形態では、T G F - ベータ阻害剤、ま

10

20

30

40

50

たは第1、第2、第3、もしくは第4のTGF-ベータ阻害剤は、TGFBR2ポリペプチドを含み、例えば、TGF-ベータ阻害剤は、配列番号100、101、102、及び103からなる群から選択されるアミノ酸配列、またはそれと実質的に同一な配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、または95%同一である配列）を含む。

【0075】

いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤、または第1、第2、第3、もしくは第4のTGF-ベータ阻害剤は、TGFBR3ポリペプチドを含み、例えば、TGF-ベータ阻害剤は、TGFBR3の細胞外ドメイン、またはそれと実質的に同一な配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤、または第1、第2、第3、もしくは第4のTGF-ベータ阻害剤は、TGFBR3ポリペプチドを含み、例えば、TGF-ベータ阻害剤は、配列番号106、107、125、もしくは126の細胞外ドメイン、またはそれと実質的に同一な配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤、または第1、第2、第3、もしくは第4のTGF-ベータ阻害剤は、TGFBR3ポリペプチドを含み、例えば、TGF-ベータ阻害剤は、配列番号108のアミノ酸配列、またはそれと実質的に同一な配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。

【0076】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は第1のTGF-ベータ阻害剤（例えば、TGFBR2の細胞外ドメインまたはそのバリエーション）及び第2のTGF-ベータ阻害剤（例えば、TGFBR2の細胞外ドメインまたはそのバリエーション）を含み、

(i) CSF1R結合部分（例えば、抗CSF1R抗体分子）は、第1及び第2の非隣接ポリペプチドを含み、

(ii) PD-L1結合部分（例えば、抗PD-L1抗体分子）は、第3及び第4の非隣接ポリペプチドを含み、

(a) 第1のポリペプチドは、例えば、N-からC-への方向で、任意でリンカーを介して、第1のポリペプチドと第3のポリペプチドとの会合を促進する第1のドメイン（例えば、第1のFc領域）に接続された、第1のVH、第1のCH1を含み、第1のドメインのC末端（例えば、第1のFc領域のC末端）は、任意でリンカーを介して、第1のTGF-ベータ阻害剤（例えば、TGFBR2の細胞外ドメインまたはそのバリエーション）へと接続され、

(b) 第2のポリペプチドは、例えば、N-からC-の方向で、第1のVL及び第1のCLを含み、

(c) 第3のポリペプチドは、例えば、N-からC-への方向で、任意でリンカーを介して、第1のポリペプチドと第3のポリペプチドとの会合を促進する第2のドメイン（例えば、第2のFc領域）に接続された、第2のVH、第2のCH1を含み、第2のドメインのC末端（例えば、第2のFc領域のC末端）は、任意でリンカーを介して、第2のTGF-ベータ阻害剤（例えば、TGFBR2の細胞外ドメインまたはそのバリエーション）へと接続され、

(d) 第4のポリペプチドは、例えば、N-からC-の方向で、第2のVL及び第2のCLを含む。いくつかの実施形態では、第1及び第2のドメイン（例えば、第1及び第2のFc領域）は、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成する。いくつかの実施形態では、第1及び第2のTGF-ベータ阻害剤（例えば、第1及び第2のTGFBR2の細胞外ドメインまたはそのバリエーション）は、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成する。

【0077】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、第1、第2、第3、及び第4の非隣接ポリペプチドを含み、第1、第2、第3、及び第4の非隣接ポリペプチドは、それぞれ配列番号176、138、185、及び147、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと85%~99%同一）な配列、それぞれ配列番号176、138、186、及び148

10

20

30

40

50

列番号 168、141、175、及び 161、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 85%～99% 同一）な配列、のアミノ酸配列を含む。

【0078】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、第 1 及び第 2 の非隣接ポリペプチドを含み、第 1 及び第 2 の非隣接ポリペプチドは、それぞれ配列番号 142 及び 143、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 85%～99% 同一）な配列、それぞれ配列番号 142 及び 144、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 85%～99% 同一）な配列、それぞれ配列番号 157 及び 143、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 85%～99% 同一）な配列、それぞれ配列番号 157 及び 144、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 85%～99% 同一）な配列、それぞれ配列番号 158 及び 143、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 85%～99% 同一）な配列、それぞれ配列番号 158 及び 144、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 85%～99% 同一）な配列、それぞれ配列番号 163 及び 143、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 85%～99% 同一）な配列、それぞれ配列番号 163 及び 144、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 85%～99% 同一）な配列、それぞれ配列番号 164 及び 143、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 85%～99% 同一）な配列、それぞれ配列番号 164 及び 144、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 85%～99% 同一）な配列、それぞれ配列番号 165 及び 143、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 85%～99% 同一）な配列、またはそれぞれ配列番号 165 及び 144、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 85%～99% 同一）な配列、のアミノ酸配列を含む。

10

20

【0079】

(i) CSF1R 結合部分（例えば、抗 CSF1R 抗体分子）、(ii) PD-L1 結合部分（例えば、抗 PD-L1 抗体分子）、及び (iii) 1 つ以上の TGF-β 阻害剤を含む例示的な多重特異性分子が、図 1A～1J、2A～2D、3A～3D、4A～4D、及び 5A～5B に示されている。

【0080】

図 1A～1J は、CSF1R に対する Fab 及び PD-L1 に対する Fab を含む多重特異性分子を示す略図である。抗 CSF1R Fab の CH1 ドメインは、例えば、リンカーを介して、第 1 の Fc 領域に連結され、これは任意で、リンカーを介して、第 1 の TGF-β 阻害剤にさらに連結されている。同様に、抗 PD-L1 Fab の CH1 ドメインは、例えば、リンカーを介して、第 2 の Fc 領域に連結され、これは任意で、リンカーを介して、第 2 の TGF-β 阻害剤にさらに連結されている。

30

【0081】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 1A の構成を有する。図 1A において、第 1 の TGF-β 阻害剤は、(TGFBR1 ECD)_a、(TGFBR2 ECD)_b、及び (TGFBR3 ECD)_c またはそれらのバリエーションを含み、ここで、a = 0、b = 0、及び c = 0 である。様々な細胞外ドメインは、例えば、1 つ以上のリンカーを介して、任意の順序で連結できる。第 2 の TGF-β 阻害剤は、(TGFBR1 ECD)_d、(TGFBR2 ECD)_e、及び (TGFBR3 ECD)_f またはそれらのバリエーションを含み、ここで、d = 0、e = 0、及び f = 0 である。様々な細胞外ドメインは、例えば、1 つ以上のリンカーを介して、任意の順序で連結できる。a、b、c、d、e、または f のうちの少なくとも 1 つはゼロではない。細胞外ドメインの例示的な配置には、N- から C- の方向で、TGFBR1 ECD 及び TGFBR2 ECD ; TGFBR1 ECD、TGFBR2 ECD、及び TGFBR2 ECD ; TGFBR1 ECD、TGFBR2 ECD、TGFBR1 ECD、及び TGFBR2 ECD ; TGFBR1 ECD、TGFBR2 ECD、TGFBR2 ECD、及び TGFBR1 ECD ; TGFBR1 ECD、TGFBR1 ECD、TGFBR2 ECD、及び TGFBR2 ECD ; ならびに TGFBR1 ECD、TGFBR2 ECD、TGFBR3 ECD が含まれるがこれらに限定されない：。

40

50

【 0 0 8 2 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 1 B の構成を有する。図 1 B において、第 1 の T G F - ベータ阻害剤は T G F B R 2 E C D またはそのバリエーションを含み、第 2 の T G F - ベータ阻害剤は T G F B R 2 E C D またはそのバリエーションを含む。第 1 の T G F - ベータ阻害剤と第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、同一であっても異なってもよい。いくつかの実施形態では、第 1 及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、二量体（例えば、ホモ二量体またはヘテロ二量体）を形成する。

【 0 0 8 3 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 1 C の構成を有する。図 1 C において、第 1 の T G F - ベータ阻害剤は T G F B R 2 E C D またはそのバリエーションを含み、第 2 の T G F - ベータ阻害剤は T G F B R 1 E C D またはそのバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、第 1 及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、二量体（例えば、ヘテロ二量体）を形成する。

10

【 0 0 8 4 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 1 D の構成を有する。図 1 D において、第 1 の T G F - ベータ阻害剤は T G F B R 1 E C D またはそのバリエーションを含み、第 2 の T G F - ベータ阻害剤は T G F B R 2 E C D またはそのバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、第 1 及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、二量体を形成する（例えば、ヘテロ二量体）。

【 0 0 8 5 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 1 E の構成を有する。図 1 E において、第 1 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 2 E C D またはそのバリエーションを含む。第 2 の T G F - ベータ阻害剤は存在していても不存在でもよい。

20

【 0 0 8 6 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 1 F の構成を有する。図 1 F において、第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 2 E C D またはそのバリエーションを含む。第 1 の T G F - ベータ阻害剤は存在していても不存在でもよい。

【 0 0 8 7 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 1 G の構成を有する。図 1 G において、第 1 の T G F - ベータ阻害剤は、(T G F B R 2 E C D)₂ またはそのバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、2 つの T G F B R 2 E C D は、例えばリンカーを介して連結されている。2 つの T G F B R 2 E C D は、同一であっても異なってもよい。第 2 の T G F - ベータ阻害剤は存在していても不存在でもよい。

30

【 0 0 8 8 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 1 H の構成を有する。図 1 H において、第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、(T G F B R 2 E C D)₂ またはそのバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、2 つの T G F B R 2 E C D は、例えばリンカーを介して連結されている。2 つの T G F B R 2 E C D は、同一であっても異なってもよい。第 1 の T G F - ベータ阻害剤は存在していても不存在でもよい。

【 0 0 8 9 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 1 I の構成を有する。図 1 I において、第 1 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 1 E C D 及び T G F B R 2 E C D またはそのバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、T G F B R 1 E C D 及び T G F B R 2 E C D は、例えばリンカーを介して、いずれかの順序で（例えば、N - から C - への方角で、T G F B R 1 E C D に続いて T G F B R 2 E C D、または T G F B R 2 E C D に続いて T G F B R 1 E C D）で、連結されている。第 2 の T G F - ベータ阻害剤は存在していても不存在でもよい。

40

【 0 0 9 0 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 1 J の構成を有する。図 1 J において、第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 1 E C D 及び T G F B R 2 E C D または

50

そのバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、T G F B R 1 E C D及びT G F B R 2 E C Dは、例えばリンカーを介して、いずれかの順序で（例えば、N - からC - へ方向で、T G F B R 1 E C Dに続いてT G F B R 2 E C D、またはT G F B R 2 E C Dに続いてT G F B R 1 E C D）で、連結されている。第1のT G F - ベータ阻害剤は存在していても不存在でもよい。

【0091】

図2A～2Dは、C S F 1 Rに対するF a b、P D - L 1に対するs c F v、第1のT G F - ベータ阻害剤、及び第2のT G F - ベータ阻害剤を含む多重特異性分子を示す概略図である。抗C S F 1 R F a bのC H 1ドメインは、例えば、リンカーを介して、第1のF c領域に連結され、これは任意で、リンカーを介して、抗P D - L 1 s c F vにさらに連結されている。第1のT G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して、C H 1ドメインに連結され、これは、例えば、リンカーを介して、第2のF c領域にさらに連結されている。第2のT G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して、C Lドメインに連結されている。

10

【0092】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図2Aの構成を有する。図2Aにおいて、第1のT G F - ベータ阻害剤はT G F B R 1 E C Dまたはそのバリエーションを含み、第2のT G F - ベータ阻害剤はT G F B R 1 E C Dまたはそのバリエーションを含む。第1と第2のT G F - ベータ阻害剤は、同一であっても異なってもよい。いくつかの実施形態では、第1及び第2のT G F - ベータ阻害剤は、二量体（例えば、ホモ二量体またはヘテロ二量体）を形成する。

20

【0093】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図2Bの構成を有する。図2Bにおいて、第1のT G F - ベータ阻害剤はT G F B R 1 E C Dまたはそのバリエーションを含み、第2のT G F - ベータ阻害剤はT G F B R 2 E C Dまたはそのバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、第1及び第2のT G F - ベータ阻害剤は、二量体（例えば、ヘテロ二量体）を形成する。

【0094】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図2Cの構成を有する。図2Cにおいて、第1のT G F - ベータ阻害剤はT G F B R 2 E C Dまたはそのバリエーションを含み、第2のT G F - ベータ阻害剤はT G F B R 1 E C Dまたはそのバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、第1及び第2のT G F - ベータ阻害剤は、二量体（例えば、ヘテロ二量体）を形成する。

30

【0095】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図2Dの構成を有する。図2Dにおいて、第1のT G F - ベータ阻害剤はT G F B R 2 E C Dまたはそのバリエーションを含み、第2のT G F - ベータ阻害剤はT G F B R 2 E C Dまたはそのバリエーションを含む。第1と第2のT G F - ベータ阻害剤は、同一であっても異なってもよい。いくつかの実施形態では、第1及び第2のT G F - ベータ阻害剤は、二量体（例えば、ホモ二量体またはヘテロ二量体）を形成する。

40

【0096】

図3A～3Dは、P D - L 1に対するF a b、C S F 1 Rに対するs c F v、第1のT G F - ベータ阻害剤、及び第2のT G F - ベータ阻害剤を含む多重特異性分子を示す概略図である。抗P D - L 1 F a bのC H 1ドメインは、例えば、リンカーを介して、第1のF c領域に連結され、これは任意で、リンカーを介して、抗C S F 1 R s c F vにさらに連結されている。第1のT G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して、C H 1ドメインに連結され、これは、例えば、リンカーを介して、第2のF c領域にさらに連結されている。第2のT G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して、C Lドメインに連結されている。

【0097】

50

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 3 A の構成を有する。図 3 A において、第 1 の T G F - ベータ阻害剤は T G F B R 1 E C D またはそのバリエーションを含み、第 2 の T G F - ベータ阻害剤は T G F B R 1 E C D またはそのバリエーションを含む。第 1 と第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、同一であっても異なってもよい。いくつかの実施形態では、第 1 及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、二量体（例えば、ホモ二量体またはヘテロ二量体）を形成する。

【 0 0 9 8 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 3 B の構成を有する。図 3 B において、第 1 の T G F - ベータ阻害剤は T G F B R 1 E C D またはそのバリエーションを含み、第 2 の T G F - ベータ阻害剤は T G F B R 2 E C D またはそのバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、第 1 及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、二量体（例えば、ヘテロ二量体）を形成する。

10

【 0 0 9 9 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 3 C の構成を有する。図 3 C において、第 1 の T G F - ベータ阻害剤は T G F B R 2 E C D またはそのバリエーションを含み、第 2 の T G F - ベータ阻害剤は T G F B R 1 E C D またはそのバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、第 1 及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、二量体（例えば、ヘテロ二量体）を形成する。

【 0 1 0 0 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 3 D の構成を有する。図 3 D において、第 1 の T G F - ベータ阻害剤は T G F B R 2 E C D またはそのバリエーションを含み、第 2 の T G F - ベータ阻害剤は T G F B R 2 E C D またはそのバリエーションを含む。第 1 と第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、同一であっても異なってもよい。いくつかの実施形態では、第 1 及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、二量体（例えば、ホモ二量体またはヘテロ二量体）を形成する。

20

【 0 1 0 1 】

図 4 A ~ 4 D は、P D - L 1 に対する s c F v、C S F 1 R に対する s c F v、第 1 の T G F - ベータ阻害剤、第 2 の T G F - ベータ阻害剤、第 3 の T G F - ベータ阻害剤、及び第 4 の T G F - ベータ阻害剤を含む多重特異性分子を示す概略図である。第 1 の T G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して、第 1 の C L に連結されている。第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して、第 1 の C H 1 に連結され、これは、例えば、リンカーを介して、第 1 の F c 領域にさらに連結され、これは、例えば、リンカーを介して、抗 P D - L 1 s c F v にさらに連結されている。第 3 の T G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して、第 2 の C H 1 に連結され、これは、例えば、リンカーを介して、第 2 の F c 領域にさらに連結され、これは、例えば、リンカーを介して、抗 C S F 1 R s c F v にさらに連結されている。第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、例えば、リンカーを介して、第 2 の C L に連結されている。

30

【 0 1 0 2 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 4 A の構成を有する。図 4 A において、第 1、第 2、第 3、及び第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 1 E C D またはそのバリエーションを含む。第 1、第 2、第 3、及び第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、同一であっても異なってもよい。いくつかの実施形態では、第 1 及び第 2 の T G F - ベータ阻害剤は、二量体（例えば、ホモ二量体またはヘテロ二量体）を形成する。いくつかの実施形態では、第 3 及び第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、二量体（例えば、ホモ二量体またはヘテロ二量体）を形成する。

40

【 0 1 0 3 】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図 4 B の構成を有する。図 4 B において、第 1、第 2、第 3、及び第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、T G F B R 2 E C D またはそのバリエーションを含む。第 1、第 2、第 3、及び第 4 の T G F - ベータ阻害剤は、同一であっても異なってもよい。いくつかの実施形態では、第 1 及び第 2 の T G F - ベータ

50

阻害剤は、二量体（例えば、ホモ二量体またはヘテロ二量体）を形成する。いくつかの実施形態では、第3及び第4のTGF-β阻害剤は、二量体（例えば、ホモ二量体またはヘテロ二量体）を形成する。

【0104】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図4Cの構成を有する。図4Cにおいて、第1及び第2のTGF-β阻害剤はTGFBR1 ECDまたはそのバリエーションを含み、第3及び第4のTGF-β阻害剤はTGFBR2 ECDまたはそのバリエーションを含む。第1と第2のTGF-β阻害剤は、同一であっても異なってもよい。第3と第4のTGF-β阻害剤は、同一であっても異なってもよい。いくつかの実施形態では、第1及び第2のTGF-β阻害剤は、二量体（例えば、ホモ二量体またはヘテロ二量体）を形成する。いくつかの実施形態では、第3及び第4のTGF-β阻害剤は、二量体（例えば、ホモ二量体またはヘテロ二量体）を形成する。

10

【0105】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図4Dの構成を有する。図4Dにおいて、第2及び第3のTGF-β阻害剤はTGFBR1 ECDまたはそのバリエーションを含み、第1及び第4のTGF-β阻害剤はTGFBR2 ECDまたはそのバリエーションを含む。第2と第3のTGF-β阻害剤は、同一であっても異なってもよい。第1と第4のTGF-β阻害剤は、同一であっても異なってもよい。いくつかの実施形態では、第1及び第2のTGF-β阻害剤は、二量体（例えば、ヘテロ二量体）を形成する。いくつかの実施形態では、第3及び第4のTGF-β阻害剤は、二量体を形成する（例えば、ヘテロ二量体）。

20

【0106】

図5A～5Bは、PD-L1に対するscFv、CSF1Rに対するscFv、第1のTGF-β阻害剤、及び第2のTGF-β阻害剤を含む多重特異性分子を示す概略図である。第1のTGF-β阻害剤は、例えば、リンカーを介して、第1のFc領域に連結され、これは、例えば、リンカーを介して、抗PD-L1 scFvにさらに連結されている。第2のTGF-β阻害剤は、例えば、リンカーを介して、第2のFc領域に連結され、これは、例えば、リンカーを介して、抗CSF1R scFvにさらに連結されている。

【0107】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図5Aの構成を有する。図5Aにおいて、第1のTGF-β阻害剤はTGFBR1 ECDまたはそのバリエーションを含み、第2のTGF-β阻害剤はTGFBR2 ECDまたはそのバリエーションを含む。

30

【0108】

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図5Bの構成を有する。図5Bにおいて、第1のTGF-β阻害剤はTGFBR2 ECDまたはそのバリエーションを含み、第2のTGF-β阻害剤はTGFBR2 ECDまたはそのバリエーションを含む。第1と第2のTGF-β阻害剤は、同一であっても異なってもよい。

【0109】

一態様では、本明細書で提供されるのは、(i) TGF-β阻害剤、及び(ii) 抗CSF1R結合部分（例えば、抗CSF1R抗体分子）または抗CCR2結合部分（例えば、抗CCR2抗体分子）を含む単離された多重特異性、例えば、二重特異性または三重特異性の分子である。一実施形態では、多重特異性分子は、腫瘍標的化部分（例えば、腫瘍標的化抗体分子）をさらに含む。

40

【0110】

一実施形態では、例えば、図7に関して実施例3に記載される方法を用いて測定して、TGF-β阻害剤は(i) TGF-β1、(ii) TGF-β2、または(iii) TGF-β3のうちの1つ、2つ、または全ての活性を低減し、任意で、TGF-β阻害剤は、(a) TGF-β1及びTGF-β3、または(b) TGF-β1、TGF-β2、及びTGF-β3の活性を低減する。一実施形

50

態では、TGF-β阻害剤は、TGF-β受容体ポリペプチド（例えば、TGF-β受容体の細胞外ドメイン、または、その機能的バリエーション）を含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、(i) TGFBR1ポリペプチド（例えば、1つ、2つ、3つ、もしくはそれ以上のTGFBR1ポリペプチド）、(ii) TGFBR2ポリペプチド（例えば、1つ、2つ、3つ、もしくはそれ以上のTGFBR2ポリペプチド）、または(iii) TGFBR3ポリペプチド（例えば、1つ、2つ、3つ、もしくはそれ以上のTGFBR3ポリペプチド）のうちの1つ、2つ、または全てを含む。

【0111】

一実施形態では、TGF-β阻害剤はTGFBR1ポリペプチドを含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、TGFBR1の細胞外ドメイン、または、それと実質的に同一である配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、配列番号95、96、97、120、121、もしくは122の細胞外ドメイン、または、それと実質的に同一である配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、配列番号104もしくは105のアミノ酸配列、または、それと実質的に同一である配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。

10

【0112】

一実施形態では、TGF-β阻害剤はTGFBR2ポリペプチドを含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、TGFBR2の細胞外ドメイン、または、それと実質的に同一である配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、配列番号98、99、123、もしくは124の細胞外ドメイン、または、それと実質的に同一である配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、配列番号100、101、102、及び103からなる群から選択されるアミノ酸配列、または、それと実質的に同一である配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。

20

【0113】

一実施形態では、TGF-β阻害剤はTGFBR3ポリペプチドを含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、TGFBR3の細胞外ドメイン、または、それと実質的に同一である配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、配列番号106、107、125、もしくは126の細胞外ドメイン、または、それと実質的に同一である配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、配列番号108のアミノ酸配列、または、それと実質的に同一である配列（例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。

30

【0114】

一実施形態では、TGF-β阻害剤は、ホモ二量体を形成する2つのTGF-β受容体ポリペプチドを含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、ホモ二量体を形成する2つのTGFBR1ポリペプチドを含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、ホモ二量体を形成する2つのTGFBR2ポリペプチドを含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、ホモ二量体を形成する2つのTGFBR3ポリペプチドを含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、ヘテロ二量体を形成する2つのTGF-β受容体ポリペプチドを含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、ヘテロ二量体を形成するTGFBR1ポリペプチドとTGFBR2ポリペプチドを含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、ヘテロ二量体を形成するTGFBR1ポリペプチドとTGFBR3ポリペプチドを含む。一実施形態では、TGF-β阻害剤は、ヘテロ二量体を形成するTGFBR2ポリペプチドとTGFBR3ポリペプチドを含む。

40

50

【 0 1 1 5 】

一実施形態では、TGF-ベータ阻害剤は、第1のTGF-ベータ受容体ポリペプチド及び第2のTGF-ベータ受容体ポリペプチドを含む。一実施形態では、多重特異性分子は、第1のFc領域（例えば、第1のCH1-Fc領域）及び第2のFc領域（例えば、第2のCH1-Fc領域）を含む。一実施形態では、第1のTGF-ベータ受容体ポリペプチドは、例えば、リンカーを介して、第1のFc領域（例えば、第1のCH1-Fc領域）例えば、第1のFc領域（例えば、第1のCH1-Fc領域）のC末端に連結されている。一実施形態では、第2のTGF-ベータ受容体ポリペプチドは、例えば、リンカーを介して、第2のFc領域（例えば、第2のCH1-Fc領域）例えば、第2のFc領域（例えば、第2のCH1-Fc領域）のC末端に連結されている。一実施形態では、第1のTGF-ベータ受容体ポリペプチド及び第2のTGF-ベータ受容体ポリペプチドは、ホモ二量体またはヘテロ二量体、例えば、ホモ二量体を形成する。一実施形態では、第1または第2のTGF-ベータ受容体ポリペプチドは、TGFBR1、TGFBR2、またはTGFBR3の細胞外ドメイン、例えば、TGFBR2の細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図6Aまたは6Bの構成を有する。一実施形態では、多重特異性分子は、配列番号192のアミノ酸配列（または、それと実質的に同一である配列、例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）及び配列番号193のアミノ酸配列（または、それと実質的に同一である配列、例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。一実施形態では、多重特異性分子は、配列番号192のアミノ酸配列（または、それと実質的に同一である配列、例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）及び配列番号195のアミノ酸配列（または、それと実質的に同一である配列、例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。一実施形態では、多重特異性分子は、配列番号194のアミノ酸配列（または、それと実質的に同一である配列、例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）及び配列番号193のアミノ酸配列（または、それと実質的に同一である配列、例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。一実施形態では、多重特異性分子は、配列番号194のアミノ酸配列（または、それと実質的に同一である配列、例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）及び配列番号195のアミノ酸配列（または、それと実質的に同一である配列、例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。

10

20

30

【 0 1 1 6 】

一実施形態では、多重特異性分子は、重鎖定常領域1（CH1）及び軽鎖定常領域（CL）を含む。一実施形態では、(i)第1のTGF-ベータ受容体ポリペプチドは、例えば、リンカーを介して、CH1、例えば、CH1のN末端に連結され、(ii)第2のTGF-ベータ受容体ポリペプチドは、例えば、リンカーを介して、CL、例えば、CLのN末端に連結される。一実施形態では、第1のTGF-ベータ受容体ポリペプチド及び第2のTGF-ベータ受容体ポリペプチドは、ホモ二量体またはヘテロ二量体、例えば、ホモ二量体を形成する。一実施形態では、第1または第2のTGF-ベータ受容体ポリペプチドは、TGFBR1、TGFBR2、またはTGFBR3の細胞外ドメイン、例えば、TGFBR2の細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、図6Cまたは6Dの構成を有する。一実施形態では、多重特異性分子は、配列番号196のアミノ酸配列（または、それと実質的に同一である配列、例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）及び配列番号198のアミノ酸配列（または、それと実質的に同一である配列、例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。一実施形態では、多重特異性分子は、配列番号196のアミノ酸配列（または、それと実質的に同一である配列、例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）及び配列番号199のアミノ酸配列（または、それと実質的に同一である配列、例えば、それと少なく

40

50

とも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)を含む。一実施形態では、多重特異性分子は、配列番号197のアミノ酸配列(または、それと実質的に同一である配列、例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)及び配列番号198のアミノ酸配列(または、それと実質的に同一である配列、例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)を含む。一実施形態では、多重特異性分子は、配列番号197のアミノ酸配列(または、それと実質的に同一である配列、例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)及び配列番号199のアミノ酸配列(または、それと実質的に同一である配列、例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)を含む。

10

【0117】

一実施形態では、多重特異性分子は、抗CSF1R結合部分(例えば、抗CSF1R抗体分子)を含む。一実施形態では、多重特異性分子は、抗CCR2結合部分(例えば、抗CCR2抗体分子)を含む。

【0118】

一実施形態では、腫瘍標的化部分(例えば、腫瘍標的化抗体分子)は、PD-L1、メソセリン、CD47、ガングロシド2(GD2)、前立腺幹細胞抗原(PSCA)、前立腺特異的膜抗原(PMSA)、前立腺特異的抗原(PSA)、癌胎児抗原(CEA)、Ronキナーゼ、c-Met、未熟ラミニン受容体、TAG-72、BING-4、カルシウム依存性塩素チャネル2、サイクリン-B1、9D7、Ep-CAM、EphA3、Her2/neu、テロメラゼ、SAP-1、サバイビン、NY-ESO-1/LAGE-1、PRAME、SSX-2、Melan-A/MART-1、Gp100/pmell17、チロシナーゼ、TRP-1/-2、MC1R、 β -カテニン、BRCA1/2、CDK4、CML66、フィブロネクチン、p53、Ras、TGF- β 受容体、AFP、ETA、MAGE、MUC-1、CA-125、BAGE、GAGE、NY-ESO-1、 β -カテニン、CDK4、CDC27、CD47、 α アクチニン-4、TRP1/gp75、TRP2、gp100、Melan-A/MART1、ガングリオシド、WT1、EphA3、上皮増殖因子受容体(EGFR)、CD20、MART-2、MART-1、MUC1、MUC2、MUM1、MUM2、MUM3、NA88-1、NPM、OA1、OGT、RCC、RUI1、RUI2、SAGE、TRG、TRP1、TSTA、葉酸受容体アルファ、L1-CAM、CAIX、EGFRvIII、gpA33、GD3、GM2、VEGFR、インテグリン(インテグリンアルファVベータ3、インテグリンアルファ5ベータ1)、炭水化物(Le)、IGF1R、EPHA3、TRAILR1、TRAILR2、またはRANKLに結合する。

20

30

【0119】

一実施形態では、腫瘍標的化部分(例えば、腫瘍標的化抗体分子)は、CD19、CD33、CD47、CD123、CD20、CD99、CD30、BCMA、CD38、CD22、SLAMF7、またはNY-ESO1に結合する。

【0120】

一実施形態では、抗CSF1R抗体分子、抗CCR2抗体分子、または腫瘍標的化抗体分子は、独立して、完全抗体(例えば、少なくとも1つ、好ましくは2つの完全重鎖、及び少なくとも1つ、好ましくは2つの完全軽鎖を含む抗体)、または抗原結合フラグメント(例えば、Fab、F(ab')₂、Fv、scFv、単一ドメイン抗体、もしくはダイアボディ(dAb))である。一実施形態では、抗CSF1R抗体分子、抗CCR2抗体分子、または腫瘍標的化抗体分子は、IgG1、IgG2、IgG3、もしくはIgG4、またはそれらのフラグメントから選択される重鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗CSF1R抗体分子、抗CCR2抗体分子、または腫瘍標的化抗体分子は、カップもしくはラムダの軽鎖定常領域、またはそれらのフラグメントから選択される軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗CSF1R抗体分子または抗CCR2抗体分子は、カップ軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含み、腫瘍標的化抗体分子は、ラムダ軽鎖定常領域また

40

50

はそのフラグメントを含む。一実施形態では、抗 C S F 1 R 抗体分子または抗 C C R 2 抗体分子は、ラムダ軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含み、腫瘍標的化抗体分子は、カッパ軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含む。一実施形態では、抗 C S F 1 R 抗体分子または抗 C C R 2 抗体分子と腫瘍標的化抗体分子は、共通の軽鎖可変領域を有する。

【 0 1 2 1 】

一実施形態では、多重特異性分子は、I g G 1、I g G 2、及び I g G 4 の重鎖定常領域、より具体的には、ヒト I g G 1、I g G 2、または I g G 4 の重鎖定常領域から選択される重鎖定常領域（例えば、F c 領域）を含む。一実施形態では、重鎖定常領域（例えば、F c 領域）は、例えば、抗 C S F 1 R 抗体分子、抗 C C R 2 抗体分子、腫瘍標的化抗体分子に共有結合している。一実施形態では、重鎖定常領域（例えば、F c 領域）は、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、F c 受容体結合、抗体のグリコシル化、システイン残基の数、エフェクター細胞機能、または補体機能のうちの 1 つ以上を増加または減少させる 1 つ以上の変異を含む。一実施形態では、抗 C S F 1 R 抗体分子または抗 C C R 2 抗体分子は、第 1 の重鎖定常領域（例えば、第 1 の F c 領域）を含み、腫瘍標的化抗体分子は第 2 の重鎖定常領域（例えば、第 2 の F c 領域）を含み、第 1 の重鎖定常領域は、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、第 1 の重鎖定常領域と第 2 の重鎖定常領域のヘテロ二量体化を増加させる 1 つ以上の変異を含み、及び / または第 2 の重鎖定常領域は、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、第 2 の重鎖定常領域と第 1 の重鎖定常領域のヘテロ二量体化を増加させる 1 つ以上の変異を含む。一実施形態では、第 1 及び第 2 の重鎖定常領域（例えば、第 1 及び第 2 の F c 領域）は、対形成した空洞 - 突起（「ノブインホール」、静電相互作用、または鎖交換のうちの 1 つ以上を含み、それにより、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、ヘテロ多量体：ホモ多量体を、より大きな比率で形成する。一実施形態では、第 1 及び / または第 2 の重鎖定常領域（例えば、第 1 及び / または第 2 の F c 領域、例えば、第 1 及び / または第 2 の I g G 1 F c 領域）は、E u 付番システムに基づいて付番される、3 4 7、3 4 9、3 5 0、3 5 1、3 6 6、3 6 8、3 7 0、3 9 2、3 9 4、3 9 5、3 9 7、3 9 8、3 9 9、4 0 5、4 0 7、または 4 0 9 のうちの 1 つ以上から選択される位置でアミノ酸置換を含む。一実施形態では、第 1 及び / または第 2 の重鎖定常領域（例えば、第 1 及び / または第 2 の F c 領域、例えば、第 1 及び / または第 2 の I g G 1 F c 領域）は、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V、もしくは Y 3 4 9 C（例えば、空洞もしくはホールに対応する）、または T 3 6 6 W もしくは S 3 5 4 C（例えば、突起もしくはノブに対応する）、あるいはそれらの組み合わせ（付番は E u 付番システムに基づく）から選択されるアミノ酸置換を含む。一実施形態では、多重特異性分子は、リンカーを含み、任意で、リンカーは、切断可能なリンカー、切断不可能なリンカー、ペプチドリンカー、フレキシブルリンカー、リジッドリンカー、ヘリカルリンカー、または非ヘリカルリンカーから選択され、任意で、リンカーは、ペプチドリンカーであり、任意で、ペプチドリンカーは、G l y 及び S e r を含む。

【 0 1 2 2 】

別の態様では、本明細書で提供されるのは、先行請求項のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子（例えば、抗体）をコードする単離された核酸である。

【 0 1 2 3 】

別の態様では、本明細書で提供されるのは、単離された核酸であり、これは、本明細書に記載の多重特異性分子のうちのいずれかをコードするヌクレオチド配列、またはそれと実質的に相同（例えば、それと少なくとも 9 5 % ~ 9 9 . 9 % 同一）であるヌクレオチド配列を含む。

【 0 1 2 4 】

別の態様では、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載の核酸分子のうちの 1 つ以上を含む、ベクター、例えば、発現ベクターである。

【 0 1 2 5 】

別の態様では、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載の核酸分子または本明細書に記載のベクターを含む、宿主細胞である。

10

20

30

40

50

【 0 1 2 6 】

別の態様では、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載の多重特異性分子を作製、例えば生成する方法であって、適切な条件下、例えば、遺伝子発現及び/またはヘテロ二量体化に適した条件下で本明細書に記載の宿主細胞を培養することを含む、方法である。

【 0 1 2 7 】

別の態様では、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載の多重特異性分子と、薬学体に許容される担体、賦形剤、または安定剤と、を含む医薬組成物である。

【 0 1 2 8 】

別の態様では、本明細書で提供されるのは、対象においてがんを治療する方法であって、本明細書に記載の多重特異性分子を、それを必要とする対象に投与することを含み、多重特異性分子は、がんを治療するのに有効な量で投与される、方法である。

10

【 0 1 2 9 】

別の態様では、本明細書で提供されるのは、対象においてがんを治療する方法であって、本明細書に記載の多重特異性分子を、それを必要とする対象に投与することを含み、多重特異性分子は、TAMの数（例えば、対象の腫瘍内もしくは腫瘍近辺のTAMの数）を低減する、TAMの増殖（例えば、対象の腫瘍内もしくは腫瘍近辺のTAMの数）を阻害する、または対象の腫瘍へのマクロファージの浸潤を低減もしくは阻害するのに有効な量で投与される、方法である。

【 0 1 3 0 】

別の態様では、本明細書で提供されるのは、TAMの集団の一部を低減することによって対象においてがんを治療する方法であって、本明細書に記載の多重特異性分子を、それを必要とする対象に投与することを含み、多重特異性分子は、TAMの集団の一部を阻害または枯渇させるのに有効な量で投与される、方法である。

20

【 0 1 3 1 】

別の態様では、本明細書で提供されるのは、対象において（例えば、がん、例えば、固形腫瘍を有する対象において）TAMの集団の一部の増殖を低減する方法であって、本明細書に記載の多重特異性分子を、それを必要とする対象に投与することを含み、多重特異性分子は、TAMの集団の一部の増殖を低減するのに有効な量で投与される、方法である。

【 0 1 3 2 】

別の態様では、本明細書で提供されるのは、がん（例えば、腫瘍）を有する対象においてTAMの集団の一部を阻害または枯渇させる方法であって、本明細書に記載の多重特異性分子を、それを必要とする対象に投与することを含み、多重特異性分子は、腫瘍浸潤マクロファージの数を低減する、腫瘍浸潤マクロファージの増殖を阻害する、または腫瘍へのマクロファージ浸潤を低減するのに有効な量で投与される、方法である。

30

【 0 1 3 3 】

いくつかの実施形態では、がんは固形腫瘍がんまたは転移性病変である。いくつかの実施形態では、固形腫瘍がんは、膵臓癌（例えば、膵臓腺癌）、乳癌、結腸直腸癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌もしくは非小細胞肺癌）、皮膚癌（例えば、黒色腫）、卵巣癌、肝臓癌、または脳癌（例えば、神経膠腫）のうちの一つ以上である。いくつかの実施形態では、がんは、TAMを含むものとして特徴づけらる、TAMの存在と関連し、TAMが、がん（例えば、腫瘍）中にある、及び/またはがんの一部を形成する、またはTAMは固形腫瘍内または固形腫瘍近辺で検出されている。いくつかの実施形態では、がんは血液癌または転移性病変である。いくつかの実施形態では、血液癌は、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、慢性リンパ性白血病、マンテル細胞リンパ腫、辺縁帯B細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、有毛細胞白血病、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群（MDS）、多発性骨髄腫、または急性リンパ性白血病のうちの一つ以上である。

40

【 0 1 3 4 】

いくつかの実施形態では、方法は、対象におけるがん（例えば、腫瘍）内またはその近

50

辺のTAMの存在を識別することをさらに含む。いくつかの実施形態では、TAMは、CXCR2とCCR2、CCR2とCSF1R、CSF1RとCXCR2、またはCCR2とCXCR2とCSF1Rを発現する。

【0135】

いくつかの実施形態では、方法は、第2の治療的処置を施すことをさらに含む。いくつかの実施形態では、第2の治療的処置は、治療剤（例えば、化学療法剤、生物学的薬剤、ホルモン療法）、放射線、または外科手術を含む。いくつかの実施形態では、治療薬は化学療法剤または生物学的製剤から選択される。いくつかの実施形態では、治療薬はチェックポイント阻害剤である。いくつかの実施形態では、チェックポイント阻害剤は、抗CTLA4抗体、抗PD1抗体（例えば、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、またはビジリズマブ）、抗PD-L1抗体、抗PD-L2抗体、抗TIM3抗体、抗LAG3抗体、抗CD160抗体、抗2B4抗体、抗CD80抗体、抗CD86抗体、抗B7-H3（CD276）抗体、抗B7-H4（VTCN1）抗体、抗HVEM（TNFRSF14またはCD270）抗体、抗BTLA抗体、抗KIR抗体、抗MHCクラスI抗体、抗MHCクラスII抗体、抗GAL9抗体、抗VISTA抗体、抗BTLA抗体、抗TIGIT抗体、抗LAIR1抗体、及び抗A2aR抗体からなる群から選択される。

10

【0136】

別の態様では、本明細書で提供されるのは、対象においてがんを治療する方法であって、本明細書に記載の多重特異性分子を、それを必要とする対象に投与することを含み、多重特異性分子は、MDS Cの数（例えば、対象の腫瘍内もしくは腫瘍近辺のMDS Cの数）を低減する、MDS Cの増殖（例えば、対象の腫瘍内もしくは腫瘍近辺のMDS Cの数）を阻害する、または対象の腫瘍へのMDS Cの浸潤を低減もしくは阻害するのに有効な量で投与される、方法である。

20

【0137】

別の態様では、本明細書で提供されるのは、TAMの集団の一部を低減することによって対象においてがんを治療する方法であって、本明細書に記載の多重特異性分子を、それを必要とする対象に投与することを含み、多重特異性分子は、TAMの集団の一部を阻害または枯渇させるのに有効な量で投与される、方法である。

【0138】

別の態様では、本明細書で提供されるのは、対象において（例えば、がん、例えば、固形腫瘍を有する対象において）MDS Cの集団の一部の増殖を低減する方法であって、本明細書に記載の多重特異性分子を、それを必要とする対象に投与することを含み、多重特異性分子は、MDS Cの集団の一部の増殖を低減するのに有効な量で投与される、方法である。

30

【0139】

別の態様では、本明細書で提供されるのは、がん（例えば、腫瘍）を有する対象においてMDS Cの集団の一部を阻害または枯渇させる方法であって、本明細書に記載の多重特異性分子を、それを必要とする対象に投与することを含み、多重特異性分子は、MDS Cの数を低減する、MDS Cの増殖を阻害する、または腫瘍へのMDS C浸潤を低減するのに有効な量で投与される、方法である。

40

【0140】

いくつかの実施形態では、がんは固形腫瘍がんまたは転移性病変である。いくつかの実施形態では、固形腫瘍がんは、膵臓癌（例えば、膵臓腺癌）、乳癌、結腸直腸癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌もしくは非小細胞肺癌）、皮膚癌（例えば、黒色腫）、卵巣癌、肝臓癌、または脳癌（例えば、神経膠腫）のうちの1つ以上である。いくつかの実施形態では、がんは、MDS Cを含むものとして特徴づけられる、MDS Cの存在と関連する、MDS Cががん（例えば、腫瘍）中にある、及び/またはがんの一部を形成する、またはMDS Cは固形腫瘍内または固形腫瘍近辺で検出されている。いくつかの実施形態では、方法は、対象におけるがん（例えば、腫瘍）内またはその近辺のMDS Cの存在を識別することをさらに含む。

50

【0141】

いくつかの実施形態では、方法は、第2の治療的処置を施すことをさらに含む。いくつかの実施形態では、第2の治療的処置は、治療剤（例えば、化学療法剤、生物学的薬剤、ホルモン療法）、放射線、または外科手術を含む。いくつかの実施形態では、治療薬は化学療法剤または生物学的製剤から選択される。いくつかの実施形態では、治療薬はチェックポイント阻害剤である。いくつかの実施形態では、チェックポイント阻害剤は、抗CTLA4抗体、抗PD1抗体（例えば、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、またはピジリズマブ）、抗PD-L1抗体、抗PD-L2抗体、抗TIM3抗体、抗LAG3抗体、抗CD160抗体、抗2B4抗体、抗CD80抗体、抗CD86抗体、抗B7-H3（CD276）抗体、抗B7-H4（VTCN1）抗体、抗HVEM（TNFRSF14またはCD270）抗体、抗BTLA抗体、抗KIR抗体、抗MHCクラスI抗体、抗MHCクラスII抗体、抗GAL9抗体、抗VISTA抗体、抗BTLA抗体、抗TIGIT抗体、抗LAIR1抗体、及び抗A2aR抗体からなる群から選択される。

10

【0142】

別途定義されない限り、本明細書において使用される技術用語及び科学用語は、本発明の所属する技術分野における当業者によって一般に理解されるものと同一の意味を有する。本明細書において記載されているものと類似または同等の方法及び物質を本発明の実施または試験において使用することができるが、適切な方法及び材料を以下に記載する。本明細書において言及される全ての刊行物、特許出願、特許、及び他の参考文献は、参照によりその全体が組み込まれる。矛盾する場合、定義を含め、本明細書が優先される。更に、材料、方法、及び例は、例示にすぎず、限定を意図しない。

20

【0143】

本発明の他の特長及び利点は、以下の発明を実施するための形態、図面、及び特許請求の範囲から明らかであろう。

【図面の簡単な説明】

【0144】

【図1A】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-ベータ阻害剤を含む例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗CSF1RVL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗CSF1RVH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第1のTGF-ベータ阻害剤を含む第2のポリペプチド、抗PD-L1VH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第2のTGF-ベータ阻害剤を含む第3のポリペプチド、ならびに抗PD-L1VL及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1のTGF-ベータ阻害剤は、任意の順序で連結された、(TGFBR1ECD)_a、(TGFBR2ECD)_b、及び(TGFBR3ECD)_cまたはそれらのバリエーションを含み、ここで、a=0、b=0、及びc=0である。第2のTGF-ベータ阻害剤は、任意の順序で連結された、(TGFBR1ECD)_d、(TGFBR2ECD)_e、及び(TGFBR3ECD)_fまたはそれらのバリエーションを含み、ここで、d=0、e=0、及びf=0である。a、b、c、d、e、またはfのうちの少なくとも1つはゼロではない。

30

【図1B】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-ベータ阻害剤を含む例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗CSF1RVL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗CSF1RVH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第1のTGF-ベータ阻害剤を含む第2のポリペプチド、抗PD-L1VH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第2のTGF-ベータ阻害剤を含む第3のポリペプチド、ならびに抗PD-L1VL及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1及び第2のTGF-ベータ阻害剤は、TGFBR2ECDまたはそのバリエーションを含む。

40

【図1C】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-ベータ阻害剤を含む例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗CSF1RVL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗CSF1RVH、CH1、CH2、CH3

50

、及び任意で第1のTGF-β阻害剤を含む第2のポリペプチド、抗PD-L1 VH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第2のTGF-β阻害剤を含む第3のポリペプチド、ならびに抗PD-L1 VL及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1のTGF-β阻害剤はTGFBR2 ECDまたはそのバリエーションを含み、第2のTGF-β阻害剤はTGFBR1 ECDまたはそのバリエーションを含む。

【図1D】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-β阻害剤を含む例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗CSF1R VL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗CSF1R VH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第1のTGF-β阻害剤を含む第2のポリペプチド、抗PD-L1 VH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第2のTGF-β阻害剤を含む第3のポリペプチド、ならびに抗PD-L1 VL及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1のTGF-β阻害剤はTGFBR1 ECDまたはそのバリエーションを含み、第2のTGF-β阻害剤はTGFBR2 ECDまたはそのバリエーションを含む。

10

【図1E】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-β阻害剤を含む例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗CSF1R VL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗CSF1R VH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第1のTGF-β阻害剤を含む第2のポリペプチド、抗PD-L1 VH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第2のTGF-β阻害剤を含む第3のポリペプチド、ならびに抗PD-L1 VL及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1のTGF-β阻害剤はTGFBR2 ECDまたはそのバリエーションを含み、第2のTGF-β阻害剤は存在していても不存在でもよい。

20

【図1F】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-β阻害剤を含む例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗CSF1R VL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗CSF1R VH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第1のTGF-β阻害剤を含む第2のポリペプチド、抗PD-L1 VH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第2のTGF-β阻害剤を含む第3のポリペプチド、ならびに抗PD-L1 VL及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第2のTGF-β阻害剤はTGFBR2 ECDまたはそのバリエーションを含み、第1のTGF-β阻害剤は存在していても不存在でもよい。

30

【図1G】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-β阻害剤を含む例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗CSF1R VL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗CSF1R VH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第1のTGF-β阻害剤を含む第2のポリペプチド、抗PD-L1 VH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第2のTGF-β阻害剤を含む第3のポリペプチド、ならびに抗PD-L1 VL及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1のTGF-β阻害剤は2つのTGFBR2 ECDまたはそのバリエーションを含み、第2のTGF-β阻害剤は存在していても不存在でもよい。

【図1H】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-β阻害剤を含む例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗CSF1R VL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗CSF1R VH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第1のTGF-β阻害剤を含む第2のポリペプチド、抗PD-L1 VH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第2のTGF-β阻害剤を含む第3のポリペプチド、ならびに抗PD-L1 VL及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第2のTGF-β阻害剤は2つのTGFBR2 ECDまたはそのバリエーションを含み、第1のTGF-β阻害剤は存在していても不存在でもよい。

40

【図1I】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-β阻害剤を含む例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗CSF1R VL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗CSF1R VH、CH1、CH2、CH3

50

、及び任意で第1のTGF-β阻害剤を含む第2のポリペプチド、抗PD-L1 VH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第2のTGF-β阻害剤を含む第3のポリペプチド、ならびに抗PD-L1 VL及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1のTGF-β阻害剤はTGFB R1 ECD及びTGFB R2 ECDまたはそのバリエーションを含み、第2のTGF-β阻害剤は存在していても不存在でもよい。

【図1J】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-β阻害剤を含む例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗CSF1R VL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗CSF1R VH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第1のTGF-β阻害剤を含む第2のポリペプチド、抗PD-L1 VH、CH1、CH2、CH3、及び任意で第2のTGF-β阻害剤を含む第3のポリペプチド、ならびに抗PD-L1 VL及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第2のTGF-β阻害剤はTGFB R1 ECD及びTGFB R2 ECDまたはそのバリエーションを含み、第1のTGF-β阻害剤は存在していても不存在でもよい。

10

【図2A】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-β受容体を含むさらなる例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗CSF1R VL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗CSF1R VH、CH1、CH2、CH3、抗PDL1 VH、及び抗PDL1 VLを含む第2のポリペプチド、第1のTGF-β受容体、CH1、CH2、及びCH3を含む第3のポリペプチド、ならびに第2のTGF-β受容体及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1及び第2のTGF-β受容体は、TGFB R1 ECDまたはそのバリエーションを含む。

20

【図2B】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-β受容体を含むさらなる例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗CSF1R VL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗CSF1R VH、CH1、CH2、CH3、抗PDL1 VH、及び抗PDL1 VLを含む第2のポリペプチド、第1のTGF-β受容体、CH1、CH2、及びCH3を含む第3のポリペプチド、ならびに第2のTGF-β受容体及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1のTGF-β受容体はTGFB R1 ECDまたはそのバリエーションを含み、第2のTGF-β受容体はTGFB R2 ECDまたはそのバリエーションを含む。

30

【図2C】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-β受容体を含むさらなる例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗CSF1R VL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗CSF1R VH、CH1、CH2、CH3、抗PDL1 VH、及び抗PDL1 VLを含む第2のポリペプチド、第1のTGF-β受容体、CH1、CH2、及びCH3を含む第3のポリペプチド、ならびに第2のTGF-β受容体及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1のTGF-β受容体はTGFB R2 ECDまたはそのバリエーションを含み、第2のTGF-β受容体はTGFB R1 ECDまたはそのバリエーションを含む。

40

【図2D】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-β受容体を含むさらなる例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗CSF1R VL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗CSF1R VH、CH1、CH2、CH3、抗PDL1 VH、及び抗PDL1 VLを含む第2のポリペプチド、第1のTGF-β受容体、CH1、CH2、及びCH3を含む第3のポリペプチド、ならびに第2のTGF-β受容体及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1及び第2のTGF-β受容体は、TGFB R2 ECDまたはそのバリエーションを含む。

【図3A】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-β受容体を含むさらなる例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗PDL1 VL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗PDL1 VH、CH1、CH2、CH

50

3、抗CSF1R VH、及び抗CSF1R VLを含む第2のポリペプチド、第1のTGFB-ベータ受容体、CH1、CH2、及びCH3を含む第3のポリペプチド、ならびに第2のTGFB-ベータ受容体及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1及び第2のTGFB-ベータ受容体は、TGFB R1 ECDまたはそのバリエーションを含む。

【図3B】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGFB-ベータ受容体を含むさらなる例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗PDL1 VL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗PDL1 VH、CH1、CH2、CH3、抗CSF1R VH、及び抗CSF1R VLを含む第2のポリペプチド、第1のTGFB-ベータ受容体、CH1、CH2、及びCH3を含む第3のポリペプチド、ならびに第2のTGFB-ベータ受容体及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1のTGFB-ベータ受容体はTGFB R1 ECDまたはそのバリエーションを含み、第2のTGFB-ベータ受容体はTGFB R2 ECDまたはそのバリエーションを含む。

10

【図3C】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGFB-ベータ受容体を含むさらなる例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗PDL1 VL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗PDL1 VH、CH1、CH2、CH3、抗CSF1R VH、及び抗CSF1R VLを含む第2のポリペプチド、第1のTGFB-ベータ受容体、CH1、CH2、及びCH3を含む第3のポリペプチド、ならびに第2のTGFB-ベータ受容体及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1のTGFB-ベータ受容体はTGFB R2 ECDまたはそのバリエーションを含み、第2のTGFB-ベータ受容体はTGFB R1 ECDまたはそのバリエーションを含む。

20

【図3D】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGFB-ベータ受容体を含むさらなる例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、抗PDL1 VL及びCLを含む第1のポリペプチド、抗PDL1 VH、CH1、CH2、CH3、抗CSF1R VH、及び抗CSF1R VLを含む第2のポリペプチド、第1のTGFB-ベータ受容体、CH1、CH2、及びCH3を含む第3のポリペプチド、ならびに第2のTGFB-ベータ受容体及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1及び第2のTGFB-ベータ受容体は、TGFB R2 ECDまたはそのバリエーションを含む。

【図4A】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGFB-ベータ受容体を含むさらなる例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、第1のTGFB-ベータ受容体及びCLを含む第1のポリペプチド、第2のTGFB-ベータ受容体、CH1、CH2、CH3、抗PDL1 VH、及び抗PDL1 VLを含む第2のポリペプチド、第3のTGFB-ベータ受容体、CH1、CH2、CH3、抗CSF1R VH、及び抗CSF1R VLを含む第3のポリペプチド、ならびに第4のTGFB-ベータ受容体及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1、第2、第3、及び第4のTGFB-ベータ受容体は、TGFB R1 ECDまたはそのバリエーションを含む。

30

【図4B】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGFB-ベータ受容体を含むさらなる例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、第1のTGFB-ベータ受容体及びCLを含む第1のポリペプチド、第2のTGFB-ベータ受容体、CH1、CH2、CH3、抗PDL1 VH、及び抗PDL1 VLを含む第2のポリペプチド、第3のTGFB-ベータ受容体、CH1、CH2、CH3、抗CSF1R VH、及び抗CSF1R VLを含む第3のポリペプチド、ならびに第4のTGFB-ベータ受容体及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1、第2、第3、及び第4のTGFB-ベータ受容体は、TGFB R2 ECDまたはそのバリエーションを含む。

40

【図4C】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGFB-ベータ受容体を含むさらなる例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、第1のTGFB-ベータ受容体及びCLを含む第1のポリペプチド、第2のTGFB-ベータ受容体

50

、CH1、CH2、CH3、抗PDL1 VH、及び抗PDL1 VLを含む第2のポリペプチド、第3のTGF-ベータ受容体、CH1、CH2、CH3、抗CSF1R VH、及び抗CSF1R VLを含む第3のポリペプチド、ならびに第4のTGF-ベータ受容体及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1及び第2のTGF-ベータ受容体はTGFBR1 ECDまたはそのバリエーションを含み、第3及び第4のTGF-ベータ受容体はTGFBR2 ECDまたはそのバリエーションを含む。

【図4D】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-ベータ受容体を含むさらなる例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、第1のTGF-ベータ受容体及びCLを含む第1のポリペプチド、第2のTGF-ベータ受容体、CH1、CH2、CH3、抗PDL1 VH、及び抗PDL1 VLを含む第2のポリペプチド、第3のTGF-ベータ受容体、CH1、CH2、CH3、抗CSF1R VH、及び抗CSF1R VLを含む第3のポリペプチド、ならびに第4のTGF-ベータ受容体及びCLを含む第4のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第2及び第3のTGF-ベータ受容体はTGFBR1 ECDまたはそのバリエーションを含み、第1及び第4のTGF-ベータ受容体はTGFBR2 ECDまたはそのバリエーションを含む。

10

【図5A】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-ベータ受容体を含むさらなる例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、第1のTGF-ベータ受容体、CH2、CH3、抗PDL1 VH、及び抗PDL1 VLを含む第1のポリペプチド、ならびに第2のTGF-ベータ受容体、CH2、CH3、抗CSF1R VH、及び抗CSF1R VLを含む第2のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1のTGF-ベータ受容体はTGFBR1 ECDまたはそのバリエーションを含み、第2のTGF-ベータ受容体はTGFBR2 ECDまたはそのバリエーションを含む。

20

【図5B】CSF1R結合部分、PD-L1結合部分、及び1つ以上のTGF-ベータ受容体を含むさらなる例示的な多重特異性分子を示す概略図である。示されるのは、第1のTGF-ベータ受容体、CH2、CH3、抗PDL1 VH、及び抗PDL1 VLを含む第1のポリペプチド、ならびに第2のTGF-ベータ受容体、CH2、CH3、抗CSF1R VH、及び抗CSF1R VLを含む第2のポリペプチドを含む多重特異性抗体分子である。第1及び第2のTGF-ベータ受容体は、TGFBR2 ECDまたはそのバリエーションを含む。

【図6A】TGF 阻害剤を含む例示的な多重特異性分子を示す概略図である。いくつかの実施形態では、TGF 阻害剤は、TGF-ベータ受容体 ECDホモ二量体を含む。いくつかの実施形態では、TGF 阻害剤は、TGFBR2 ECDヘテロ二量体を含む。2つのTGFBR ECDドメインは、2つのFc領域のC末端に連結されている。いくつかの実施形態では、示されているCH1-Fc-TGFBR ECD領域は、配列番号192または193のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、示されているFc-TGFBR ECD領域は、配列番号194または195のアミノ酸配列を含む。

30

【図6B】TGF 阻害剤を含む例示的な多重特異性分子を示す概略図である。いくつかの実施形態では、TGF 阻害剤は、TGF-ベータ受容体 ECDホモ二量体を含む。いくつかの実施形態では、TGF 阻害剤は、TGFBR2 ECDヘテロ二量体を含む。2つのTGFBR ECDドメインは、2つのFc領域のC末端に連結されている。いくつかの実施形態では、示されているCH1-Fc-TGFBR ECD領域は、配列番号192または193のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、示されているFc-TGFBR ECD領域は、配列番号194または195のアミノ酸配列を含む。

40

【図6C】TGF 阻害剤を含む例示的な多重特異性分子を示す概略図である。いくつかの実施形態では、TGF 阻害剤は、TGF-ベータ受容体 ECDホモ二量体を含む。いくつかの実施形態では、TGF 阻害剤は、TGFBR2 ECDヘテロ二量体を含む。2つのTGFBR ECDドメインは、それぞれ、CH1及びCLに連結されている。いくつかの実施形態では、示されているTGFBR ECD-CH1-Fc領域は、配列番号196または197のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、示されているTGFBR ECD-CL領域は、配列番号198または199のアミノ酸配列を含む。

50

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、結合部分 A 及び結合部分 B を含む。いくつかの実施形態では、結合部分 A または結合部分 B は、抗 C S F 1 R 結合部分（例えば、抗 C S F 1 R 抗体分子）を含む。いくつかの実施形態では、結合部分 A または結合部分 B は、抗 C C R 2 結合部分（例えば、抗 C C R 2 抗体分子）を含む。いくつかの実施形態では、結合部分 A または結合部分 B は、腫瘍標的化部分（例えば、腫瘍標的化抗体分子）をさらに含む。

【図 6 D】T G F 阻害剤を含む例示的な多重特異性分子を示す概略図である。いくつかの実施形態では、T G F 阻害剤は、T G F - ベータ受容体 E C D ホモ二量体を含む。いくつかの実施形態では、T G F 阻害剤は、T G F B R 2 E C D ヘテロ二量体を含む。2 つの T G F B R E C D ドメインは、それぞれ、C H 1 及び C L に連結されている。いくつかの実施形態では、示されている T G F B R E C D - C H 1 - F c 領域は、配列番号 1 9 6 または 1 9 7 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、示されている T G F B R E C D - C L 領域は、配列番号 1 9 8 または 1 9 9 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、結合部分 A 及び結合部分 B を含む。いくつかの実施形態では、結合部分 A または結合部分 B は、抗 C S F 1 R 結合部分（例えば、抗 C S F 1 R 抗体分子）を含む。いくつかの実施形態では、結合部分 A または結合部分 B は、抗 C C R 2 結合部分（例えば、抗 C C R 2 抗体分子）を含む。いくつかの実施形態では、結合部分 A または結合部分 B は、腫瘍標的化部分（例えば、腫瘍標的化抗体分子）をさらに含む。

【図 7】T G F / S m a d の活性化を T G F - トラップ濃度に対してプロットしたグラフである。この研究で試験されたコンストラクトには以下が含まれる：単一の T G F F a b - トラップ、抗 P D L 1 x T G F - トラップ、抗 C C R 2 x 抗 C S F 1 R、及び抗 C C R 2 x 抗 C S F 1 R x T G F - トラップ。

【発明を実施するための形態】

【0145】

T A M は循環する単球に由来し、腫瘍へのそれらの動員は腫瘍由来の走化性因子によって駆動される。T A M は、B 細胞及び T 細胞の活性化の阻害、腫瘍関連抗原提示の阻害、細胞毒性顆粒放出の阻害、血管新生の増加、及び様々な増殖因子及び血管新生促進因子の分泌などの応答を引き起こすことにより、腫瘍細胞の増殖と転移を促進できる（例えば、L i u e t a l C e l l u l a r & M o l e c u l a r I m m u n o l o g y (2 0 1 5) 1 2 , 1 - 4、及び N o y , R o y e t a l I m m u n i t y , V o l u m e 4 1 , I s s u e 1 , 4 9 - 6 1 ; 及び Q u a t r o m o n i e t a l . A m J T r a n s l R e s . 2 0 1 2 ; 4 (4) : 3 7 6 - 3 8 9 を参照されたい）。その結果、多数の T A M を有する多くの腫瘍では、腫瘍増殖速度、局所的な増殖、及び遠隔転移が増加している。したがって、T A M を枯渇させるか、またはそれらの活性を阻害する療法は有用であろう。

【0146】

定義

本明細書で使用されるとき、「形質転換増殖因子ベータ - 1 (T G F - ベータ 1) 」という用語は、ヒトにおいて遺伝子 T G F B 1 またはそのオーソログによってコードされるタンパク質を指す。S w i s s - P r o t 受託番号 P 0 1 1 3 7 は、例示的なヒト T G F - ベータ 1 アミノ酸配列を提供する。例示的な未成熟ヒト T G F - ベータ 1 アミノ酸配列は、配列番号 9 2 に提供されている。例示的な成熟ヒト T G F - ベータ 1 アミノ酸配列は、配列番号 1 1 7 に提供されている。

【0147】

本明細書で使用されるとき、「形質転換増殖因子ベータ - 2 (T G F - ベータ 2) 」という用語は、ヒトにおいて遺伝子 T G F B 2 またはそのオーソログによってコードされるタンパク質を指す。S w i s s - P r o t 受託番号 P 6 1 8 1 2 は、例示的なヒト T G F - ベータ 2 アミノ酸配列を提供する。例示的な未成熟ヒト T G F - ベータ 2 アミノ酸配列は、配列番号 9 3 に提供されている。例示的な成熟ヒト T G F - ベータ 2 アミノ酸配列は

、配列番号 118 に提供されている。

【0148】

本明細書で使用されるとき、「形質転換増殖因子ベータ-3 (TGF-ベータ3)」という用語は、ヒトにおいて遺伝子TGFβ3またはそのオーソログによってコードされるタンパク質を指す。Swiss-Prot受託番号P10600は、例示的なヒトTGF-ベータ3アミノ酸配列を提供する。例示的な未成熟ヒトTGF-ベータ3アミノ酸配列は、配列番号94に提供されている。例示的な成熟ヒトTGF-ベータ3アミノ酸配列は、配列番号119に提供されている。

【0149】

本明細書で使用されるとき、“TGF-ベータ受容体ポリペプチド”は、TGF-ベータ受容体(例えば、TGFβR1、TGFβR2、もしくはTGFβR3)、またはそのフラグメント、またはそのバリエーションを指す。

10

【0150】

本明細書で使用されるとき、「形質転換増殖因子ベータ受容体タイプ1 (TGFβR1)」(ALK-5またはSKR4としても知られる)という用語は、ヒトにおいて遺伝子TGFβR1またはそのオーソログによってコードされるタンパク質を指す。Swiss-Prot受託番号P36897は、例示的なヒトTGFβR1アミノ酸配列を提供する。例示的な未成熟ヒトTGFβR1アミノ酸配列は、配列番号95、96、及び97に提供されている。例示的な成熟ヒトTGFβR1アミノ酸配列は、配列番号120、121、及び122に提供されている。本明細書で使用されるとき、「TGFβR1ポリペプチド」は、TGFβR1、またはそのフラグメント、またはそのバリエーションを指す。

20

【0151】

本明細書で使用されるとき、「形質転換増殖因子ベータ受容体タイプ2 (TGFβR2)」という用語は、ヒトにおいて遺伝子TGFβR2またはそのオーソログによってコードされるタンパク質を指す。Swiss-Prot受託番号P37173は、例示的なヒトTGFβR2アミノ酸配列を提供する。例示的な未成熟ヒトTGFβR2アミノ酸配列は、配列番号98及び99に提供されている。例示的な成熟ヒトTGFβR2アミノ酸配列は、配列番号123及び124に提供されている。本明細書で使用されるとき、「TGFβR2ポリペプチド」は、TGFβR2、またはそのフラグメント、またはそのバリエーションを指す。

30

【0152】

本明細書で使用されるとき、「形質転換増殖因子ベータ受容体タイプ3 (TGFβR3)」という用語は、ヒトにおいて遺伝子TGFβR3またはそのオーソログによってコードされるタンパク質を指す。Swiss-Prot受託番号Q03167は、例示的なヒトTGFβR3アミノ酸配列を提供する。例示的な未成熟ヒトTGFβR3アミノ酸配列は、配列番号106及び107に提供されている。例示的な成熟ヒトTGFβR3アミノ酸配列は、配列番号125及び126に提供されている。本明細書で使用されるとき、「TGFβR3ポリペプチド」は、TGFβR3、またはそのフラグメント、またはそのバリエーションを指す。

【0153】

本明細書で使用されるとき、親配列の「バリエーション」という用語は、親配列、またはそのフラグメントと実質的に同一のアミノ酸配列を有する配列を指す。いくつかの実施形態では、バリエーションは機能的バリエーションである。

40

【0154】

本明細書で使用されるとき、ポリペプチドの「細胞外ドメイン」または「ECD」は、細胞内ドメイン及び膜貫通ドメインを欠くポリペプチドの一部を指す。いくつかの実施形態では、ポリペプチドの「細胞外ドメイン」または「ECD」は、ポリペプチドが細胞表面上にある場合、細胞外空間にあるポリペプチドの全ての部分、そのフラグメント、そのバリエーションを含む。

【0155】

50

本明細書で使用されるとき、冠詞「a」及び「an」は、冠詞の文法的な対象の、1または1を超えるもの、例えば少なくとも1を指す。本明細書において用語「含む」と合わせて使用される場合の「1つの(a)」または「1つの(an)」という用語の使用は、「1つ」を意味する場合もあるが、それはまた「1つ以上」、「少なくとも1つ」、及び「1つまたは1つ以上」の意味とも一致する。

【0156】

本明細書で使用されるとき、「約」及び「およそ」は、一般に、測定の性質または精度を考慮して、測定された量の許容可能な誤差の程度を意味する。誤差の例示的な程度は、所与の範囲の値の20パーセント(%)以内、典型的には10%以内、そしてより典型的には5%以内である。

【0157】

本明細書で使用されるとき、「抗体分子」は、少なくとも1つの免疫グロブリン可変領域配列を含む、タンパク質、例えば、免疫グロブリン鎖またはそのフラグメントを指す。抗体分子は、抗体(例えば、全長抗体)及び抗体フラグメントを包含する。一実施形態では、抗体分子は、全長抗体または全長免疫グロブリン鎖の抗原結合フラグメントまたは機能的フラグメントを含む。例えば、全長抗体は、天然に存在するか、または通常免疫グロブリン遺伝子フラグメントの組換えプロセスによって形成される免疫グロブリン(Ig)分子(例えば、IgG抗体)である。実施形態では、抗体分子は、免疫学的に活性な、免疫グロブリン分子の抗原結合部分、例えば抗体フラグメントを指す。抗体フラグメント、例えば、機能性フラグメントは、抗体の一部、例えば、Fab、Fab'、F(ab')₂、F(ab)₂、可変フラグメント(Fv)、ドメイン抗体(dAb)、単鎖可変フラグメント(scFv)である。機能性抗体フラグメントは、無傷(例えば、全長)抗体によって認識されるものと同じの抗原に結合する。「抗体フラグメント」または「機能性フラグメント」には、可変領域からなる単離されたフラグメント、例えば、重鎖及び軽鎖の可変領域からなる「Fv」フラグメント、または軽鎖可変領域と重鎖可変領域がペプチドリンカーによって連結されている組換え単鎖ポリペプチド分子(「scFvタンパク質」)もまた含まれる。いくつかの実施形態では、抗体フラグメントは、抗原結合活性を有さない抗体の部分、例えば、Fcフラグメントまたは単一アミノ酸残基を含まない。例示的な抗体分子には、全長抗体及び抗体フラグメント、例えば、dAb(ドメイン抗体)、単鎖、Fab、Fab'、及びF(ab')₂フラグメント、ならびに単鎖可変フラグメント(scFv)が含まれる。

【0158】

本明細書で使用されるとき、「免疫グロブリン可変領域配列」は、免疫グロブリン可変領域の構造を形成することができるアミノ酸配列を指す。例えば、この配列は、天然に存在する可変領域のアミノ酸配列の全てまたは部分を含んでもよい。例えば、配列は、1つ、2つ、またはそれ以上のNまたはC末端アミノ酸を含んでも含まなくてもよく、またはタンパク質構造の形成に適合する他の変更を含んでもよい。

【0159】

実施形態では、抗体分子は、単一特異性であり、例えば、それは、単一のエピトープに対する結合特異性を含む。いくつかの実施形態では、抗体分子は多重特異性であり、例えば、それは複数の免疫グロブリン可変領域配列を含み、第1の免疫グロブリン可変領域配列は第1のエピトープに対する結合特異性を有し、第2の免疫グロブリン可変領域配列は第2のエピトープに対する結合特異性を有する。いくつかの実施形態では、抗体分子は、二重特異性抗体分子である。本明細書で使用されるとき、「二重特異性抗体分子」は、1つを超える(例えば、2つ、3つ、4つ、またはそれ以上の)エピトープ及び/または抗原に対する特異性を有する抗体分子を指す。

【0160】

本明細書で使用されるとき、「抗原」(Ag)は、例えば、特定の免疫細胞の活性化及び/または抗体生成を含む、免疫応答を誘発し得る分子を指す。ほぼ全てのタンパク質またはペプチドを含む任意の高分子が抗原になる可能性がある。抗原はまた、ゲノム組換え

10

20

30

40

50

体またはDNAに由来し得る。例えば、免疫応答を誘発することができるタンパク質をコードするヌクレオチド配列または部分ヌクレオチド配列を含む任意のDNAは、「抗原」をコードする。実施形態では、抗原は遺伝子の全長ヌクレオチド配列のみによってコード化される必要はなく、抗原は遺伝子によってコードされる必要もまったくない。実施形態では、抗原は合成すること、または生体試料、例えば、組織試料、腫瘍試料、細胞、もしくは他の生体成分を含む液体に由来することができる。本明細書で使用されるとき、「腫瘍抗原」または互換可能に、「がん抗原」には、免疫応答を誘発し得る、がん、例えば、がん細胞または腫瘍微小環境上に存在するか、またはそれらに関連する任意の分子が含まれる。本明細書で使用されるとき、「免疫細胞抗原」には、免疫応答を引き起こすことができる免疫細胞上に存在するか、またはそれらに関連する任意の分子が含まれる。

10

【0161】

抗体分子の「抗原結合部位」または「結合部分」は、抗原結合に関与する抗体分子、例えば免疫グロブリン(Ig)分子の部分を指す。実施形態では、抗原結合部位は重(H)鎖と軽(L)鎖の可変(V)領域のアミノ酸残基によって形成される。重鎖と軽鎖の可変領域内の、超可変領域と呼ばれる3つの高度に多様なストレッチは、「フレームワーク領域」(FR)と呼ばれるより保存された隣接ストレッチの間に配置される。FRは、免疫グロブリンの超可変領域間及びそれに隣接して天然に見出されるアミノ酸配列である。実施形態では、抗体分子では、軽鎖の3つの超可変領域と重鎖の3つの超可変領域が三次元空間で互いに相対的に配置され、結合した抗原の三次元表面と相補的な抗原結合表面を形成する。重鎖と軽鎖のそれぞれの3つの超可変領域は、「相補性決定領域」または「CDR」と呼ばれる。フレームワーク領域及びCDRは、例えば、Kabata, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242、及びChothia, C. et al. (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917において、定義され、説明されている。各可変鎖(例えば、可変重鎖及び可変軽鎖)は典型的には、3つのCDRと4つのFRで構成され、アミノ酸の順序でアミノ末端からカルボキシ末端に向けて以下のように配置される: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、及びFR4。

20

【0162】

本明細書で使用されるとき、「がん」は、あらゆる種類の発がん過程及び/またはがん性増殖を包含することができる。実施形態では、がんには、原発腫瘍、ならびに、転移組織または悪性転じた換細胞、組織、もしくは臓器が含まれる。実施形態では、がんは、がんの全ての組織病理学及び病期、例えば、侵襲性/重症度の病期を含む。実施形態では、がんには再発がん及び/または耐性がんが含まれる。「がん」と「腫瘍」という用語は、互換可能に使用できる。例えば、両方の用語は固形腫瘍と液体腫瘍を包含する。本明細書で使用されるとき、「がん」または「腫瘍」という用語には、前がん、ならびに悪性のがん及び腫瘍が含まれる。

30

【0163】

本発明の組成物及び方法は、特定された配列、またはそれらと実質的に同一もしくは類似の配列、例えば、特定の配列と少なくとも85%、90%、95%またはそれ以上同一の配列を有するポリペプチド及び核酸を包含する。アミノ酸配列との関連で、本明細書で使用されるとき、「実質的に同一」という用語は、第1及び第2のアミノ酸配列が共通の構造ドメイン及び/または共通の機能的活性を有することができるように、i) 第2のアミノ酸配列中のアライメントしたアミノ酸残基に同一である、またはii) その保存的置換のいずれかである十分または最小数のアミノ酸残基を含む第1のアミノ酸を指す。例えば、共通の構造ドメインを含むアミノ酸配列は、参照配列、例えば、本明細書で提供される配列に対して、少なくとも約85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有する。

40

【0164】

50

ヌクレオチド配列の文脈において、本明細書で使用されるとき、「実質的に同一」という用語は、第1及び第2の核酸配列が、共通の機能的活性を有するポリペプチドをコードするか、または共通の構造的ポリペプチドドメインまたは共通の機能的ポリペプチド活性をコードするように第2の核酸配列中のアライメントされたヌクレオチドに同一である、十分または最小数のヌクレオチドを含む第1の核酸配列を指す。例えば、ヌクレオチド配列は、参照配列、例えば、本明細書で提供される配列に対して、少なくとも約85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有する。

【0165】

配列間の相同性または配列同一性（用語は本明細書では互換可能に使用される）の計算は、以下のように行われる。

10

【0166】

2つのアミノ酸配列または2つの核酸配列の同一性パーセントを決定するためには、最適な比較の目的で配列をアライメントする（例えば、最適のアライメントのために第1及び第2のアミノ酸または核酸配列の一方または両方にギャップを導入でき、非相同配列は、比較の目的で無視できる）。好ましい実施形態では、比較の目的でアライメントされた参照配列の長さは、参照配列の長さの少なくとも30%、好ましくは少なくとも40%、より好ましくは少なくとも50%、60%、さらにより好ましくは少なくとも70%、80%、90%、100%である。次いで、対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置のアミノ酸残基またはヌクレオチドが比較される。第1の配列の位置が、第2の配列の対応する位置と同一のアミノ酸残基またはヌクレオチドで占められている場合、分子はその位置で同一である（本明細書で使用されるとき、アミノ酸または核酸の「同一性」は、アミノ酸または核酸の「相同性」と同等である）。

20

【0167】

2つの配列間の同一性パーセントは、2つの配列の最適なアライメントのために導入する必要のあるギャップの数と各ギャップの長さを考慮して、配列によって共有される同一の位置の数の関数である。

【0168】

配列の比較と2つの配列間の同一性パーセントの決定は、数学的アルゴリズムを使用して実行できる。好ましい実施形態では、2つのアミノ酸配列間の同一性パーセントは、GCGソフトウェアパッケージ（<http://www.gcg.com>で入手可能）のGAPプログラムに組み込まれているNeedleman and Wunsch（（1970）J. Mol. Biol. 48: 444-453）アルゴリズムを使用して、Blossum 62マトリックスまたはPAM250マトリックスのいずれかで、16、14、12、10、8、6、または4のギャップ重み、及び1、2、3、4、5、または6の長さの重みを使用して決定される。さらに別の好ましい実施形態では、2つのヌクレオチド配列間の同一性パーセントは、GCGソフトウェアパッケージ（<http://www.gcg.com>で入手可能）のGAPプログラムを使用して、NWSgapdna.CMP62マトリックスで、40、50、60、70、または80のギャップ重み、及び1、2、3、4、5、または6の長さの重みを使用して決定される。特に好ましいパラメーターのセット（及び別段の定めがない限り使用するべきパラメーター）は、12のギャップペナルティ、4のギャップ拡張ペナルティ、5のフレームシフトギャップペナルティを有するBlossum 62スコアリングマトリックスである。

30

40

【0169】

2つのアミノ酸またはヌクレオチドの配列間の同一性パーセントは、PAM120重み残基テーブル、12のギャップ長ペナルティ、及び4のギャップペナルティを使用して、ALIGNプログラム（バージョン2.0）に組み込まれているE. Meyers and W. Miller（（1989）CABIOS 4: 11-17）のアルゴリズムを使用して決定できる。

【0170】

50

本明細書に記載の核酸及びタンパク質配列は、例えば、他のファミリーメンバーまたは関連する配列を特定するために公共データベースに対して検索を行うための「クエリ配列」として使用され得る。このような検索は、Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-10のNBLAST及びXBLASTプログラム(バージョン2.0)を使用して実行できる。BLASTヌクレオチド検索は、本発明の核酸(例えば、配列番号1)分子に相同なヌクレオチド配列を得るために、NBLASTプログラム、スコア=100、ワード長=12で実行することができる。BLASTタンパク質検索は、本発明のタンパク質分子に相同なアミノ酸配列を得るために、XBLASTプログラム、スコア=50、ワード長=3で実行することができる。比較の目的でギャップ付きのアライメントを得るには、Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402に記載されているように、ギャップ付きBLASTを利用できる。BLAST及びギャップ付きBLASTプログラムを利用する場合、それぞれのプログラム(例えば、XBLAST及びNBLAST)のデフォルトのパラメーターを使用できる。http://www.ncbi.nlm.nih.govを参照されたい。

10

【0171】

本発明の分子は、その機能に実質的な影響を及ぼさない、さらなる保存的置換または非必須アミノ酸置換を有し得る。

【0172】

「アミノ酸」という用語は、アミノ官能性と酸官能性の両方を含み、天然に存在するアミノ酸のポリマーに含まれることができる全ての分子を、天然であろうと合成であろうと包含することを意図している。例示的なアミノ酸には、天然に存在するアミノ酸、それらの類似体、誘導体及び同族体、バリエーション側鎖を有するアミノ酸類似体、及び前述のいずれかのいずれかの全ての立体異性体が含まれる。本明細書で使用されるとき、「アミノ酸」という用語は、D-またはL-光学異性体とペプチド模倣体の両方を含む。

20

【0173】

「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置き換えられるものである。同様の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当該技術分野において定義されている。これらのファミリーは、塩基性側鎖(例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン)、酸性側鎖(例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸)、非荷電極性側鎖(例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン)、非極性側鎖(例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン)、分岐側鎖(例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン)、及び芳香族側鎖(例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン)を有するアミノ酸を含む。

30

【0174】

「ポリペプチド」、「ペプチド」、または「タンパク質」(単一鎖である場合)という用語は、任意の長さのアミノ酸のポリマーを指すために本明細書で互換可能に使用される。ポリマーは、直鎖状または分枝状であってよく、修飾アミノ酸を含み得、そして非アミノ酸により中断されていてもよい。この用語は、改変されたアミノ酸ポリマーも包含し、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化、または標識成分とのコンジュゲーションなどの任意の他の操作を包含する。ポリペプチドは、天然源から単離することができ、真核生物または原核生物の宿主から組換え技術によって生成することができ、または合成手順の産物とすることができる。

40

【0175】

「核酸」、「核酸配列」、「ヌクレオチド配列」、または「ポリヌクレオチド配列」及び「ポリヌクレオチド」という用語は互換可能に使用される。これらは、デオキシリボヌクレオチドもしくはリボヌクレオチド、またはそれらの類似体のいずれかである、任意の長さのポリマー形態のヌクレオチドを指す。ポリヌクレオチドは、一本鎖または二本鎖のいずれかであり得、一本鎖はコード鎖または非コード(アンチセンス)鎖であり得る。ポ

50

リヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチド及びヌクレオチド類似体のような、修飾されたヌクレオチドを含み得る。ヌクレオチドの配列は、非ヌクレオチド構成要素によって中断され得る。ポリヌクレオチドは、標識構成要素とのコンジュゲーションなどによって、重合後にさらに修飾することができる。核酸は、組換えポリヌクレオチド、または天然には存在しないか、または非天然の配置で別のポリヌクレオチドに連結されている、ゲノム、cDNA、半合成、または合成起源のポリヌクレオチドであり得る。

【0176】

「単離された」という用語は、本明細書で使用されるとき、元の環境または天然の環境（例えば、天然に存在する場合は天然の環境）から取り出された物質を指す。例えば、生きている動物に存在する天然に存在するポリヌクレオチドまたはポリペプチドは単離されてないが、ヒトの介入により、自然系で共存する物質の一部または全てから分離された同一のポリヌクレオチドまたはポリペプチドが単離されている。そのようなポリヌクレオチドはベクターの一部であり得、及び/またはそのようなポリヌクレオチドまたはポリペプチドは組成物の一部であり得、そのようなベクターまたは組成物が、それが天然に見出される環境の一部ではないという点でなお単離されている。

10

【0177】

本明細書で使用されるとき、「免疫抑制性骨髄細胞」または「IMC」という用語は一般に、免疫抑制（例えば、腫瘍微小環境において）（例えば、細胞の活性化を阻害すること、T細胞生存を阻害すること、制御性T細胞の誘導と動員を促進することによって）を促進する骨髄系の細胞を指す。免疫抑制性骨髄細胞には、例えば、腫瘍関連マクロファージ（TAM）及び骨髄由来サブレッサー細胞（MDSC）が含まれる。

20

【0178】

本明細書で使用されるとき、「腫瘍関連マクロファージ」または「TAM」という用語は、一般に、例えば腫瘍などのがんの微小環境に存在するマクロファージを指す。

【0179】

本明細書で使用されるとき、「TAMを低減すること」という用語は、一般にTAMの数を減らすことを指す。低減することは、腫瘍内または腫瘍近辺のTAMの数を、（例えば、本明細書に記載の多重特異性分子の投与前（例えば、本明細書に記載の多重特異性分子の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10またはそれ以上の投与前）のTAMの数と比較して）減らすことを含む。低減することは、腫瘍内または腫瘍近辺のTAMの任意の数を、（例えば、本明細書に記載の多重特異性分子の投与前（例えば、本明細書に記載の多重特異性分子の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10またはそれ以上の投与前）のTAMの数と比較して）、（例えば、1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%、全て、または実質的に）減らすことを含む。

30

【0180】

本明細書で使用されるとき、「骨髄由来サブレッサー細胞」または「MDSC」という用語は一般に、免疫抑制を促進することができ、CD33、CD11b、及びCD45を共通に発現する骨髄由来の細胞を指す。MDSCの様々な分集団が定義されており、例えば、単球性MDSC（M-MDSC）は、CD14及びCD124の発現とHLA-DRの低発現に一般的に関連している。いくつかの実施形態では、MDSC集団はMO-MDSC集団である。多形核MDSC（PMN-MDSC）は、CD15、CD66b、及びCD124の発現、ならびにHLA-DRの非発現に関連している。未成熟MDSC（I-MDSC）は、CD117及びCD34の発現、ならびにLIN及びHLA-DRの非発現に関連している。例えば、Ugel et al. (2015) JCI Vol 125 (9), page 3365を参照されたい。

40

【0181】

本発明の様々な態様が、以下にさらに詳述される。さらなる定義は、本明細書全体に示される。

【0182】

50

抗原

本開示のTAM標的化抗原は、例えば、CSF1R、CCR2、CXCR2、CD68、CD163、CX3CR1、MARCO、CD204、CD52、及び受容体ベータを含む。本明細書では、TAM標的化抗原の例示的なアミノ酸配列が提供される。

【0183】

CSF1R

CSF1R(マクロファージコロニー刺激因子1受容体としても知られる)は、CSF1及びIL34の細胞表面受容体として機能し、造血前駆細胞、特にマクロファージ及び単球などの単核食細胞の生存、増殖、及び分化の調節に重要な役割を果たすチロシンチンパク質キナーゼである。CSF1Rは、IL34及びCSF1に反応して炎症誘発性ケモカインの放出を促進し、それにより自然免疫及び炎症過程において重要な役割を果たす。例示的なCSF1R未成熟アミノ酸配列が、配列番号87及び88に提供される。

10

【0184】

CSF1R未成熟アミノ酸配列アイソフォーム1(識別子:P07333-1):

MGPGLLLLLLVATAWHGQGIPVIEPSVPELVVKPGATVTL
RCVGNNGSVEWDGPPSPHWTLYSDGSSSILSTNNATFQNTG
TYRCTEPGDPLGGSAAIHLYVKDPA RPWNVLAQEVVVFED
QDALLPCLLTD PVLEAGVSLVRVRGRPLMRHTNYSFSPWH
GFTIHRAKFIQS QDYQCSALMGGRKVMSSISIRLKVQKVIP
GPPALTLVPAELVRIRGEAAQIVCSASSVDVNFDFVFLQHN
NTKLAIPQQSDFHNNRYQKVLTLNLDQVDFQHAGNYS CVA
SNVQGKHSTSMFFRVVESAYLNLSSSEQNLIQEVTVGEGLN
LKVMVEAYPGLQGFNWTYLGPFSDHQPEPKLANATTKD TY
RHTFTLSLPR LK PSEAGRYSFLARNPGGWRA LTFELTLRY
PPEVSVIWT FINGSGTLLCAASGY P QPNVTWLQCSGHTDR
CDEAQVLQVWDDPYPEVLSQEPFHKVTVQSLLTVETLEHN
QTYECRAHNSVGS GSWAFIPI SAGAH THPPDEF LFTPVVV
ACMSIMALLLLLLLLLLYKYKQKPKYQVRWKIIESYEGNS
YTFIDPTQLPYNEKWEFPRNNLQFGKTLGAGAF GKVVEAT
AFGLGKEDAVLKVAVKMLKSTAHAD EKEALMSELKIMSHL
GQHENIVNLLGACTHGGPVLVITEYCCYGDLLNFLRRKAE
AMLGPSLS PGQDPEGGV DYKNIHLEKKYVRRDSGFSSQGV
DTYVEMRPVSTSSNDSFSEQDL DKE DGRPLELRDL LHFSS
QVAQGM AFLASKNCIHRDVAARNVLLTNGHVAKIGDFGLA
RDIMNDSNYIVKGNARLPVKWMAPE SIFDCVYTVQSDVWS
YGILLWEIFSLGLNPYPGILVNSKFYKLVKDG YQMAQPAF
APKNIYSIMQACWALEPTHRPTFQQIC SFLQEQAQEDRRE
RDYTNLPSSSRSGSGSSSSSELEEESSSEHLTCCEQGDIA
QPLLQPNNYQFC

20

30

配列番号87

40

CSF1R未成熟アミノ酸配列アイソフォーム2(識別子:P07333-2):

MGPGLLLLLLVATAWHGQGIPVIEPSVPELVVKPGATVTL
RCVGNNGSVEWDGPPSPHWTLYSDGSSSILSTNNATFQNTG
TYRCTEPGDPLGGSAAIHLYVKDPA RPWNVLAQEVVVFED
QDALLPCLLTD PVLEAGVSLVRVRGRPLMRHTNYSFSPWH
GFTIHRAKFIQS QDYQCSALMGGRKVMSSISIRLKVQKVIP
GPPALTLVPAELVRIRGEAAQIVCSASSVDVNFDFVFLQHN
NTKLAIPQQSDFHNNRYQKVLTLNLDQVDFQHAGNYS CVA
SNVQGKHSTSMFFRVVGT P SPSLCPA

配列番号88

50

【0185】

CCR2

CCR2 (C-Cケモカイン受容体タイプ2としても知られる)は、CCL2、CCL7、及びCCL13ケモカインのGタンパク質共役型受容体である。CCR2は単球/マクロファージ及びT細胞の動員において機能することが知られている。CCR2は単球とT細胞の小さな分集団で発現し、マウスとヒトでほぼ同一の発現パターンを示す(Mack et al. J Immunol 2001; 166: 4697-4704)。

例示的なCCR2アミノ酸配列は、配列番号89及び90に提供されている。

【0186】

CCR2アミノ酸配列アイソフォームA (識別子: P41597-1):

```
MLSTSRSRFIRNTNESGEEVTTFFDYDYGAPCHKFDVKQI
GAQLLPPLYSLVFI FGFVGNMLVVLILINCKKCLKCLTDIY
LLNLAISDLLFLITLPLWAHSAANEWVFGNAMCKLFTGLY
HIGYFGGIFFIILLTIDRYLAIVHAVFALKARTVTFGVVT
SVITWLVAVFASVPGIIFTKCKEDSVYVCGPYFPRGWNN
FHTIMRNILGLVLP LLIMVICYSGILKTL LRCRNEKKRHR
AVRVIFTIMIVYFLFWTPYNI VILLNTFQEFFGLSNCEST
SQLDQATQVTETLGMTHCCINPIIYAFVGEKFRSLFHIAL
GCRIAPLQKPVCGGPGV RPKKNVKVTTQGLLDGRGKGSIG
GRAPEASLQDKEGA
```

10

20

配列番号89

CCR2アミノ酸配列アイソフォームB (識別子: P41597-2):

```
MLSTSRSRFIRNTNESGEEVTTFFDYDYGAPCHKFDVKQI
GAQLLPPLYSLVFI FGFVGNMLVVLILINCKKCLKCLTDIY
LLNLAISDLLFLITLPLWAHSAANEWVFGNAMCKLFTGLY
HIGYFGGIFFIILLTIDRYLAIVHAVFALKARTVTFGVVT
SVITWLVAVFASVPGIIFTKCKEDSVYVCGPYFPRGWNN
FHTIMRNILGLVLP LLIMVICYSGILKTL LRCRNEKKRHR
AVRVIFTIMIVYFLFWTPYNI VILLNTFQEFFGLSNCEST
SQLDQATQVTETLGMTHCCINPIIYAFVGEKFRRYLSVFF
RKHITKRFCCKQCPVFYRETVDGVTSTNTPTSTGEQEV SAGL
```

30

配列番号90

【0187】

CXCR2

CXCR2 (インターロイキン-8受容体としても知られる)は、好中球走化性因子であるIL8のGタンパク質共役型受容体である。IL8の受容体への結合は、好中球の活性化を引き起こす。この応答は、ホスファチジルイノシトールカルシウムセカンドメッセンジャー系を活性化するGタンパク質を介して仲介される。CXCR2はIL-8に高い親和性で結合し、CXCL3、GRO/MGSA、及びNAP-2にも高い親和性で結合する。CXCR2は循環する好中球に高レベルで発現し、炎症部位へのそれらの遊走を誘導するために重要である(J Clin Invest. 2012; 122(9): 3127-3144)。例示的なCXCR2アミノ酸配列が、配列番号91に提供される。

40

【0188】

CXCR2アミノ酸配列 (識別子: P25025-1):

```
MEDFNMESDSFEDFWKGEDLSNYSYSSTLPPFL LDAAPCE
PESLEINKYFVVI IYALVFLLSLLGNSLVMLVILYSRVGR
SVTDVYLLNLALADLLFALTLP IWAASKVNGWIFGTF LCK
VVSLLKEVNFYSGILL LACISVDRYLAIVHATR TLTKRY
LVKFCISLWGLSLL LALPVL LFRRTVYSSNVSPACYEDM
GNNTANWRMLLRILPQSFGFIVPLLIMLFCYGF TLR TLFK
```

50

A H M G Q K H R A M R V I F A V V L I F L L C W L P Y N L V L L A D T L M R T Q
 V I Q E T C E R R N H I D R A L D A T E I L G I L H S C L N P L I Y A F I G Q K
 F R H G L L K I L A I H G L I S K D S L P K D S R P S F V G S S S G H T S T T L

配列番号 9 1

【 0 1 8 9 】

例示的な抗体

T A M 抗原と結合する例示的な抗体は、本明細書全体及び以下に提供される。例示的な抗 C S F 1 R 抗体は、本明細書ならびに W O 2 0 0 9 0 2 6 3 0 3 A 1、W O 2 0 1 1 1 2 3 3 8 1 A 1、W O 2 0 1 6 2 0 7 3 1 2 A 1、W O 2 0 1 6 1 0 6 1 8 0 A 1、U S 2 0 1 6 0 2 2 0 6 6 9 A 1、U S 2 0 1 6 0 3 2 6 2 5 4 A 1、W O 2 0 1 3 1 6 9 2 6 4 A 1、W O 2 0 1 3 0 8 7 6 9 9 A 1、W O 2 0 1 1 1 4 0 2 4 9 A 2、W O 2 0 1 1 1 3 1 4 0 7 A 1、W O 2 0 1 1 1 2 3 3 8 1 A 1、W O 2 0 1 1 1 0 7 5 5 3 A 1、及び W O 2 0 1 1 0 7 0 0 2 4 A 1 に記載され、これらは全て、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。例示的な抗 C C R 2 抗体は、本明細書ならびに W O 2 0 1 3 1 9 2 5 9 6 A 2、W O 2 0 1 0 0 2 1 6 9 7 A 2、W O 2 0 0 1 0 5 7 2 2 6 A 1、及び W O 1 9 9 7 0 3 1 9 4 9 A 1 に記載され、これらは全て、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。例示的な抗 C X C R 2 抗体は、W O 2 0 1 4 1 7 0 3 1 7 A 1 及び U S 2 0 1 6 0 0 6 0 3 4 7 に記載され（例えば、a）配列番号 1 4（軽鎖）及び配列番号 1 5（重鎖）、b）配列番号 2 4（軽鎖）及び配列番号 2 5（重鎖）、c）配列番号 3 4（軽鎖）及び配列番号 3 5（重鎖）、d）配列番号 4 4（軽鎖）及び配列番号 4 5（重鎖）、e）配列番号 5 4（軽鎖）及び配列番号 5 5（重鎖）、f）配列番号 6 4（軽鎖）及び配列番号 6 5（重鎖）、g）配列番号 7 4（軽鎖）及び配列番号 7 5（重鎖）、h）配列番号 8 4（軽鎖）及び配列番号 8 5（重鎖）を参照されたい）、これらは全て、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。例示的な抗 C D 1 6 3 抗体は、全体が参照により本明細書に組み込まれる、U S 2 0 1 2 0 2 5 7 8 1 0 7（例えば、M A C 2 1 5 8、M A C 2 - 4 8 を参照されたい）に提供されている。例示的な抗 C D 5 2 抗体は、全体が参照により本明細書に組み込まれる、U S 2 0 0 5 0 1 5 2 8 9 8 に記載されている。例示的な抗葉酸抗体は、全体が参照により本明細書に組み込まれる、U S 9 5 2 2 1 9 6 に記載されている。例示的な抗 C D 5 2 抗体は、全体が参照により本明細書に組み込まれる、U S 2 0 0 5 0 1 5 2 8 9 8 に記載されている。例示的な抗 M A R C O 抗体は、全体が参照により本明細書に組み込まれる、W O 2 0 1 6 1 9 6 6 1 2 に記載されている。

【 0 1 9 0 】

抗体分子

一実施形態では、多重特異性分子は、第 1 の腫瘍関連マクロファージ（T A M）抗原に結合する抗体分子、及び第 2 の T A M 抗原に結合する抗体分子を含む。いくつかの実施形態では、第 1 及び/または第 2 の T A M 抗原は、例えば、哺乳動物、例えば、ヒトである。例えば、抗体分子は、T A M 抗原上のエピトープ、例えば、直線状、または立体配座エピトープに特異的に結合する。

【 0 1 9 1 】

一実施形態では、多重特異性分子は、第 1 の骨髄由来サプレッサー細胞（M D S C）抗原に結合する抗体分子、及び第 2 の M D S C 抗原に結合する抗体分子を含む。いくつかの実施形態では、第 1 及び/または第 2 の M D S C 抗原は、例えば、哺乳動物、例えば、ヒトである。例えば、抗体分子は、M D S C 抗原上のエピトープ、例えば、直線状、または立体配座エピトープに特異的に結合する。

【 0 1 9 2 】

一実施形態では、抗体分子は、単一特異性抗体分子であり、単一のエピトープと結合する。例えば、それぞれが同一のエピトープと結合する複数の免疫グロブリン可変領域配列を有する単一特異性抗体分子である。

【 0 1 9 3 】

一実施形態では、抗体分子は多重特異性抗体分子であり、例えば、それは複数の免疫グ

10

20

30

40

50

ロブリン可変領域配列を含み、複数のうちの第1の免疫グロブリン可変領域配列は第1のエピトープに対する結合特異性を有し、複数のうちの第2の免疫グロブリン可変領域配列は第2のエピトープに対する結合特異性を有する。一実施形態では、第1及び第2のエピトープは、同一の抗原上、例えば同一のタンパク質（または多量体タンパク質のサブユニット）上にある。一実施形態では、第1のエピトープと第2のエピトープが重複する。一実施形態では、第1のエピトープと第2のエピトープは重複しない。一実施形態では、第1及び第2のエピトープは、別個の抗原上、例えば別個のタンパク質（または多量体タンパク質の別個のサブユニット）上にある。一実施形態では、多重特異性抗体分子は、第3、第4、または第5の免疫グロブリン可変領域を含む。一実施形態では、多重特異性抗体分子は、二重特異性抗体分子、三重特異性抗体分子、または四重特異性抗体分子である。

10

【0194】

一実施形態では、多重特異性抗体分子は二重特異性抗体分子である。二重特異性抗体は、2つ以下の抗原に対する特異性を有する。二重特異性抗体分子は、第1のエピトープに対する結合特異性を有する第1の免疫グロブリン可変領域配列及び第2のエピトープに対する結合特異性を有する第2の免疫グロブリン可変領域配列によって特徴付けられる。一実施形態では、第1及び第2のエピトープは、同一の抗原上、例えば同一のタンパク質（または多量体タンパク質のサブユニット）上にある。一実施形態では、第1のエピトープと第2のエピトープが重複する。一実施形態では、第1のエピトープと第2のエピトープは重複しない。一実施形態では、第1及び第2のエピトープは、別個の抗原上、例えば別個のタンパク質（または多量体タンパク質の別個のサブユニット）上にある。一実施形態では、二重特異性抗体分子は、第1のエピトープに対する結合特異性を有する重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列、ならびに第2のエピトープに対する結合特異性を有する重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列を含む。一実施形態では、二重特異性抗体分子は、第1のエピトープに対する結合特異性を有する半抗体及び第2のエピトープに対する結合特異性を有する半抗体を含む。一実施形態では、二重特異性抗体分子は、第1のエピトープに対する結合特異性を有する半抗体またはそのフラグメント及び第2のエピトープに対する結合特異性を有する半抗体またはそのフラグメントを含む。一実施形態では、二重特異性抗体分子は、第1のエピトープに対する結合特異性を有するs c F vまたはF a bまたはそのフラグメント、及び第2のエピトープに対する結合特異性を有するs c F vまたはF a bまたはそのフラグメントを含む。

20

30

【0195】

一実施形態では、抗体分子は、ダイアボディ、及び単鎖分子、ならびに抗体の抗原結合フラグメント（例えば、F a b、F (a b ')₂、及びF v）を含む。例えば、抗体分子は、重（H）鎖可変領域配列（本明細書ではV Hと略される）及び軽（L）鎖可変領域配列（本明細書ではV Lと略される）を含み得る。一実施形態では、抗体分子は、重鎖及び軽鎖を含むか、またはそれらからなる（本明細書では半抗体と呼ばれる）。別の例において、抗体分子は、2つの重（H）鎖可変領域配列及び2つの軽（L）鎖可変領域配列を含み、それにより、抗体全体の改変により産生され得、または組換えDNA技術を使用してd e n o v oで合成されたものである得る、F a b、F a b '、F (a b ')₂、F c、F d、F d '、F v、単鎖抗体（例えばs c F v）、単一の可変領域抗体、ダイアボディ（D a b）（二価及び二重特異性）、及びキメラ（例えば、ヒト化）抗体などの2つの抗原結合部位を形成する。これらの機能的抗体フラグメントは、それぞれの抗原または受容体と選択的に結合する能力を保持する。抗体及び抗体フラグメントは、I g G、I g A、I g M、I g D、及びI g Eを含むがこれらに限定されない抗体の任意のクラス、ならびに抗体の任意のサブクラス（例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、及びI g G 4）に由来し得る。抗体分子の調製は、モノクローナルまたはポリクローナルであり得る。抗体分子はまた、ヒト、ヒト化、C D R移植、またはi n v i t r oで生成された抗体であり得る。抗体は、例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4から選択された重鎖定常領域を有し得る。抗体は、例えば、カッパまたはラムダから選択される軽鎖を有することもできる。「免疫グロブリン」（I g）という用語は、本明細書において「抗体」と

40

50

いう用語と互換可能に使用される。

【0196】

抗体分子の抗原結合フラグメントの例には、以下が含まれる：(i) VL、VH、CL、及びCH1ドメインからなる一価フラグメントであるFabフラグメント、(ii) ヒンジ領域においてジスルフィド架橋によって連結される2つのFabフラグメントを含む二価フラグメントであるF(ab')₂フラグメント、(iii) VH及びCH1ドメインからなるFdフラグメント、(iv) 抗体の単一アームのVL及びVHドメインからなるFvフラグメント、(v) VHドメインからなるダイアボディ(dAb)フラグメント、(vi) ラクダ科またはラクダ化可変領域、(vii) 単鎖Fv(scFv)、例えば、Bird et al. (1988) Science 242: 423-426、and Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883を参照されたい、(viii) 単ドメイン抗体。これらの抗体フラグメントは、当業者に公知の従来技術を使用して得られ、フラグメントは、無傷の抗体と同一の方法で有用性についてスクリーニングされる。

10

【0197】

抗体分子には、無傷の分子及びその機能的フラグメントが含まれる。抗体分子の定常領域は、抗体の特性を改変するために(例えば、Fc受容体結合、抗体のグリコシル化、システイン残基の数、エフェクター細胞機能、または補体機能のうちの1つ以上を増加または減少させるために)、改変することができ、例えば、変異導入することができる。

【0198】

抗体分子は単ドメイン抗体であってもよい。単ドメイン抗体は、その相補性決定領域が単ドメインポリペプチドの一部である抗体を含み得る。例には、重鎖抗体、軽鎖を天然に欠く抗体、従来4鎖抗体に由来する単ドメイン抗体、改変抗体、及び抗体に由来するもの以外の単ドメイン足場が含まれるが、これらに限定されない。単ドメイン抗体は、当該技術分野のいずれか、または将来の任意の単ドメイン抗体であり得る。単ドメイン抗体は、マウス、ヒト、ラクダ、ラマ、魚類、サメ、ヤギ、ウサギ、及びウシを含むがこれらに限定されない任意の種に由来し得る。本発明の別の態様によれば、単ドメイン抗体は、軽鎖を欠く重鎖抗体として知られる天然に存在する単ドメイン抗体である。そのような単ドメイン抗体は、例えば、WO 9404678に開示されている。明確にするために、軽鎖を天然に欠く重鎖抗体に由来するこの可変領域は、4鎖免疫グロブリンの従来VHと区別するために、VHHまたはナノボディとして本明細書で知られている。このようなVHH分子は、ラクダ、ラマ、ヒトコブラクダ、アルパカ、グアナコなどのラクダ科の種で産生された抗体に由来し得る。ラクダ科以外の他の種が、天然に軽鎖を欠く重鎖抗体を産生する可能性があり、このようなVHHは本発明の範囲内である。

20

【0199】

VH及びVL領域は、「相補性決定領域」(CDR)と呼ばれる超可変性の領域に細分でき、それは「フレームワーク領域」(FRまたはFW)と呼ばれる、より保存された領域と散在する。

【0200】

フレームワーク領域とCDRの範囲は、いくつかの方法で正確に定義されている(Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242, Chothia, C. et al. (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917、及びOxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェアで使用されるAbM定義を参照されたい)。一般的に、例えば、Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. In: Antibody Engineering Lab Manual (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer

30

40

50

- Verlag, Heidelberg を参照されたい。

【0201】

本明細書で使用されるとき、「相補性決定領域」及び「CDR」という用語は、抗原特異性及び結合親和性を与える、抗体可変領域内のアミノ酸の配列を指す。一般に、各重鎖可変領域には3つのCDR(HCDR1、HCDR2、HCDR3)があり、各軽鎖可変領域には3つのCDR(LCDR1、LCDR2、LCDR3)がある。

【0202】

特定のCDRの正確なアミノ酸配列の境界は、Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (「Kabat」付番スキーム)、Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273, 927-948 (「Chothia」付番スキーム)を含む、いくつかの既知のスキームのいずれかを使用して決定できる。本明細書で使用されるとき、「Chothia」付番スキームに従って定義されたCDRは、「超可変ループ」とも呼ばれる。

【0203】

例えば、Kabatでは、重鎖可変領域(VH)のCDRアミノ酸残基は、31~35(HCDR1)、50~65(HCDR2)、及び95~102(HCDR3)と付番され、軽鎖可変領域(VL)のCDRアミノ酸残基は、24~34(LCDR1)、50~56(LCDR2)、及び89~97(LCDR3)と付番される。Chothiaでは、VHのCDRアミノ酸は26~32(HCDR1)、52~56(HCDR2)、及び95~102(HCDR3)と付番され、VLのアミノ酸残基は、26~32(LCDR1)、50~52(LCDR2)、及び91~96(LCDR3)と付番される。

【0204】

各々のVH及びVLには通常、3つのCDRと4つのFRが含まれ、アミノ末端からカルボキシ末端へと以下の順序で配置されている: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

【0205】

抗体分子は、ポリクローナルまたはモノクローナル抗体であり得る。

【0206】

本明細書で使用されるとき、「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」という用語は、単一分子組成の抗体分子の調製物を指す。モノクローナル抗体組成物は、特定のエピトープに対して単一の結合特異性及び親和性を示す。モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ技術により、またはハイブリドーマ技術を使用しない方法(例えば、組換え法)により作製することができる。

【0207】

抗体は、組換えにより作製することができ、例えば、ファージディスプレイにより、またはコンビナトリアル法により作製することができる。

【0208】

抗体を産生するためのファージディスプレイ及びコンビナトリアル法は、(例えば、参照により、本明細書にその全ての内容が組み込まれる、Ladner et al., 米国特許第5,223,409号、Kang et al., 国際公開WO92/18619、Dower et al., 国際公開WO91/17271; Winter et al., 国際公開WO92/20791、Markland et al., 国際公開WO92/15679、Breitling et al., 国際公開WO93/01288、McCafferty et al., 国際公開WO92/01047; Garrard et al., 国際公開WO92/09690、Ladner et al., 国際公開WO90/02809、Fuchs et al. (1991) Bio/Technology 9:1370-1372、Hay et al. (1992) Hum Antibod Hybridomas 3:81-85、Huse et al. (1989) Science

10

20

30

40

50

246:1275-1281、Griffiths et al. (1993) EMBO J 12:725-734、Hawkins et al. (1992) J Mol Biol 226:889-896; Clackson et al. (1991) Nature 352:624-628、Gram et al. (1992) PNAS 89:3576-3580、Garrad et al. (1991) Bio/Technology 9:1373-1377、Hoogenboom et al. (1991) Nuc Acid Res 19:4133-4137、及び Barbás et al. (1991) PNAS 88:7978-7982に記載されるように)当該技術分野において公知である。

【0209】

一実施形態では、抗体は完全ヒト抗体(例えば、ヒトの免疫グロブリン配列からの抗体を生成するように遺伝子操作されたマウスで作られた抗体)、または非ヒトの抗体、例えば、げっ歯類(マウスもしくはラット)、ヤギ、霊長類(例えば、サル)、ラクダ抗体である。好ましくは、非ヒト抗体はげっ歯類(マウスまたはラット抗体)である。げっ歯類抗体を作製する方法は、当該技術分野で公知である。

10

【0210】

ヒトモノクローナル抗体は、マウス系ではなく、ヒト免疫グロブリン遺伝子を担持するトランスジェニックマウスを使用して生成できる。目的の抗原で免疫されたこれらのトランスジェニックマウスの脾細胞を使用して、ヒトタンパク質のエピトープに対する特異的な親和性を有するヒトmAbを分泌するハイブリドーマを作製する(例えば、Wood et al.、国際出願WO91/00906、Kucherlapati et al.、PCT出願公開WO91/10741、Lonberg et al.、国際出願WO92/03918、Kay et al.、国際出願92/03917、Lonberg, N. et al. 1994 Nature 368:856-859、Green, L. L. et al. 1994 Nature Genet. 7:13-21、Morrison, S. L. et al. 1994 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855、Bruggeman et al. 1993 Year Immunol 7:33-40、Tuailon et al. 1993 PNAS 90:3720-3724、Bruggeman et al. 1991 Eur J Immunol 21:1323-1326を参照されたい)。

20

【0211】

抗体分子は、可変領域またはその一部、例えば、CDRが非ヒト生物、例えば、ラットまたはマウスにおいて生成されるものであり得る。キメラ抗体、CDR移植抗体、及びヒト化抗体は本発明の範囲内である。非ヒト生物、例えば、ラットまたはマウスで生成され、次いで可変フレームワークまたは定常領域において改変されて、ヒトでの抗原性を低下させる抗体分子は、本発明の範囲内である。

30

【0212】

「実質上ヒト」タンパク質は、中和抗体応答、例えば、ヒト抗マウス抗体(HAMA)応答を実質的に誘発しないタンパク質である。HAMAは、例えば、慢性または再発性の疾患状態の治療において、抗体分子が繰り返し投与される場合など、多くの状況で問題になる可能性がある。HAMA応答は、血清からの抗体クリアランスが増加するため(例えば、Saleh et al., Cancer Immunol. Immunother., 32:180-190(1990)を参照されたい)、及び潜在的なアレルギー反応のため(例えば、LoBuglio et al., Hybridoma, 5:5117-5123(1986)を参照されたい)、抗体の反復投与を潜在的に無効にする可能性がある。

40

【0213】

キメラ抗体は、当該技術分野で公知の組換えDNA技術によって産生することができる(Robinson et al.、国際特許出願公開PCT/US86/02269、Akira, et al. 欧州特許出願第184,187号、Taniguchi, M. 欧州特許出願第171,496号、Morrison et al. 欧州特許出願第173,

50

494号、Neuberger et al. 国際出願WO86/01533、Cabilly et al. 米国特許第4,816,567号、Cabilly et al. 欧州特許出願第125,023号、Better et al. (1988 Science 240:1041-1043)、Liu et al. (1987) PNAS 84:3439-3443、Liu et al., 1987, J. Immunol. 139:3521-3526、Sun et al. (1987) PNAS 84:214-218、Nishimura et al., 1987, Canc. Res. 47:999-1005、Wood et al. (1985) Nature 314:446-449、及びShaw et al., 1988, J. Natl Cancer Inst. 80:1553-1559を参照されたい)。

10

【0214】

ヒト化またはCDR移植抗体は、少なくとも1つまたは2つであるが、一般的には3つ全ての(免疫グロブリン重鎖及び/または軽鎖の)レシピエントCDRがドナーCDRで置きかえられている。抗体は、非ヒトCDRの少なくとも一部と置き換えることができ、またはCDRの一部のみを非ヒトCDRと置き換えることができる。抗原への結合に必要なとされる数のCDRを置き換えるのみでよい。好ましくは、ドナーはげっ歯類の抗体、例えば、ラットまたはマウスの抗体であり、レシピエントはヒトのフレームワークまたはヒトのコンセンサスフレームワークである。典型的には、CDRを提供する免疫グロブリンは「ドナー」と呼ばれ、フレームワークを提供する免疫グロブリンは「アクセプター」と呼ばれる。一実施形態では、ドナー免疫グロブリンは非ヒト(例えば、げっ歯類)である。アクセプターフレームワークは、天然に存在する(例えば、ヒト)フレームワークまたはコンセンサスフレームワーク、またはそれと約85%以上、好ましくは90%、95%、99%またはそれ以上同一の配列である。

20

【0215】

本明細書で使用されるとき、「コンセンサス配列」という用語は、関連配列のファミリーで最も頻繁に発生するアミノ酸(またはヌクレオチド)から形成された配列を指す(例えば、Winnaker, From Genes to Clones (Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany 1987を参照されたい)。タンパク質のファミリーでは、コンセンサス配列の各位置は、ファミリーのその位置で最も頻繁に発生するアミノ酸によって占められている。2つのアミノ酸が同等に頻繁に発生する場合は、どちらもコンセンサス配列に含めることができる。「コンセンサスフレームワーク」は、コンセンサス免疫グロブリン配列のフレームワーク領域を指す。

30

【0216】

抗体分子は、当該技術分野で公知の方法によってヒト化することができる(例えば、参照によりその全ての内容が本明細書に組み込まれる、Morrisson, S.L., 1985, Science 229:1202-1207、Oi et al., 1986, BioTechniques 4:214によるもの、ならびにQueen et al. US5,585,089、US5,693,761、及びUS5,693,762によるものを参照されたい)。

【0217】

ヒト化またはCDR移植抗体分子は、免疫グロブリン鎖の1つ、2つ、または全てのCDRを置き換えることができるCDR移植またはCDR置換によって作製することができる。例えば、参照により全ての内容が本明細書に組み込まれる、米国特許第5,225,539号; Jones et al. 1986 Nature 321:552-525、Verhoeyan et al. 1988 Science 239:1534; Beidler et al. 1988 J. Immunol. 141:4053-4060、Winter USを参照されたい)。Winterは、本発明のヒト化抗体を調製するために使用され得るCDR移植方法(1987年3月26日に出願された英国特許出願GB2188638A、Winter US5,225,539)を記載し、その内容は参照により明示的に本明細書に組み込まれる。

40

50

【0218】

同様に、特定のアミノ酸が置換、欠失、または付加されているヒト化抗体分子も本発明の範囲内である。ドナーからアミノ酸を選択するための基準が、参照によりその全ての内容が本明細書に組み込まれる、US 5,585,089、例えば、US 5,585,089の12~16列、例えば、US 5,585,089の12~16列に記載されている。抗体をヒト化するための他の技術は、1992年12月23日に公開された Padlan et al. EP 519596 A1に記載されている。

【0219】

抗体分子は単鎖抗体であってよい。単鎖抗体 (scFV) は、改変されていてもよい (例えば、Colcher, D. et al. (1999) Ann N Y Acad Sci 880:263-80、及び Reiter, Y. (1996) Clin Cancer Res 2:245-52を参照されたい)。単鎖抗体を二量体化または多量体化して、同一の標的タンパク質の異なるエピトープに対する特異性を有する多価抗体を生成することができる。

【0220】

さらに他の実施形態では、抗体分子は、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD、及びIgEの重鎖定常領域から選択され、特に、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4の (例えば、ヒト) 重鎖定常領域から選択される重鎖定常領域を有する。別の実施形態では、抗体分子は、カッパまたはラムダの、例えば、 (例えば、ヒト) 軽鎖定常領域から選択される軽鎖定常領域を有する。定数領域は、抗体の特性を改変するため (例えば、Fc受容体結合、抗体グリコシル化、システイン残基の数、エフェクター細胞機能、及び/または補体機能の1つ以上を増加または減少させるため) に改変、例えば変異させることができる。一実施形態では、抗体はエフェクター機能を有し、補体を結合できる。別の実施形態では、抗体はエフェクター細胞を動員せず、または補体を結合しない。別の実施形態では、抗体は、Fc受容体に結合する能力が低下しているか、または全くない。例えば、Fc受容体への結合をサポートしないアイソタイプまたはサブタイプ、フラグメントまたはその他の変異体であり、例えば、Fc受容体結合領域が変異または削除されている。

【0221】

抗体定常領域を改変する方法は、当該技術分野で公知である。例えば、細胞上のFcRまたは補体のC1成分などのエフェクターリガンドに対する改変された親和性などの改変された機能を有する抗体は、抗体の定常部分の少なくとも1つのアミノ酸残基を異なる残基に置き換えることによって生成できる (例えば、参照により全ての内容が本明細書に組み込まれる、EP 388151 A1、米国特許第5,624,821号、及び米国特許第5648260号を参照されたい)。改変の同様のタイプは、マウスに適用した場合について説明することができ、または他の種の免疫グロブリンは、これらの機能を低減または排除する。

【0222】

抗体分子は、誘導体化するか、別の機能性分子 (例えば、別のペプチドまたはタンパク質) に連結することができる。本明細書で使用されるとき、「誘導体化」抗体分子は改変されたものである。誘導体化の方法には、蛍光部分、放射性ヌクレオチド、毒素、酵素、またはビオチンなどの親和性リガンドの付加が含まれるが、これらに限定されない。したがって、本発明の抗体分子は、免疫接着分子を含む、本明細書に記載の抗体の誘導体化及び他の改変された形態を含むことが意図されている。例えば、抗体分子は、別の抗体 (例えば、二重特異性抗体またはダイアボディ)、検出可能な薬剤、細胞傷害剤、医薬品、及び/または抗体もしくは抗体部分と別の分子 (ストレプトアビジンコア領域またはポリヒスチジンタグなど) との会合を媒介することができるタンパク質もしくはペプチドなどの1つ以上の他の分子実体に (化学結合、遺伝子融合、非共有会合、その他などによって) 機能的に連結することができる。

【0223】

10

20

30

40

50

1つのタイプの誘導体化抗体分子は、(同一のタイプまたは異なるタイプの、例えば二重特異性抗体を作成するために)2つ以上の抗体を架橋することによって生成される。適切な架橋剤は、適切なスペーサー(例えば、*m*-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル)で区切られた2つの明確に異なる反応性基を含むヘテロ二官能性、またはホモ二官能性(例えば、ジスクシンイミジルスベレート)を含む。このようなリンカーは、Pierce Chemical Company, Rockford, IL 1から入手可能である。

【0224】

多重特異性抗体分子

実施形態では、多重特異性抗体分子は、1つを超える抗原結合部位を含むことができ、異なる部位が異なる抗原に特異的である。実施形態では、多重特異性抗体分子は、同一の抗原上の1つを超える(例えば、2つ以上)のエピトープと結合できる。実施形態では、多重特異性抗体分子は、標的細胞(例えば、がん細胞)に特異的な抗原結合部位及び免疫エフェクター細胞に特異的な異なる抗原結合部位を含む。一実施形態では、多重特異性抗体分子は二重特異性抗体分子である。二重特異性抗体分子は、5つの異なる構造の群、すなわち(i)二重特異性免疫グロブリンG(BsIgG)、(ii)追加の抗原結合部分が付加されたIgG、(iii)二重特異性抗体フラグメント、(iv)二重特異性融合タンパク質、及び(v)二重特異性抗体コンジュゲートに分類することができる。

10

【0225】

BsIgGは、各抗原に対して一価であるフォーマットである。典型的なBsIgGフォーマットには、crossMab、DAF(ツインワン)、DAF(フォーインワン)、DutaMab、DT-IgG、ノブインホール共通LC、ノブインホールアセンブリ、電荷ペア、Fabアーム交換、SEEDbody、triomab、LUZ-Y、Fcab、*-*ボディ、直交Fabが含まれるがこれらに限定されない。Spiesset al. Mol. Immunol. 67(2015):95-106を参照されたい。例示的なBsIgGには、抗CD3アーム及び抗EPCAMアームを含むカツマキソマブ(Fresenius Biotech, Trion Pharma, Neopharm)、ならびに、CD3及びHER2を標的とするエルツマキソマブ(Neovi Biotech, Fresenius Biotech)が含まれる。いくつかの実施形態では、BsIgGはヘテロ二量体化のために操作された重鎖を含む。例えば、重鎖は「ノブイントゥホール」戦略、SEEDプラットフォーム、共通重鎖(例えば、*-*ボディ)、及びヘテロ二量体Fc領域の使用を使用して、ヘテロ二量体化のために操作できる。Spiesset al. Mol. Immunol. 67(2015):95-106を参照されたい。BsIgGにおけるホモ二量体の重鎖対形成を回避するために使用されてきた戦略には、ノブインホール、デュオボディ、アズィメトリック、電荷ペア、HA-TF、SEEDbody、及び差動プロテインAアフィニティが含まれる。同文献を参照されたい。BsIgGは、異なる宿主細胞での成分抗体の個別の発現と、それに続くBsIgGへの精製/アセンブリによって生成できる。BsIgGはまた、単一の宿主細胞における成分抗体の発現により産生され得る。BsIgGは、アフィニティークロマトグラフィーなどを使用して、例えば、プロテインA及び連続的pH溶出を使用して精製できる。

20

30

40

【0226】

追加の抗原結合部分が付加されたIgGは、二重特異性抗体分子の別のフォーマットである。例えば、単一特異性IgGは、例えば重鎖または軽鎖のいずれかのN末端またはC末端において、単一特異性IgGなどに追加の抗原結合ユニットを付加することにより、二重特異性を有するように操作できる。例示的な追加の抗原結合ユニットには、単一ドメイン抗体(例えば、可変重鎖または可変軽鎖)、操作されたタンパク質足場、及び対形成抗体可変領域(例えば、単鎖可変フラグメントまたは可変フラグメント)が含まれる。同文献を参照されたい。付加されたIgGフォーマットの例には、二重可変ドメインIgG(DVD-Ig)、IgG(H)-scFv、scFv-(H)IgG、IgG(L)-scFv、scFv-(L)IgG、IgG(L,H)-Fv、IgG(H)-V、V(

50

H) - IgG、IgG(L) - V、V(L) - IgG、KIH IgG - scFab、2 scFv - IgG、IgG - 2 scFv、scFv4 - Ig、ザイボディ、及びDVI - IgG (フォーインワン) が含まれる。Spiess et al. Mol. Immunol. 67 (2015) : 95 - 106 を参照されたい。IgG - scFv の例は、IGF - 1R 及びHER3 と結合するMM - 141 (Merrimack Pharmaceuticals) である。DVD - Ig の例には、IL - 1 及びIL - 1 と結合するABT - 981 (AbbVie)、ならびにTNF 及びIL - 17A と結合するABT - 122 (AbbVie) が含まれる。

【0227】

二重特異性抗体フラグメント (BsAb) は、抗体定常領域の一部または全てを欠く二重特異性抗体分子のフォーマットである。例えば、一部のBsAbはFc領域を欠く。実施形態では、二重特異性抗体フラグメントには、単一の宿主細胞でのBsAbの効率的な発現を可能にするペプチドリンカーによって接続された重鎖及び軽鎖領域が含まれる。例示的な二重特異性抗体フラグメントには、ナノボディ、ナノボディ - HAS、BiTE、ダイアボディ、DART、TandAb、scダイアボディ、scダイアボディ - CH3、ダイアボディ - CH3、三重ボディ、ミニ抗体、ミニボディ、TriBiミニボディ、scFv - CH3 KIH、Fab - scFv、scFv - CH - CL - scFv、F(ab')₂、F(ab')₂ - scFv2、scFv - KIH、Fab - scFv - Fc、4価HCAb、scダイアボディ - Fc、ダイアボディ - Fc、タンデムscFv - Fc、及び細胞内抗体が含まれるがこれらに限定されない。同文献を参照されたい。例えば、BiTEフォーマットはタンデムscFvを含み、成分scFvはT細胞上のCD3及びがん細胞上の表面抗原に結合する。

【0228】

二重特異性融合タンパク質は、例えば、追加の特異性及び/または機能性を付加するために他のタンパク質に連結された抗体フラグメントを含む。二重特異性融合タンパク質の例は、HLA提示ペプチドを認識する親和性成熟T細胞受容体に連結された抗CD3 scFvを含むimmTACである。実施形態では、ドックアンドロック (DNL) 法を使用して、より高い価数の二重特異性抗体分子を生成できる。同様に、アルブミン結合タンパク質またはヒト血清アルブミンへの融合は、抗体フラグメントの血清半減期を延長することができる。同文献を参照されたい。

【0229】

実施形態では、化学的コンジュゲーション、例えば、抗体及び/または抗体フラグメントの化学的コンジュゲーションを使用して、BsAb分子を作成することができる。同文献を参照されたい。例示的な二重特異性抗体コンジュゲートには、低分子量薬物が各Fabアームまたは抗体もしくはそのフラグメントの単一の反応性リジンに部位特異的にコンジュゲートされるCovX - ボディフォーマットが含まれる。実施形態では、コンジュゲーションは低分子量薬物の血清半減期を改善する。例示的なCovX - ボディはCVX - 241 (NCT01004822) であり、これはVEGFまたはAng2のいずれかを阻害する2つの短いペプチドにコンジュゲートした抗体を含む。同文献を参照されたい。

【0230】

抗体分子は、宿主系において、少なくとも1つ以上の成分の組換え発現などによって産生することができる。例示的な宿主系には、真核細胞 (例えば、哺乳動物細胞、例えば、CHO細胞、または昆虫細胞、例えば、SF9もしくはS2細胞) 及び原核細胞 (例えば、E. coli) が含まれる。二重特異性抗体分子は、異なる宿主細胞での成分の個別の発現と、それに続く精製/構築によって生成できる。代替的に、抗体分子は、単一の宿主細胞における成分の発現により産生され得る。二重特異性抗体分子の精製は、例えばプロテインA及び連続的なpH溶出を使用するアフィニティークロマトグラフィーなどの様々な方法により行うことができる。他の実施形態では、親和性タグ、例えば、ヒスチジン含有タグ、mycタグ、またはストレプトアビジンタグを精製に使用することができる。

【0231】

C S F 1 Rを標的化する多重特異性抗体分子

一態様では、本明細書で開示されるのは、C S F 1 R結合部分を含む多重特異性抗体分子である。いくつかの実施形態では、C S F 1 R結合部分は抗C S F 1 R抗体分子を含む。例示的な抗C S F 1 R抗体分子配列は、W O 2 0 0 9 0 2 6 3 0 3 A 1、W O 2 0 1 1 1 2 3 3 8 1 A 1、W O 2 0 1 6 2 0 7 3 1 2 A 1、W O 2 0 1 6 1 0 6 1 8 0 A 1、U S 2 0 1 6 0 2 2 0 6 6 9 A 1、U S 2 0 1 6 0 3 2 6 2 5 4 A 1、W O 2 0 1 3 1 6 9 2 6 4 A 1、W O 2 0 1 3 0 8 7 6 9 9 A 1、W O 2 0 1 1 1 4 0 2 4 9 A 2、W O 2 0 1 1 1 3 1 4 0 7 A 1、W O 2 0 1 1 1 2 3 3 8 1 A 1、W O 2 0 1 1 1 0 7 5 5 3 A 1、及びW O 2 0 1 1 0 7 0 0 2 4 A 1に記載され、これらは全て、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、C S F 1 R結合部分は、エマクツズマブのC D R（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、もしくは6つ全てのC D R）、V H、V L、重鎖もしくは軽鎖配列、またはそれと実質的に同一である（例えば、それと95%~99.9%同一であるか、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）配列を含む。いくつかの実施形態では、C S F 1 R結合部分は、カピラリズムブのC D R（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、もしくは6つ全てのC D R）、V H、V L、重鎖もしくは軽鎖配列、またはそれと実質的に同一な（例えば、それと95%~99.9%同一、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）配列を含む。いくつかの実施形態では、C S F 1 R結合部分は、A M G 8 2 0のC D R（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、もしくは6つ全てのC D R）、V H、V L、重鎖もしくは軽鎖配列、またはそれと実質的に同一な（例えば、それと95%~99.9%同一、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）配列を含む。いくつかの実施形態では、C S F 1 R結合部分は、I M C - C S 4のC D R（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、もしくは6つ全てのC D R）、V H、V L、重鎖もしくは軽鎖配列、またはそれと実質的に同一な（例えば、それと95%~99.9%同一、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）配列を含む。いくつかの実施形態では、C S F 1 R結合部分は、表1に開示されるV HまたはV Lのアミノ酸配列、表1に開示されるV HまたはV Lのアミノ酸配列のC D R、またはそれらと実質的に同一の配列を含む。

【 0 2 3 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1】

表 1 例示的な抗CSF1R抗体分子配列

配列番号	説明	配列
配列番号48	α mCSF1R VH	QVQLQQSGAELVKPGSSVKISCKASG YTFTSNFMHWIKQQPGNGLEWIGWIY PGDGDTEYNQKFNGKATLTADKSSST AYMQLSSLTSEDSAVYFCAVNYGGYV LDAWGQGASVTVSS
配列番号50	α mCSF1R VL	EIVLTQSPPTMAASPGEKVTITCRAS SSTNYMSWYQQKSGASPKPWIIYETSK LASGVPDRFSGSGSGTSSYFTISSME TEDAATYYCHQWSSTPLTFGSGTKLE IK
配列番号66	α hCSF1RエマクツズマブVH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCCKASG YTFTSYDISWVRQAPGQGLEWGMGVIW TDGGTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTA YMELRSLRSDDTAVYYCARDQRLYFD VWGQGTTVTVSS
配列番号67	α hCSF1RエマクツズマブVL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRAS EDVNTYVSWYQQKPGKAPKLLIYAAS NRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSFSYPTFGGQGTKLE IK
配列番号69	α hCSF1RカビラリズマブVH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCCKASG YTFTDNYMIWVRQAPGQGLEWMDIN PYNGGTTFNQKFKGRVTITADKSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARESPYFS NLYVMDYWGQGTLLVTVSS
配列番号70	α hCSF1RカビラリズマブVL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKAS QSDYDGDNYMNWYQQKPGQAPRLLI YAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLT

10

20

30

【表 1 - 2】

	ISSLEPEDFAVYYCHLSNEDLSTFGG GTKVEIK
--	---------------------------------------

40

【0233】

CCR2を標的とする多重特異性抗体分子

一態様では、本明細書で開示されるのは、CCR2結合部分を含む多重特異性抗体分子である。例示的な抗CCR2抗体は、本明細書ならびにWO2013192596A2、WO2010021697A2、WO2001057226A1、及びWO1997031949A1に記載され、これらは全て、参照により、その全体が本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、CCR2結合部分は、プロザリズマブのCDR（例えば、

50

1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、もしくは6つ全てのCDR)、VH、VL、重鎖もしくは軽鎖配列、またはそれと実質的に同一な(例えば、それと95%~99.9%同一、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変(例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換)を有する)配列を含む。いくつかの実施形態では、CCR2結合部分は、表2に開示されるVHまたはVLのアミノ酸配列、表2に開示されるVHまたはVLのアミノ酸配列のCDR、またはそれらと実質的に同一の配列を含む。

【0234】

【表2-1】

表2 例示的な抗CCR2抗体分子配列

配列番号	説明	配列
配列番号44	α CCR2 MC12 VH	QVQLQESGPGLVQPSQTLSSLTCTVS GFSLTDFSVHWVRQPPGKGLEWMGR IRSEGNTDYN SALKSRLSISRDTSK SQVFLKMNSLQTEDTAIYFCTRGDI LGFGYWGQGVMVTVSS
配列番号45	α CCR2 MC12 VL	DIVMTQSPLSVSVTPGESASISCRS SKSLLHFKGITFVYWYLQKPGQSPQ LLIFRMS S LASGVPDRFSGSGSETD FTLKISRVEAEDVGTYYCGQLLENP YTFGAGTKLELK
配列番号54	α hCCR2 プロザリズ マブVH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSAYAMNWRQAPGKGLEWVGR IRTKNNNYATYYADSVKDRFTISR DSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTT FYGNGVWGQGTLLVTVSS
配列番号57	α hCCR2 プロザリズ マブVL	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKS SQSLLDSDGKTF LNWFQQRPGQSPR RLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTD FTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFP YTFGQGTREIK

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

配列番号 59	α h CCR 2 D1 VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTGYHMHWRQAPGQGLEWMGW INPNSGVTKYAQKFQGRVTMTRDTS INTAYMELSLRFRD DTDVYYCATGG FGYWGEGLVTVSS	
配列番号 60	α h CCR 2 D1 VL	LPVLTQPPSVSKGLRQTATLTCTGN SNNVGNQGAAWLQQHQGQPPKLLSY RNHNRP SGVSERFSPSRSGDTSSLT ITGLQPEDEADYYCLAWDSSLRAFV FGTGTKLTVL	10
配列番号 62	α h CCR 2 42G 7 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFSSYYMHWRQAPGQGLEWMGI INPSGGNTSYAQKFQGRVTMTRDTS TSTVYMELESSLRSEDTAVYYCARGG YQLPHGRARAFDMWGQGTMTVTVSS	
配列番号 63	α h CCR 2 42G 7 VL	AIRMTQSPLSLPVTLGQPASISCTS SQSLVYRDGTTYLNWFQQRPGQSPR RLIYKVSNRDSGVPDRFTGSGSGTT FTLTISRVEAEDVGIYYCMQGTHWP LTFGQGTKVEIK	20
配列番号 64	α h CCR 2 43G 12 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVAS GFTFSDYWMSWVRQAPGKGLEWVAN IKKDGSVNYYVDSVKGRFTISRDNA KNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRFD YWGQGT L V T V S S	30
配列番号 65	α h CCR 2 43G 12 VL	QAGLTQPPSVSKGLRQTATLTCTGN SNNVGNQGAAWLQQHQGHPPKLLFY RNNNRASGISERLSASRSGNTASLT ITGLQPEDEADYYCLTWDSSSL SVVV FGGGTKLTVL	

【0235】

PD-L1を標的とする多重特異性抗体分子

一態様では、本明細書で開示されるのは、PD-L1結合部分を含む多重特異性抗体分子である。いくつかの実施形態では、PD-L1結合部分は抗PD-L1抗体分子を含む。例示的な抗PD-L1抗体分子配列は、WO2013079174、WO2010077634、WO2007/005874、及びUS20120039906に記載され、これらは全て、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、PD-L1結合部分は、デュルバルマブのCDR（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、もしくは6つ全てのCDR）、VH、VL、重鎖もしくは軽鎖配列、またはそれと実質的に同一な（例えば、それと95%～99.9%同一、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変（例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換）を有する）配列を含む。いくつかの実施形態では、PD-L1結合部分は、アテゾリズマブのCDR（例えば、1つ、2つ、3つ、4

40

50

つ、5つ、もしくは6つ全てのCDR)、VH、VL、重鎖もしくは軽鎖配列、またはそれと実質的に同一な(例えば、それと95%~99.9%同一、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変(例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換)を有する)配列を含む。いくつかの実施形態では、PD-L1結合部分は、アベルマブのCDR(例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、もしくは6つ全てのCDR)、VH、VL、重鎖もしくは軽鎖配列、またはそれと実質的に同一な(例えば、それと95%~99.9%同一、もしくは、少なくとも1つのアミノ酸改変であるが、5つ、10個、もしくは15個を超えない改変(例えば、置換、欠失、もしくは挿入、例えば、保存的置換)を有する)配列を含む。いくつかの実施形態では、PD-L1結合部分は、表3に開示されるVHまたはVLのアミノ酸配列、表3に開示されるVHまたはVLのアミノ酸配列のCDR、またはそれらと実質的に同一の配列を含む。

【0236】

【表3-1】

表3 例示的な抗PD-L1抗体分子配列

配列番号	説明	配列
配列番号109	αPD-L1デュルバルマブVH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVAN IKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDN KNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREG GWFGEIAFDYWGQGTLVTVSS
配列番号110	αPD-L1デュルバルマブVL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRA SQRVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIY DASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLT ISRLEPEDFAVYYCQQYGSLLPWTFG QGTKVEIK
配列番号111	αPD-L1アテゾリズマブVH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAW ISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTS KNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRH WPGGFDYWGQGTLVTVSS
配列番号112	αPD-L1アテゾリズマブVL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRA SQDVSTAVAWYQQKPKAPKLLIYS ASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQ GTKVEIK
配列番号113	αPD-L1アベルマブVH	EVQLLESVGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSS IYPSGGITFYADTVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIK LGTVTTVDYWGQGTLVTVSS

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

配列番号 114	α PD-L 1アベルマ ブVL	QSAL TQPASVSGSPGQSITISCTGT SSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLM I YDVSNRPSGVS NRFSGSKSGNTASL TISGLQAEDEADYYC S SYTSSSTRV FGTGTKVTVL
-------------	-------------------------------	---

【0237】

CDR - 移植足場

実施形態では、抗体分子は、CDR - 移植足場ドメインである。実施形態では、足場ドメインは、フィブロネクチンドメイン、例えば、フィブロネクチンタイプIIIDメインに基づく。フィブロネクチンタイプIII (Fn3) ドメインの全体的な折り畳みは、最小の機能的抗体フラグメントである、抗体の重鎖の可変領域の折り畳みと密接に関連する。Fn3の末端には3つのループがあり、BC、DE、及びFGループの位置は、抗体のVHドメインのCDR1、2、及び3の位置にほぼ対応している。Fn3はジスルフィド結合を有さず、したがって、Fn3は、抗体及びそのフラグメントとは異なり、還元条件下で安定している（例えば、WO98/56915、WO01/64942、WO00/34784を参照されたい）。Fn3ドメインは、本明細書に記載の抗原/マーカー/細胞に結合するドメインを選択するために、（例えば、本明細書に記載のCDRまたは超可変ループを使用して）改変され得るか、または変更され得る。

【0238】

実施形態では足場ドメイン、例えば、折り畳まれたドメインは、抗体、例えば、モノクローナル抗体の重鎖可変領域から3つのベータ鎖を除去することによって作製された「ミニボディ」足場に基づく（例えば、Tramontano et al., 1994, J Mol. Recognit. 7: 9; 及びMartin et al., 1994, EMBO J. 13: 5303-5309を参照されたい）。「ミニボディ」を使用して、2つの超可変ループを提示することができる。実施形態では、足場ドメインはV様ドメイン（例えば、Coia et al. WO99/45110を参照されたい）、または74残基の、2つのジスルフィド結合によって結合された6つの鎖のベータシートサンドイッチである、テングミスタチンに由来するドメイン（例えば、McConnell and Hoess, 1995, J Mol. Biol. 250: 460を参照されたい）である。例えば、テングミスタチンのループは、本明細書に記載のマーカー/抗原/細胞に結合するドメインを選択するために、（例えば、CDRまたは超可変ループを使用して）改変され得るか、または変更され得る。別の例示的な足場ドメインは、CTLA-4の細胞外ドメインに由来するベータサンドイッチ構造である（例えば、WO00/60070を参照されたい）。

【0239】

他の例示的な足場ドメインには、T細胞受容体、MHCタンパク質、細胞外ドメイン（例えば、フィブロネクチンタイプIIIリピード、EGFリピード）、プロテアーゼ阻害剤（例えば、Kunitzドメイン、エコチン、BPTIなど）、TPRリピード、トリフォイル構造、ジンクフィンガードメイン、DNA結合タンパク質、特に単量体DNA結合タンパク質、RNA結合タンパク質、酵素、例えば、プロテアーゼ（特に不活性化されたプロテアーゼ）、RNase、シャペロン、例えば、チオレドキシン、熱ショックタンパク質、細胞内シグナル伝達ドメイン（SH2及びSH3ドメインなど）が含まれるがこれらに限定されない。例えば、参照により本明細書に組み込まれるUS20040009530及びUS7,501,121を参照されたい。

【0240】

実施形態では、足場ドメインは、例えば次の基準の1つ以上によって評価され、選択される：（1）アミノ酸配列、（2）複数の相同ドメインの配列、（3）三次元構造、及び

10

20

30

40

50

／または(4)一定範囲のpH、温度、塩分濃度、有機溶媒、酸化剤濃度にわたる安定性データ。実施形態では、足場ドメインは小さく、安定したタンパク質ドメイン、例えば、100、70、50、40、または30アミノ酸未満のタンパク質である。ドメインは、1つ以上のジスルフィド結合を含み得るか、金属、例えば、亜鉛をキレート化し得る。

【0241】

本明細書で定義される多機能性分子の例示的な構造を以下に記載する。例示的な構造は、以下にさらに記載される：Weidle U et al. (2013) The Intriguing Options of Multispecific Antibody Formats for Treatment of Cancer. *Cancer Genomics & Proteomics* 10: 1-18 (2013)、及び Spiess C et al. (2015) Alternative molecular formats and therapeutic applications for bispecific antibodies. *Molecular Immunology* 67: 95-106)。これらそれぞれの全ての内容は参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0242】

ヘテロ二量体化抗体分子

ヘテロ二量体化二重特異性抗体は、2つの結合アームが異なる抗原を認識する天然のIgG構造に基づく。定義された一価(及び同時)の抗原結合を可能にするIgG由来のフォーマットは、重鎖のヘテロ二量化を強制的に行い、軽鎖のミスペアリングを最小限に抑える技術(例えば、共通の軽鎖)と組み合わせて生成される。強制重鎖ヘテロ二量化は、例えば、ノブインホールまたは鎖交換操作ドメイン(SEED)を使用して取得できる。

20

【0243】

ノブインホール

US5,731,116、US7,476,724、及び Ridgway, J. et al. (1996) *Prot. Engineering* 9(7): 617-621に記載されるようなノブインホールは、広く以下を含む：(1)一方または両方の抗体のCH3ドメインを変異させてヘテロ二量化を促進する、(2)ヘテロ二量化を促進する条件下で変異抗体を組み合わせる。「ノブ」または「突起」は、典型的には、親抗体の小さなアミノ酸を大きなアミノ酸で置き換える(例えば、T366YまたはT366W)ことによって作製され、「ホール」または「空洞」は、親抗体の大きな残基を小さなアミノ酸で置き換える(例えば、Y407T、T366S、L368A、Y407V)ことによって作製され、これらは、Eu付番システムに基づいて付番されている。

30

【0244】

鎖交換操作ドメイン(SEED)

SEEDは、IgG1とIgA間の配列交換に基づいて、優先的にヘテロ二量体化する非同一の鎖を作製する。SEED CH3ドメイン内のヒトIgA及びIgGからの代替配列は、AG及びGAと呼ばれる2つの非対称だが相補的なドメインを生成する。SEED設計は、AG及びGA SEED CH3ドメインのホモ二量体化を嫌う一方で、AG/GAヘテロ二量体の効率的な生成を可能にする。

40

【0245】

共通軽鎖及びCrossMab

二重特異性IgGの均質な調製物を生成するために、軽鎖のミスペアリングを回避する必要がある。これを達成する1つの方法は、共通軽鎖原理を使用すること、すなわち、1つの軽鎖を共有しているが、個別の特異性を有する2つの結合因子を組み合わせることである。別の選択肢は、二重特異性抗体の半分のFabのCH1ドメインとCLドメインを交換することにより、非特異的なL鎖のミスペアリングを回避するCrossMab技術である。このようなクロスオーバーバリエーションは、結合の特異性と親和性を保持するが、2つのアームが非常に異なるため、L鎖のミスペアリングが防止される。

【0246】

50

抗体ベースの融合体

抗体のN末端またはC末端に付加された追加の結合実体を含む様々なフォーマットを生成できる。一本鎖またはジスルフィドで安定化されたFvまたはFabとのこれらの融合により、各抗原に対して二価の結合特異性を有する四価分子が生成される。scFv及びscFabとIgGの組み合わせにより、3つ以上の異なる抗原を認識できる分子の生成が可能になる。

【0247】

抗体 - Fab融合体

抗体 - Fab融合体は、第1の標的に対する従来の抗体と、抗体重鎖のC末端に融合した第2の標的に対するFabとを含む二重特異性抗体である。通常、抗体とFabは共通の軽鎖を有する。抗体融合体は、(1)標的融合のDNA配列を操作すること、(2)標的DNAを適切な宿主細胞にトランスフェクトして融合タンパク質を発現させることによって生成できる。Coloma, J. et al. (1997) Nature Biotech 15:159に記載されるように、抗体 - scFv融合体は、CH3ドメインのC末端とscFvのN末端の間の(Gly) - Serリンカーによって連結できるようである。

10

【0248】

抗体 - scFv融合体

抗体 - scFv融合体は、従来の抗体と、抗体重鎖のC末端に融合した固有の特異性のscFvとを含む二重特異性抗体である。scFvは、直接またはリンカーペプチドを介して、scFvの重鎖を介してC末端に融合できる。抗体融合体は、(1)標的融合のDNA配列を操作すること、(2)標的DNAを適切な宿主細胞にトランスフェクトして融合タンパク質を発現させることによって生成できる。Coloma, J. et al. (1997) Nature Biotech 15:159に記載されるように、抗体 - scFv融合体は、CH3ドメインのC末端とscFvのN末端の間の(Gly) - Serリンカーによって連結できるようである。

20

【0249】

可変ドメイン免疫グロブリンDVD

関連するフォーマットは、デュアル可変ドメイン免疫グロブリン(DVD)であり、これは、短いリンカー配列によってVドメインのN末端にある第2の特異性の場所のVHドメイン及びVLドメインからなる。

30

【0250】

Fc含有実体(ミニ抗体)

Fc含有実体(ミニ抗体とも呼ばれる)は、scFvを、特異性の異なる抗体の定常重領域ドメイン3のC末端(CH3 - scFv)及び/またはヒンジ領域(scFv - hinge - Fc)に融合することで生成できる。IgGのCH3ドメインのC末端に融合したジスルフィド安定化可変領域(ペプチドリンカーを有さない)を有する3価実体も作製できる。

【0251】

Fc非含有二重特異性体

Fc非含有二重特異性体は、一般にFc含有実体よりもサイズが小さいことを特徴とする。このクラスの一般的な二重特異性体には、Fab - scFv₂及びFab - scFv分子が含まれる。このクラスには、例えば、BiTE(二重特異性T細胞エンゲージャー)、ダイアボディ、TandAb(四価タンデム抗体)、及びDART(二重親和性ターゲット分子)も含まれる。BiTEは、柔軟なリンカーペプチドを介して2つのscFvを融合することによって作製される。ダイアボディは、2つの異なる抗体からの2つのVHドメインと2つのVLドメインからなる。VH及びVLドメインのみとの対形成を可能にする短いリンカーペプチドでドメインを接続することにより、別の鎖の相補ドメインとのみ相互作用させることができる。第2の結合因子のVLに連結された第1の結合因子のVHは、第1の抗体のVLに連結された第2の抗体のVHと共発現する。Tand

40

50

A b分子は、分子内対形成を防止する方向に4つの抗体可変H鎖とL鎖からなるタンパク質の機能的二量体化によって生成される。DARTは、ダイアボディと同様の設計概念を適用するジスルフィド結合によって安定化された実体である。

【0252】

カッパ/ラムダフォーマット

ラムダ軽鎖ポリペプチド及びカッパ軽鎖ポリペプチドを含む多重特異性分子（例えば、多重特異性抗体分子）は、ヘテロ二量体化を可能にするために使用できる。ラムダ軽鎖ポリペプチド及びカッパ軽鎖ポリペプチドを含む二重特異性抗体分子を生成する方法は、2017年9月22日に出版されたPCT/US2017/53053に開示されており、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0253】

実施形態では、多重特異性分子には、多重特異性抗体分子、例えば、2つの結合特異性を含む抗体分子、例えば、二重特異性抗体分子が含まれる。多重特異性抗体分子には以下が含まれる：

- 第1のエピトープに特異的なラムダ軽鎖ポリペプチド1 (LLCP1)、
- 第1のエピトープに特異的な重鎖ポリペプチド1 (HCP1)、
- 第2のエピトープに特異的なカッパ軽鎖ポリペプチド1 (KLC P2)、
- 第2のエピトープに特異的な重鎖ポリペプチド1 (HCP2)。

【0254】

「ラムダ軽鎖ポリペプチド1 (LLCP1)」は、その用語が本明細書で使用されるとき、同族の重鎖可変領域と組み合わせると、そのエピトープ及びHCP1との複合体に対する特異的な結合を媒介できるようにするのに十分な軽鎖(LC)配列を含むポリペプチドを指す。一実施形態では、それは、CH1領域の全てまたはフラグメントを含む。一実施形態では、LLCP1は、LC-CDR1、LC-CDR2、LC-CDR3、FR1、FR2、FR3、FR4、及びCH1、またはそれらのエピトープ及びHCP1との複合体に対する特異的な結合を媒介するのに十分なそれらからの配列を含む。LLCP1は、そのHCP1とともに、第1のエピトープに対する特異性を提供する(KLC P2は、そのHCP2とともに、第2のエピトープに対する特異性を提供する)。本明細書の他の箇所に記載されているように、LLCP1はHCP2よりもHCP1に対して高い親和性を有する。

20

【0255】

「カッパ軽鎖ポリペプチド2 (KLC P2)」は、その用語が本明細書で使用されるとき、同族の重鎖可変領域と組み合わせると、そのエピトープ及びHCP2との複合体に対する特異的な結合を媒介できるようにするのに十分な軽鎖(LC)配列を含むポリペプチドを指す。一実施形態では、それは、CH1領域の全てまたはフラグメントを含む。一実施形態では、KLC P2は、LC-CDR1、LC-CDR2、LC-CDR3、FR1、FR2、FR3、FR4、及びCH1、またはそれらのエピトープ及びHCP2との複合体に対する特異的な結合を媒介するのに十分なそれらからの配列を含む。KLC P2は、そのHCP2とともに、第2のエピトープに対する特異性を提供する(LLCP1は、そのHCP1とともに、第1のエピトープに対する特異性を提供する)。

30

40

【0256】

「重鎖ポリペプチド1 (HCP1)」は、その用語が本明細書で使用されるとき、同族のLLCP1と組み合わせると、そのエピトープ及びHCP1との複合体に対する特異的な結合を媒介できるようにするのに十分な重鎖(HC)配列、例えばHC可変領域配列を含むポリペプチドを指す。一実施形態では、それは、CH1領域の全てまたはフラグメントを含む。一実施形態では、それは、CH2及び/またはCH3領域の全てまたはフラグメントを含む。一実施形態では、HCP1は、HC-CDR1、HC-CDR2、HC-CDR3、FR1、FR2、FR3、FR4、CH1、CH2、及びCH3、またはそれらからの以下をするのに十分な配列を含む：(i)そのエピトープ及びLLCP1との複合体の特異的な結合を仲介する、(ii)本明細書に記載されるように、KLC P2ではな

50

く、LLCP1と優先的に複合体化する、(iii)本明細書に記載されるように、HCP1の別の分子ではなく、HCP2と優先的に複合体化する。HCP1は、そのLLCP1とともに、第1のエピトープに対する特異性を提供する(KLCP2は、そのHCP2とともに、第2のエピトープに対する特異性を提供する)。

【0257】

「重鎖ポリペプチド2(HCP2)」は、その用語が本明細書で使用されるとき、同族のLLCP1と組み合わせると、そのエピトープ及びHCP1との複合体に対する特異的な結合を媒介できるようになるのに十分な重鎖(HC)配列、例えばHC可変領域配列を含むポリペプチドを指す。一実施形態では、それは、CH1領域の全てまたはフラグメントを含む。一実施形態では、それは、CH2及び/またはCH3領域の全てまたはフラグメントを含む。一実施形態では、HCP1は、HC-CDR1、HC-CDR2、HC-CDR3、FR1、FR2、FR3、FR4、CH1、CH2、及びCH3、またはそれらからの以下をするのに十分な配列を含む：(i)そのエピトープ及びKLCP2との複合体の特異的な結合を仲介する、(ii)本明細書に記載されるように、LLCP1ではなく、KLCP2と優先的に複合体化する、(iii)本明細書に記載されるように、HCP2の別の分子ではなく、HCP1と優先的に複合体化する。HCP2は、そのKLCP2とともに、第2のエピトープに対する特異性を提供する(LLCP1は、そのHCP1とともに、第1のエピトープに対する特異性を提供する)。

10

【0258】

本明細書に開示される多重特異性抗体分子のいくつかの実施形態では、LLCP1はHCP2よりもHCP1に対して高い親和性を有する、及び/またはKLCP2はHCP1よりもHCP2に対して高い親和性を有する。

20

【0259】

実施形態では、LLCP1のHCP1に対する親和性は、そのHCP2に対する親和性よりも十分に大きいため、事前に選択した条件下で、例えば、水性緩衝液中、例えば、pH7、生理食塩水中、例えば、pH7、または生理学的条件下で、多重特異性抗体分子の少なくとも75%、80%、90%、95%、98%、99%、99.5%、または99.9%は、HCP1と複合体または相互作用したLLCP1を有する。

【0260】

本明細書に開示される多重特異性抗体分子のいくつかの実施形態では、HCP1はHCP1の第2の分子よりもHCP2に対して大きい親和性を有する、及び/またはHCP2はHCP2の第2の分子よりもHCP1に対して大きい親和性を有する。

30

【0261】

実施形態では、HCP1のHCP2に対する親和性は、そのHCP1の第2の分子に対する親和性よりも十分に大きいため、事前に選択した条件下で、例えば、水性緩衝液中、例えば、pH7、生理食塩水中、例えば、pH7、または生理学的条件下で、多重特異性抗体分子の少なくとも75%、80%、90%、95%、98%、99%、99.5%、または99.9%は、HCP2と複合体または相互作用したHCP1を有する。

【0262】

別の態様では、本明細書に開示されるのは、多重特異性抗体分子を作製または生成するための方法である。方法は、(i)~(iv)が会合する条件下で、(i)第1の重鎖ポリペプチド(例えば、第1の重鎖可変領域(第1のVH)、第1のCH1、第1の重鎖定常領域(例えば、第1のCH2、第1のCH3、またはその両方)のうちの1つ、2つ、3つまたは全てを含む重鎖ポリペプチド)を提供することと、(ii)第2の重鎖ポリペプチド(例えば、第2の重鎖可変領域(第2のVH)、第2のCH1、第2の重鎖定常領域(例えば、第2のCH2、第2のCH3、またはその両方)のうちの1つ、2つ、3つまたは全てを含む重鎖ポリペプチド)を提供することと、(iii)第1の重鎖ポリペプチド(例えば、第1のVH)と優先的に会合するラムダ鎖ポリペプチド(例えば、ラムダ鎖可変領域(VL)、ラムダ鎖定常領域(VL))、

40

50

またはその両方)を提供すること、及び

(i v) 第 2 の重鎖ポリペプチド(例えば、第 2 の V H)と優先的に会合するカップ鎖ポリペプチド(例えば、ラムダ鎖可変領域(V L)、ラムダ鎖定常領域(V L)、またはその両方)を提供すること

を、含む。

【 0 2 6 3 】

実施形態では第 1 及び第 2 の重鎖ポリペプチドは、ヘテロ二量化を促進する F c 界面を形成する。

【 0 2 6 4 】

実施形態では、(i) ~ (i v) (例えば、(i) ~ (i v) をコードする核酸)は、
単一の細胞、例えば、単一の哺乳動物細胞、例えば、C H O 細胞に導入される。実施形態では、(i) ~ (i v) は細胞で発現する。

10

【 0 2 6 5 】

実施形態では、(i) ~ (i v) (例えば、(i) ~ (i v) をコードする核酸)は、異なる細胞、例えば、異なる哺乳動物細胞、例えば、2 つ以上の C H O 細胞に導入される。実施形態では、(i) ~ (i v) は細胞で発現する。

【 0 2 6 6 】

一実施形態では、方法は、ラムダ及び/またはカップ特異的精製、例えば、アフィニティークロマトグラフィーを使用して、細胞発現抗体分子を精製することをさらに含む。

【 0 2 6 7 】

実施形態では、方法は、細胞発現した多重特異性抗体分子を評価することをさらに含む。例えば、精製された細胞発現多重特異性抗体分子は、質量分析を含む、当該技術分野で公知の技術によって分析することができる。一実施形態では、精製された細胞発現抗体分子は切断され、例えば、パパインで消化されて F a b 部分を生成し、質量分析を使用して評価される。

20

【 0 2 6 8 】

実施形態では、方法は、正しく対形成されたカップ/ラムダ多重特異性、例えば、二重特異性の抗体分子を、例えば、少なくとも 7 5 %、8 0、9 0、9 5、9 8、9 9、9 9 . 5、または 9 9 . 9 % の高収率で生成する。

【 0 2 6 9 】

他の実施形態では、多重特異性、例えば、二重特異性の抗体分子は、
(i) 第 1 の重鎖ポリペプチド(H C P 1) (例えば、第 1 の重鎖可変領域(第 1 の V H)、第 1 の C H 1、第 1 の重鎖定常領域(例えば、第 1 の C H 2、第 1 の C H 3、またはその両方)のうちの 1 つ、2 つ、3 つまたは全てを含む重鎖ポリペプチド) (例えば H C P 1 は第 1 のエピトープに結合する)、

30

(i i) 第 2 の重鎖ポリペプチド(H C P 2) (例えば、第 2 の重鎖可変領域(第 2 の V H)、第 2 の C H 1、第 2 の重鎖定常領域(例えば、第 2 の C H 2、第 2 の C H 3、またはその両方)のうちの 1 つ、2 つ、3 つまたは全てを含む重鎖ポリペプチド) (例えば H C P 2 は第 2 のエピトープに結合する)、

(i i i) 第 1 の重鎖ポリペプチド(例えば、第 1 の V H)と優先的に会合するラムダ軽鎖ポリペプチド(L L C P 1) (例えば、ラムダ鎖可変領域(V L 1)、ラムダ鎖定常領域(V L 1)、またはその両方) (例えば L L C P 1 は第 1 のエピトープに結合する)、及び

40

(i v) 第 2 の重鎖ポリペプチド(例えば、第 2 の V H)と優先的に会合するカップ軽鎖ポリペプチド(K L C P 2) (例えば、ラムダ鎖可変領域(V L)、ラムダ鎖定常領域(V L)、またはその両方) (例えば K L C P 2 は第 2 のエピトープに結合する)を含む。

【 0 2 7 0 】

実施形態では第 1 及び第 2 の重鎖ポリペプチドは、ヘテロ二量化を促進する F c 界面を形成する。実施形態では、多重特異性抗体分子は、F c 定常、C H 2 ~ C H 3 ドメインに

50

接続された第1の重鎖可変領域にヘテロ二量体化されたハイブリッドVL1-CL1(ノブ改変を有する)を含む第1の結合特異性、及びFc定常、CH2~CH3ドメインに接続された第2の重鎖可変領域にヘテロ二量体化されたハイブリッドVL-CL(ホール改変を有する)を含む第2の結合特異性を有する。

【0271】

非隣接ポリペプチドを含む多重特異性分子

一実施形態では、多重特異性分子は単一のポリペプチド鎖ではない。

【0272】

一実施形態では、抗体分子には2つの完全な重鎖と2つの完全な軽鎖が含まれる。一実施形態では、少なくとも2つまたは少なくとも3つの非隣接ポリペプチド鎖を有する多重特異性分子は、例えば、本明細書に記載の、少なくとも2つの非隣接ポリペプチド鎖中の第1及び第2重鎖定常領域(例えば、第1及び第2のFc領域)を含む。

10

【0273】

実施形態では、多重特異性分子は二重特異性または二機能性分子であり、第1及び第2のポリペプチド(i)及び(ii)は非隣接であり、例えば、2つの別個のポリペプチド鎖である。いくつかの実施形態では、第1及び第2のポリペプチド(i)及び(ii)は、例えば、ヒトIgG1のFc領域の、Eu付番システムに基づいて付番される、347、349、350、351、366、368、370、392、394、395、397、398、399、405、407、または409のうちの1つ以上から選択される位置で対になったアミノ酸置換を含む。例えば、第1の重鎖定常領域(例えば、第1のFc領域)はT366S、L368A、またはY407V(例えば、空洞またはホールに対応)から選択されるアミノ酸置換を含み得、第2の重鎖定常領域(例えば、第2のFc領域)は、T366W(例えば、突起またはノブに対応)を含み、ここで付番はEu付番システムに基づく。いくつかの実施形態では、第1及び第2のポリペプチドは、ヘテロ二量体の第1及び第2のFc領域の第1及び第2のメンバーである。

20

【0274】

いくつかの実施形態では、第1のポリペプチドは、NからCに向けて以下の構成を有する：(a)任意でリンカーを介して第1の重鎖定常領域(例えば、CH3領域に接続されたCH2)(例えば、第1のFc領域)に接続された、第1の抗原ドメインの第1の部分、例えば、第1の抗原、例えばCSF1Rに結合するFab分子の第1のVH-CH1、(b)任意でリンカーを介して第2の重鎖定常領域(例えば、CH3領域に接続されたCH2)(例えば、第1のFc領域)に接続された、第2の抗原ドメインの第1の部分、例えば、第2の抗原、例えばCCR2またはCXCR2に結合するFab分子の第2のVH-CH1、(c)第3のポリペプチドは、NからCに向けて以下の構成を有する：第1の抗原ドメインの第2の部分、例えばFabの第1のVL-CL、ここでVLは、第1の抗原、例えばCSF1R(例えば、第1のVH-CH1が結合する同一の抗原)に結合するカッパサブタイプである、(d)第4のポリペプチドは、NからCに向けて以下の構成を有する：第2の抗原ドメインの第2の部分、例えばFabの第2のVL-CL、ここでVLはラムダサブタイプのものであり、第2の抗原、例えばがん抗原、例えばCCR2またはCXCR2(例えば、第2のVH-CH1が結合する同一の抗原)に結合する。

30

40

【0275】

実施形態では第1の重鎖定常領域(例えば、第1のCH2-CH3領域)は、例えば本明細書に記載されるような、突起またはノブを含む。実施形態では第2の重鎖定常領域(例えば、第2のCH2-CH3領域)は、空洞またはホールを含む。実施形態では第1及び第2の重鎖定常領域は、二重特異性分子のヘテロ二量体化を促進する。

【0276】

TGF-ベータ阻害剤

一態様では、本明細書で提供されるのは、TGF-ベータ阻害剤を含む多重特異性抗体分子である。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤はTGF-ベータに結合して阻害、例えば、TGF-ベータの活性を低減する。いくつかの実施形態では、TGF-

50

ベータ阻害剤はTGF-ベータ1を阻害する(例えば、その活性を低減する)。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤はTGF-ベータ2を阻害する(例えば、その活性を低減する)。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤はTGF-ベータ3を阻害する(例えば、その活性を低減する)。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤はTGF-ベータ1及びTGF-ベータ3を阻害する(例えば、その活性を低減する)。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤はTGF-ベータ1、TGF-ベータ2、及びTGF-ベータ3を阻害する(例えば、その活性を低減する)。

【0277】

いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤は、TGF-ベータを阻害する(例えば、その活性を低減する)ことができるTGF-ベータ受容体の部分(例えば、TGF-ベータ受容体の細胞外ドメイン)、またはその機能性フラグメントもしくはバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤は、TGFBR1ポリペプチド(例えば、TGFBR1の細胞外ドメイン、またはその機能的バリエーション)を含む。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤は、TGFBR2ポリペプチド(例えば、TGFBR2の細胞外ドメイン、またはその機能的バリエーション)を含む。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤は、TGFBR3ポリペプチド(例えば、TGFBR3の細胞外ドメイン、またはその機能的バリエーション)を含む。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤は、TGFBR1ポリペプチド(例えば、TGFBR1の細胞外ドメイン、またはその機能的バリエーション)及びTGFBR2ポリペプチド(例えば、TGFBR2の細胞外ドメイン、またはその機能的バリエーション)を含む。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤は、TGFBR1ポリペプチド(例えば、TGFBR1の細胞外ドメイン、またはその機能的バリエーション)及びTGFBR3ポリペプチド(例えば、TGFBR3の細胞外ドメイン、またはその機能的バリエーション)を含む。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤は、TGFBR2ポリペプチド(例えば、TGFBR2の細胞外ドメイン、またはその機能的バリエーション)及びTGFBR3ポリペプチド(例えば、TGFBR3の細胞外ドメイン、またはその機能的バリエーション)を含む。

【0278】

TGF-ベータ阻害剤として使用できる例示的なTGF-ベータ受容体ポリペプチドは、US8993524、US9676863、US8658135、US20150056199、US20070184052、及びWO2017037634に記載されており、これらは全て、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0279】

いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤は、TGFBR1の細胞外ドメイン、または、それに実質的に同一である配列(例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)を含む。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤は、配列番号95の細胞外ドメイン、または、それに実質的に同一である配列(例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)を含む。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤は、配列番号96の細胞外ドメイン、または、それに実質的に同一である配列(例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)を含む。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤は、配列番号97の細胞外ドメイン、または、それに実質的に同一である配列(例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)を含む。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤は、配列番号104のアミノ酸配列、または、それに実質的に同一である配列(例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)を含む。いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤は、配列番号105のアミノ酸配列、または、それに実質的に同一である配列(例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)を含む。

【0280】

いくつかの実施形態では、TGF-ベータ阻害剤は、TGFBR2の細胞外ドメイン、

または、それに実質的に同一である配列（例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。いくつかの実施形態では、TGF-β阻害剤は、配列番号98の細胞外ドメイン、または、それに実質的に同一である配列（例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。いくつかの実施形態では、TGF-β阻害剤は、配列番号99の細胞外ドメイン、または、それに実質的に同一である配列（例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。いくつかの実施形態では、TGF-β阻害剤は、配列番号100のアミノ酸配列、または、それに実質的に同一である配列（例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。いくつかの実施形態では、TGF-β阻害剤は、配列番号101のアミノ酸配列、または、それに実質的に同一である配列（例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。いくつかの実施形態では、TGF-β阻害剤は、配列番号102のアミノ酸配列、または、それに実質的に同一である配列（例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。いくつかの実施形態では、TGF-β阻害剤は、配列番号103のアミノ酸配列、または、それに実質的に同一である配列（例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。

10

【0281】

いくつかの実施形態では、TGF-β阻害剤は、TGFBR3の細胞外ドメイン、または、それに実質的に同一である配列（例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。いくつかの実施形態では、TGF-β阻害剤は、配列番号106の細胞外ドメイン、または、それに実質的に同一である配列（例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。いくつかの実施形態では、TGF-β阻害剤は、配列番号107の細胞外ドメイン、または、それに実質的に同一である配列（例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。いくつかの実施形態では、TGF-β阻害剤は、配列番号108のアミノ酸配列、または、それに実質的に同一である配列（例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列）を含む。

20

【0282】

いくつかの実施形態では、TGF-β阻害剤は1つを超えないTGF-β受容体細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態では、TGF-β阻害剤は、例えばリンカーなどを介して一緒に連結された、2つ以上（例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、またはそれ以上）のTGF-β受容体細胞外ドメインを含む。

30

【0283】

40

50

【表 4 - 1】

表 4 TGF- β ーベータポリペプチドまたはTGF- β ーベータ受容体ポリペプチドの例示的なアミノ酸配列

配列番号	説明	アミノ酸配列
配列番号 92	未成熟ヒト TGF- β 1 (P01137-1)	MPPSGLRLLLLLLPLLWLLVLTTPGRPA AGLSTCKTIDMELVKRKR IEAIRGQIL SKLRLASPPSQGEVPPGPLPEAVLALY NSTRDRVAGESAEPEPEPEADYYAKEV TRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMF NTSELREAVPEPVLLSRAELRLLRLKL KVEQHVELYQKYSNNSWRYLSNRL LAP SDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIEG FRLSAHCSCDSRDNTLQVDINGFTTGR

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

		RGDLATIHGMNRPFLLLMATPLERAQH LQSSRHRRALDTNYCFSSTEKNCCVRQ LYIDFRKDLGWKWIHEPKGYHANFCLG PCPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNP GAS AAPCCVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQ LSNMIVRSCKCS	
配列番 号11 7	ヒトTG F-ペー タ1 (P 0113 7-1)	LSTCKTIDMELVKKRIEAIRGQILSK LRLASPPSQGEVPPGPLPEAVLALYNS TRDRVAGESAEPEPEPEADYYAKEVTR VLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFFNT SELREAVPEPVLLSRAELRLLRLKLV EQHVELYQKYSNNSWRYSNRL LAPSD SPEWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIEGFR LSAHCSCDSRDNTLQVDINGFTTGRRG DLATIHGMNRPFLLLMATPLERAQHLQ SSRHRRALDTNYCFSSTEKNCCVRQLY IDFRKDLGWKWIHEPKGYHANFCLGPC PYIWSLDTQYSKVLALYNQHNP GASAA PCCVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLS NMIVRSCKCS	10
配列番 号93	未成熟ヒ トTGF -ペータ 2 (P6 1812 -1)	MHYCVLSAFLILHLVTVALSLSTCSTL DMDQFMRKRIEAIRGQILSKLKLTSPP EDYPEPEEVPPEVISIYNSTRDLLQEK ASRRAAACERERSDEEYAKEVYKIDM PPFFPSENAIPPTFYRPFYFRIVRFDVS AMEKNASNLVKAEFRVFRLLQNP KARVP EQRIELYQILKSKDLTSPTQRYIDSKV VKTRAEGEWLSFDVTDVHEWLHKKDR NLGFKISLHCPCTFVPSNNYIIPNKS EELEARFAGIDGTSTYTSGDQKTIKST RKKNSGKTPHLLMLLPSYRLESQQTN RRKKRALDAAYCFRNVQDNCCLRPLYI DFKRDLGWKWIHEPKGYNANFCAGACP YLWSSDTQHSRVLSLYNTINPEASASP CCVSQDLEPLTILYYIGKTPKIEQLSN MIVKSCKCS	20 30
配列番 号11 8	ヒトTG F-ペー タ2 (P 6181 2-1)	LSTCSTLDMDQFMRKRIEAIRGQILSK LKLTSPPEDYPEPEEVPPEVISIYNST RDLLQEKASRRAAACERERSDEEYAK EVYKIDMPPFFPSENAIPPTFYRPFYFR IVRFDVSAMEKNASNLVKAEFRVFRLLQ NPKARVPEQRIELYQILKSKDLTSPTQ RYIDSKVVKTRAEGEWLSFDVTDVHE	40

【表 4 - 3】

		WLHHKDRNLGFKISLHCPCTFVPSNN YIIPNKSEELERFAGIDGTSTYTSGD QKTIKSTRKKNSGKTPHLLMLLPSYR LESQQTNRRKKRALDAAYCFRNVQDNC CLRPLYIDFKRDLGWKWIHEPKGYNAN FCAGACPYLWSSDTQHSRVLSLYNTIN PEASASPCCVSQDLEPLTILYYIGKTP KIEQLSNMIVKSCKCS	
配列番号 94	未成熟ヒトTGF-β3 (P10600-1)	MKMHLQRALVVLALLNFATVLSLSLSTC TTLDGFIKKKRVEAIRGQILSKLRLT SPPEPTVMTHVPYQVLALYNSTRELLE EMHGEREEGCTQENTESEYYAKEIHKF DMIQGLAEHNELAVCPKGITSKVFRFN VSSVEKNRTNLFRAEFRVLRVPNPSSK RNEQRIELFQILRPDEHIAKQRYIGGK NLPTRGTAEWLSFDVTDTVREWLLRRE SNLGLAISIHCPCHTFQPNGDILENIH EVMEIKFKGVDNEDDHGRGDLGRLKKQ KDHHPHLILMMIPPHRLDNPGQGGQR KKRALDTNYCFRNLEENCCVRPLYIDF RQDLGWKVVHEPKGYYANFCSGPCPYL RSADTTHSTVLGLYNTLNPEASASPCC VPQDLEPLTILYYVGRTPKVEQLSNMV VKSCKCS	10 20
配列番号 119	ヒトTGF-β3 (P10600-1)	LSTCTTLDGFIKKKRVEAIRGQILSK LRLTSPPEPTVMTHVPYQVLALYNSTR ELLEEMHGEREEGCTQENTESEYYAKE IHKFDMIQGLAEHNELAVCPKGITSKV FRFNVSVEKNRTNLFRAEFRVLRVPN PSSKRNEQRIELFQILRPDEHIAKQRY IGGKNLPTRGTAEWLSFDVTDTVREWLL RRRESNLGLAISIHCPCHTFQPNGDIL ENIHEVMEIKFKGVDNEDDHGRGDLGR LKKQKDHHPHLILMMIPPHRLDNPGQ GGQRKKRALDTNYCFRNLEENCCVRPL YIDFRQDLGWKVVHEPKGYYANFCSGP CPYLRSADTTHSTVLGLYNTLNPEASA SPCCVPQDLEPLTILYYVGRTPKVEQL SNMVVKSCKCS	30
配列番号 95	未成熟ヒトTGFβ1アイソフォ	MEAAVAAPRPRLLLLVLAIAAAAAAAAAAL LPGATALQCFCHLCTKDNFTCVTDGLC FVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIPRD RPFVCAPSSKTGSVTTTYCCNQDHCNK	40

【表 4 - 4】

	ーム1 (P36 897- 1)	IELPTTVKSSPGLGPVELAAVIAGPVC FVCISLMLMVYICHNRTVIHHRVPNEE DPSLDRPFI SEGTTLKDLIYDMTTSGS GSGLP LLVQRTIARTIVLQESIGKGRF GEVWRGKWRGEEVAVKIFSSREERSWF REAEIYQTVMLRHENILGFI AADNKDN GTWTQLWLVS DYHEHGS LFDYLNRYTV TVEGMIKLALSTASGLAHLHMEIVGTQ GKPAIAHRDLKSKNILVKKNGTCC IAD LGLAVRHDSATDTIDIAPNHRVGTKRY MAPEVLDD SINMKHFESFKRAD IYAMG LVFWEIARRCSIGGIHEDYQLPYYDLV PSDPSVEEMRKVVCEQKLRPNIPNRWQ SCEALRVMAKIMRECWYANGAARLTAL RIKKTLSQLSQQEGIKM	10
配列番 号12 0	ヒトTG FBR1 アイソフ ーム1 (P36 897- 1)	LQCFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVTE TTDKVIHNSMCIAEIDLIPRDRPFVCA PSSKTGSVTTTTYCCNQDHCNKIELPTT VKSSPGLGPVELAAVIAGPVCFVCISL MLMVYICHNRTVIHHRVPNEEDPSLDR PFI SEGTTLKDLIYDMTTSGSGSGLPL LVQRTIARTIVLQESIGKGRFGEVWRG KWRGEEVAVKIFSSREERSWFR EAEIY QTVMLRHENILGFI AADNKDNGTWTQL WLVS DYHEHGS LFDYLNRYTVTVEGMI KLALSTASGLAHLHMEIVGTQGKPAIA HRDLKSKNILVKKNGTCC IADLGLAVR HDSATDTIDIAPNHRVGTKRYMAPEVL DD SINMKHFESFKRAD IYAMGLVFWEI ARRCSIGGIHEDYQLPYYDLVPSDPSV EEMRKVVCEQKLRPNIPNRWQSCEALR VMAKIMRECWYANGAARLTALRIKKTLS QLSQQEGIKM	20 30
配列番 号96	未成熟ヒ トTGF BR1ア イソフ ーム2 (P36 897- 2)	MEAAVAAPRPRLLLLVLAAAAAAAAAAL LPGATALQCFCHLCTKDNFTCVTDGLC FVSVTETTTDKVIHNSMCIAEIDLIPRD RPFVCA PSSKTGSVTTTTYCCNQDHCNK IELPTTGPFSVKSSPGLGPVELAAVIA GPVCFVCISLMLMVYICHNRTVIHHRV PNEEDPSLDRPFI SEGTTLKDLIYDMT TSGSGSGLPLL VQRTIARTIVLQESIG KGRFGEVWRGKWRGEEVAVKIFSSREE RSWFR EAEIYQTVMLRHENILGFI AAD	40

【表 4 - 5】

		NKDNGTWTQLWLVS DYHEHGS LFDYLN RYTVTVEGMIKLALSTASGLAHLHMEI VGTQGKPAIAHRDLKSKNILVKKNGTC CIADLGLAVRHDSATDTIDIAPNHRVG TKRYMAPEVLDD SINMKHFESFKRADI YAMGLVFWEIARRCSIGGIHEDYQLPY YDLVPSDPSVEEMRKVVCEQKLRPNIP NRWQSCEALRVMAKIMRECWYANGAAR LTALRIKKTLSQLSQQEGIKM
配列番号121	ヒトTG FBR1 アイソフォーム2 (P36 897- 2)	LQCFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVTE TTDKVIHNSMCIAEIDLIPRDRPFVCA PSSKTGSVTTTTYCCNQDHCNKIELPTT GPF SVKSSPGLGPVELAAVIAGPVCFV CISLMLMVYICHNRTVIHHRVPNEEDP SLDRPFI SEGTTLKDLIYDMTTSGSGS GLPLL VQRTIARTIVLQESIGKGRFGE VWRGKWRGEEVAVKIFSSREERSWFRE AEIYQTVMLRHENILGFI AADNKDNGT WTQLWLVS DYHEHGS LFDYLNRYTVTV EGMIKLALSTASGLAHLHMEIVGTQGK PAIAHRDLKSKNILVKKNGTCC IADLG LAVRHDSATDTIDIAPNHRVGTKRYMA PEVLDD SINMKHFESFKRADIYAMGLV FWEIARRCSIGGIHEDYQLPY YDLVPS DPSVEEMRKVVCEQKLRPNIPNRWQSC EALRVMAKIMRECWYANGAARLTALRI KKTLSQLSQQEGIKM
配列番号97	未成熟ヒトTGFBR1アイソフォーム3 (P36 897- 3)	MEAAVAAPRPRLLLLVLAAAAAAAAL LPGATALQCFCHLCTKDNFTCVTDGLC FVSVTETTTDKVIHNSMCIAEIDLIPRD RPFVCA P SSKTGSVTTTTYCCNQDHCNK IELPTTGLPLL VQRTIARTIVLQESIG KGRFGEVWRGKWRGEEVAVKIFSSREE RSWFREAEIYQTVMLRHENILGFI AAD NKDNGTWTQLWLVS DYHEHGS LFDYLN RYTVTVEGMIKLALSTASGLAHLHMEI VGTQGKPAIAHRDLKSKNILVKKNGTC CIADLGLAVRHDSATDTIDIAPNHRVG TKRYMAPEVLDD SINMKHFESFKRADI YAMGLVFWEIARRCSIGGIHEDYQLPY YDLVPSDPSVEEMRKVVCEQKLRPNIP NRWQSCEALRVMAKIMRECWYANGAAR LTALRIKKTLSQLSQQEGIKM

10

20

30

40

【表 4 - 6】

配列番号122	ヒトTG FBR1 アイソフォーム3 (P36897-3)	LQCFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVTE TTDKVIHNSMCIAEIDLIPRDRPFVCA PSSKTGSVTTTTYCCNQDHCNKIELPTT GLPLLVRQRTIARTIVLQESIGKGRFGE VWRGKWRGEEVAVKIFSSREERSWFRE AEIYQTVMLRHENILGFIAADNKDNGT WTQLWLVS DYHEHGS LFDYLNRYTVTV EGMIKLALSTASGLAHLHMEIVGTQGK PAIAHRDLKSKNILVKKNGTCC IADLG LAVRHDSATDTIDIAPNHRVGTKRYMA PEVLDD SINMKHFESFKRADIYAMGLV FWEIARRCSIGGIHEDYQLPYDLPVPS DPSVEEMRKVVCEQKLRPNIPNRWQSC EALRVMAKIMRECWYANGAARLTALRI KKTLSQLSQQEGIKM	10
配列番号104	ヒトTG FBR1 フラグメント1	LQCFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVTE TTDKVIHNSMCIAEIDLIPRDRPFVCA PSSKTGSVTTTTYCCNQDHCNKIELPTT VKSSPGLGPVEL	
配列番号105	ヒトTG FBR1 フラグメント2	ALQCFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVT ETTDKVIHNSMCIAEIDLIPRDRPFVC APSSKTGSVTTTTYCCNQDHCNKIEL	20
配列番号98	未成熟ヒトTGF BR2アイソフォームB (短いアイソフォーム)(P37173-1)	MGRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPH VQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC DVRFSTCDNQKSCMSNCSITSI CEKPKQ EVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPY HDFILEDAA SPK CIMKEKKKPGETFFM CSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDL LL VIFQVTGISLLPPLGVAISV I I IFYCY RVNRQQKLSSTWETGKTRKLMEFSEHC A I I LEDDRSDI S STCANNINHNT ELLP I ELDTLVGKGRFAEVYKAKLKQNTSEQ FETVAVKIFPYEEYASWKTEKDI FSDI NLKHENILQFLTAEERKTEL GKQYWL I TAFHAKGNLQEYLTRHVISWEDLRKLG SSLARGIAHLHSDHTPCGRPKMPIVHR DLKSSNILVKNDLTCCLCDFGLSLRLD PTLSVDDLANSQQVGTARYMAPEVLES RMNLENVESFKQTDVYSMALVLWEMTS RCNAVGEVKDYEPFPGSKVREHPCVES MKDNVLRDRGRPEIPSFWLNHQGIQMV	30

40

50

【表 4 - 7】

		CETLTECWDHDPEARLTAQCVAERFSE LEHLDRLSGRSCSEEEKIPEDGSLNNTTK
配列番号 123	ヒトTG FBR2 アイソフォームB (短いアイソフォーム) (P37173-1)	TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSI CEKPQEV CVAVWRKNDENITLETVCHD PKLPYHDFILEDAAASP KCIMKEKKKPG ETFFMCS SCSSDECNDNIIFSEEYNTSN PDL L LVIFQVTG I SLLPPLGVAISV I I IFYCYRVNRQQKLSSTWETGKTRKLME FSEHCAIILEDDRSDISSTCANNINHNT TELLPIELDTLVGKGRFAEVYKAKLKQ NTSEQFETVAVKIFPYEEYASWKTEKD IFSDINLKHENILQFLTAEERKTELGK QYWLITAFHAKGNLQEYLTRHVISWED LRKLGSS LARGIAHLHSDHTPCGRPKM PIVHRDLKSSNILVKNDLTCCLCDFGL SLRLDPTLSVDDLANSQGQVGTARYMAP EVLESRMNLENVESFKQTDVYSMALV WEMTSRCNAVGEVKDYEPFFGSKVREH PCVESMKDNVLRDRGRPEIPSFWLNHQ GIQMVCE TLTECWDHDPEARLTAQCVA ERFSELEHLDRLSGRSCSEEEKIPEDGS LNNTTK
配列番号 99	未成熟ヒトTGFBR2アイソフォームA (長いアイソフォーム) (P37173-2)	MGRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSDVEMEAQKDEIICPSCNRRTAHPL RHINNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSI CEKPQEV CVAVWRKNDENITLETVCHD PKLPYHDFILEDAAASP KCIMKEKKKPG GETFFMCS SCSSDECNDNIIFSEEYNTSN PDL L LVIFQVTG I SLLPPLGVAISV I I IFYCYRVNRQQKLSSTWETGKTRKLME FSEHCAIILEDDRSDISSTCANNINHNT TELLPIELDTLVGKGRFAEVYKAKLKQNTSEQFETVAVKIFPYEEYASWKTEKD IFSDINLKHENILQFLTAEERKTELGKQYWLITAFHAKGNLQEYLTRHVISWED LRKLGSS LARGIAHLHSDHTPCGRPKM PIVHRDLKSSNILVKNDLTCCLCDFGL SLRLDPTLSVDDLANSQGQVGTARYMAPEVLESRMNLENVESFKQTDVYSMALV LWEMTSRCNAVGEVKDYEPFFGSKVREHPCVESMKDNVLRDRGRPEIPSFWLNHQ GIQMVCE

10

20

30

40

50

【表 4 - 8】

		TLTECWDHDPEARLTAQCVAERFSELE HLDRLSGRSCSEEEKIPEDGSLNTTK	
配列番号124	ヒトTG FBR2 アイソフォームA (長いアイソフォーム) (P37173-2)	TIPPHVQKSDVEMEAQKDEIICPSCNR TAHPLRHINNDMIVTDNNGAVKFPQLC KFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICE KPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPK LPYHDFILEDAAASPKCIMKEKKKPGET FFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD LLLVI FQVTGISLLPPLGVAISV I I F YCYRVNRQQKLSSTWETGKTRKLM EFS EHCAIILEDDRSDISSTCANNINHNT LLPIELDTLVGKGRFAEVYKAKLKQNT SEQFETVAVKIFPYEEYASWKTEKDI SDINLKHENILQFLTAEERKTELGKQY WLITAFHAKGNLQEYLTRHVISWEDLR KLGSSLARGIAHLHSDHTPCGRPKMPI VHRDLKSSNILVKNDLTCCLCDFGLSL RLDPTLSVDDLANSQGQVGTARYMAPEV LESRMNLENVESFKQTDVYSMALVLWE MTRCNAVGEVKDYEPFPGSKVREHPC VESMKDNVLRDRGRPEIPSWL NHQGI QMCETLTECWDHDPEARLTAQCVAER FSELEHLDRLSGRSCSEEEKIPEDGSLN TTK	10
配列番号100	ヒトTG FBR2 フラグメント1 (ヒトGFBR2アイソフォームBのECD)	TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQL LCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICE KPKQEVCVAVWRKNDENITLETVCHD PKLPYHDFILEDAAASPKCIMKEKKKPG ETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSN PD	30
配列番号101	ヒトTG FBR2 フラグメント2	IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQL CKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICE EKPKQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDP KLPYHDFILEDAAASPKCIMKEKKKPG TFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSN PD	
配列番号102	ヒトTG FBR2 フラグメント	TIPPHVQKSDVEMEAQKDEIICPSCNR TAHPLRHINNDMIVTDNNGAVKFPQLC KFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICE	40

10

20

30

40

50

【表 4 - 9】

	ント3 (ヒトT GFBR 2アイソ フォーム AのEC D)	KPQEVCVAVWRKNDENITLETVCCHDPK LPYHDFILEDAAASPKCIMKEKKKPGET FFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD
配列番 号10 3	ヒトTG FBR2 フラグメ ント4	QLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITS ICEKPEVAVWRKNDENITLETVCCH DPKLPYHDFILEDAAASPKCIMKEKKKPG GETFFMCSCSSDECNDNIIF
配列番 号10 6	未成熟ヒ トTGF BR3ア イソフォ ーム1 (Q03 167- 1)	MTSHYVIAIFALMSSCLATAGPEPGAL CELSPVSASHPVQALMESFTVLSGCAS RGTTGLPQEVHVLNLRTAGQGPGQLQR EVTLHLNPISSVHIHHKSVVFLNNSPH PLVWHLKTERLATGVSRLFVSEGSVV QFSSANFSLTAETEERNFPHGNEHLLN WARKEYGAVTSFTELKIARNIYIKVGE DQVFPKCNIGKNFLSLNYLAEYLQPK AAEGCVMS SQPQNEEVHIIELITPNSN PYSAFQVDITIDIRPSQEDLEVVKNLIL LILKCKKSVNWVIKSFVKGSLKIIAP NSIGFGKESERSMTMTKSI RDDIPSTQ GNLVKWALDNGYSPITSYTMAPVANRF HLRLENNAEEMGDDEEVHTIPPELRILL DPGALPALQNPPIRGGEGQNGGLPFPF PDISRRVWNEEGEDGLPRPKDPVIPSIL QLFPGLREPEEVQGSVDIALSVKCDNE KMI VAVEKDSFQASGYSGMDVTL LDPT CKAKMNGTHFVLESPLNGCGTRPRWSA LDGVVYYNSIVIQVPALGDSSGWPDGY EDLESGDNGFPGDMDEGDASLFTRPEI VVFNC SLQQVRNPSSFQEQPHGNITFN MELYNTDLFLVPSQGVFSVPENGHVYV EVSVTKAEQELGFAIQTCFISPYSNP RMSHYTIIENICPKDES VKFYSPKRVH FPI PQADMDKKRFSFVFKPVFNTSLLF LQCELTLC TKMEKHPQKLPKCVPPDEA CTSLDASIIWAMMQNKKTF TKPLAVIH HEAESKEKGPSMKEPNPISPPIFHGLD TLTVMGIAFAAFVIGALLTGALWYIYS HTGETAGRQQVPTSP PASSENSSAAHSI GSTQSTPCSSSSTA

10

20

30

40

50

【表 4 - 10】

配列番号125	ヒトTG FBR3 アイソフォーム1 (Q03 167-1)	GPEPGALCELS PVSASHPVQALMESFT VLSGCASRGTTGLPQEVHVLNLRTAGQ GPGQLQREVTLHLNPISSVHIHHKS VV FLLNSPHPLVWHLKTERLATGVSRLFL VSEGSVVQFSSANFSLTAETEERNFPH GNEHLLNWARKEYGAVTSFTELKIARN IYIKVGEDQVFPPKCNIGKNFLSLNYL AEYLQPKAAEGCVMSSQPQNEEVHIE LITPNSNPYSAFQVDITIDIRPSQEDL EVLKNI L I L I L K C K K S V N W V I K S F D V K G S L K I I A P N S I G F G K E S E R S M T M T K S I R D D I P S T Q G N L V K W A L D N G Y S P I T S Y T M A P V A N R F H L R L E N N A E E M G D E E V H T I P P E L R I L L D P G A L P A L Q N P P I R G G E G Q N G G L P F P F P D I S R R V W N E E G E D G L P R P K D P V I P S I Q L F P G L R E P E E V Q G S V D I A L S V K C D N E K M I V A V E K D S F Q A S G Y S G M D V T L L D P T C K A K M N G T H F V L E S P L N G C G T R P R W S A L D G V V Y Y N S I V I Q V P A L G D S S G W P D G Y E D L E S G D N G F P G D M D E G D A S L F T R P E I V V F N C S L Q Q V R N P S S F Q E Q P H G N I T F N M E L Y N T D L F L V P S Q G V F S V P E N G H V Y V E V S V T K A E Q E L G F A I Q T C F I S P Y S N P D R M S H Y T I I E N I C P K D E S V K F Y S P K R V H F P I P Q A D M D K K R F S F V F K P V F N T S L L F L Q C E L T L C T K M E K H P Q K L P K C V P P D E A C T S L D A S I I W A M M Q N K K T F T K P L A V I H H E A E S K E K G P S M K E P N P I S P P I F H G L D T L T V M G I A F A A F V I G A L L T G A L W Y I Y S H T G E T A G R Q Q V P T S P P A S E N S S A A H S I G S T Q S T P C S S S S T A	10
配列番号107	未成熟ヒトTGF BR3アイソフォーム2 (Q03 167-2)	MTSHYVIAIFALMSSCLATAGPEPGAL CELS PVSASHPVQALMESFTVLSGCAS RGTTGLPQEVHVLNLRTAGQGPGQLQR EVTLLHLNPISSVHIHHKS VV FLLNSPH PLVWHLKTERLATGVSRLFLVSEGSVV QFSSANFSLTAETEERNFPHGNEHLLN WARKEYGAVTSFTELKIARNIYIKVGE DQVFPPKCNIGKNFLSLNYLAEYLQPK AAEGCVMSSQPQNEEVHIE LITPNSN PYSAFQVDITIDIRPSQEDLEVVKNI L I L K C K K S V N W V I K S F D V K G S L K I I A P N S I G F G K E S E R S M T M T K S I R D D I P S T Q	30
			40

【表 4 - 1 1】

		<p>GNLVKWALDNGYSPITSYTMAPVANRF HLRLENNEEMGDEEVHTIPPELRILLD PGALPALQNPPIRGGEGQNGGLPFPFP DISRRVWNEEGEDGLPRPKDPVIPS IQ LFPGLREPEEVQGSVDIALSVKCDNEK MIVAVEKDSFQASGYSGMDVTLLDPTC KAKMNGTHFVLESPLNGCGTRPRWSAL DGVVYYNSIVIQVPALGDSSGWPDGYE DLESGDNGFPGDMDEGDASLFTRPEIV VFNC SLQQVRNPSSFQEQPHGNITFNM ELYNTDLFLVPSQGVFSVPENGHVYVE VSVTKAEQELGFAIQTCFISPYSNPDR MSHYTIIENICPKDES VKFYSPKRVHF PIPPQADMDKKRFSFVFKPVFNTSLLFL QCELTLC TKMEKHPQKLPKCVPPDEAC TSLDASIIWAMMQNKKTFTKPLAVIHH EAESKEKGPSMKEPNPISPPIFHGLDT LTVMGI AFAAFVIGALLTGALWYIYSH TGETAGRQQVPTSPPASENS SAAHS IG STQSTPCSSSSTA</p>	10
配列番号 126	ヒトTG FBR3 アイソフ ォーム2 (Q03 167- 2)	<p>GPEPGALCELS PVSASHPVQALMESFT VLSGCASRGTTGLPQEVHVLNLRTAGQ GPGQLQREVTLHLNP ISSVHIHKS SV FLLNSPHPLVWHLKTERLATGVSRFLFL VSEGSVVQFSSANFSLTAETEERNFPH GNEHLLNWARKEYGAVTSFTELKIARN IYIKVGEDQVFPPKCNIGKNFLSLNYL AEYLQPKAAEGCVMS SQPNEEVHIIE LITPNSNPYS AFQVDITIDIRPSQEDL EVVKNLILILKCKKSVNWVIKSFVKG SLKIIAPNSIGFGKESERSMTMTKSIR DDIPSTQGNLVKWALDNGYSPITSYTM APVANRFHLRLENNEEMGDEEVHTIPP ELRILLDPGALPALQNPPIRGGEGQNG GLPFPFPDISRRVWNEEGEDGLPRPKD PVIPS IQLFPGLREPEEVQGSVDIALS VKCDNEKMI VAVEKDSFQASGYSGMDV TLLDPTCKAKMNGTHFVLESPLNGCGT RPRWSALDGVVYYNSIVIQVPALGDSS GWPDGYEDLESGDNGFPGDMDEGDASL FTRPEIVVFNC SLQQVRNPSSFQEQPH GNITFNMELYNTDLFLVPSQGVFSVPE NGHVYVEVSVTKAEQELGFAIQTCFIS</p>	20 30 40

【表 4 - 1 3】

	G F b R 2	DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDK SRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGXGGGGSGGGGSGGGGSI PPHVQ KSVNNDMI VTDNNGAVKFPQLCKFCDV RFSTCDNQKSCMSNCS ITS ICEKPQEV CVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHD FILEDAASP KCIMKEKKKPGETFFMCS CSSDECNDNI IFSEEYNTSNPD、ここでX はKまたは不存在である	10
配列番 号 1 9 3	hCH1 -hFc _ノブ- 3×4G S-TG FbR2	ASTKGPSVFP LAPS SKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVT VSWNSGAL TSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPEL LGGPSVFLFPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGXGGGGSGGGGSGGGGSI PPHVQ KSVNNDMI VTDNNGAVKFPQLCKFCDV RFSTCDNQKSCMSNCS ITS ICEKPQEV CVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHD FILEDAASP KCIMKEKKKPGETFFMCS CSSDECNDNI IFSEEYNTSNPD、ここでX はKまたは不存在である	20 30
配列番 号 1 9 4	hFc_ ホール- 3×4G S-TG FbR2	DKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPKPK KD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR EEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSK LTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGXGGGGSGGGGSGGGGSI PPHVQKSVNNDMI VTDNNGAVKFPQLC KFCDVRFSTCDNQKSCMSNCS ITS ICE	40

【表 4 - 1 4】

		KPQEVCVAVWRKNDENITLETVCCHDPK LPYHDFILEDAAASPCKIMKEKKKPGET FFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNP D、ここでXはKまたは不存在である	
配列番号195	hFc — ノブ—3 ×4GS —TGF bR2	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPCR EEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGXGGGGSGGGGSGGGGS IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLC KFCDFRFSTCDNQKSCMSNCSITSICE KPQEVCVAVWRKNDENITLETVCCHDPK LPYHDFILEDAAASPCKIMKEKKKPGET FFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNP D、ここでXはKまたは不存在である	10
配列番号196	TGFb R2—3 ×4GS —hCH 1—hF c—ホー ル	IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQL CKFCDFRFSTCDNQKSCMSNCSITSIC EKPQEVAVWRKNDENITLETVCCHDP KLPYHDFILEDAAASPCKIMKEKKKPGE TFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNP DGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSA STKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGX、ここでX はKまたは不存在である	20 30
配列番号197	TGFb R2—3 ×4GS —hCH	IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQL CKFCDFRFSTCDNQKSCMSNCSITSIC EKPQEVAVWRKNDENITLETVCCHDP KLPYHDFILEDAAASPCKIMKEKKKPGE TFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNP	40

【表 4 - 1 5】

	l-hF c__ノブ	DGGGGSGGGGSGGGGSA STKGP SVFPL APSSKSTSGGTAALGCLV KDYP PEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVT C VV VDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTV LH QDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPR EPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNV FSC SVMHEALHNHYTQKSLSL SPGX、ここでXはKまたは不 存在である	10
配列番号 198	TGFb R2-3 ×4GS -hCL I g__v l	IPPHVQKSVNNDMIVTDN NGAVKFPQL CKFCDVRFSTCDNQKSCMS NCSITSIC EKPQEV CVAVWRKNDENITLET VCHDP KLPYHDFILEDAA SPKCIMKEKKK PGE TFFMCSCSSDECNDNIIF SEEYNTSNP DGGGGSGGGGSGGGGSG QPKANPTVTL FPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAV TVAWKADGSPVKAGVETTK PSKQSNK YAASSYLSLTP EQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS	20
配列番号 199	TGFβ R2-3 ×4GS -hCL I g__v k	IPPHVQKSVNNDMIVTDN NGAVKFPQL CKFCDVRFSTCDNQKSCMS NCSITSIC EKPQEV CVAVWRKNDENITLET VCHDP KLPYHDFILEDAA SPKCIMKEKKK PGE TFFMCSCSSDECNDNIIF SEEYNTSNP DGGGGSGGGGSGGGGSR TVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSK DST YSLSSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC	30

10

20

30

40

【0284】

核酸

本発明はまた、本明細書に記載されるように、抗体分子の重鎖及び軽鎖可変領域及びCDRまたは超可変ループをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を特徴とする。例えば、本発明は、本明細書に開示される抗体分子の1つ以上から選択される抗体分子の重鎖及び軽鎖可変領域をそれぞれコードする第1及び第2の核酸を特徴とする。核酸は、本明細書の表に記載されているヌクレオチド配列、またはそれと実質的に同一の配列（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、99%、またはそれ以上同一の配列、または本明細書の表に示されている配列から3、6、15、30、または45以下のヌクレオチドの違いがある配列）を含み得る。

50

【 0 2 8 5 】

ある特定の実施形態では、核酸は、本明細書の表に記載されているアミノ酸配列またはそれと実質的に相同な配列（例えば、それと少なくとも約 85%、90%、95%、99% 以上同一である、及び/または 1 つ以上の置換、例えば、保存された置換を有する配列）を有する重鎖可変領域からの少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの C D R または超可変ループをコードするヌクレオチド配列を含むことができる。他の実施形態では、核酸は、本明細書の表に記載されているアミノ酸配列またはそれと実質的に相同な配列（例えば、それと少なくとも約 85%、90%、95%、99% 以上同一である、及び/または 1 つ以上の置換、例えば、保存された置換を有する配列）を有する軽鎖可変領域からの少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの C D R または超可変ループをコードするヌクレオチド配列を含むことができる。さらに別の実施形態では、核酸は、本明細書の表に記載されているアミノ酸配列またはそれと実質的に相同な配列（例えば、それと少なくとも約 85%、90%、95%、99% 以上同一である、及び/または 1 つ以上の置換、例えば、保存された置換を有する配列）を有する重鎖及び軽鎖可変領域からの少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの C D R または超可変ループをコードするヌクレオチド配列を含むことができる。

10

【 0 2 8 6 】

特定の実施形態では、核酸は、本明細書の表に記載されているヌクレオチド配列またはそれと実質的に相同な配列（例えば、それと少なくとも約 85%、90%、95%、99% 以上同一である、及び/または本明細書に記載のストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることのできる配列）を有する重鎖可変領域からの少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの C D R または超可変ループをコードするヌクレオチド配列を含むことができる。別の実施形態では、核酸は、本明細書の表に記載されているヌクレオチド配列またはそれと実質的に相同な配列（例えば、それと少なくとも約 85%、90%、95%、99% 以上同一である、及び/または本明細書に記載のストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることのできる配列）を有する軽鎖可変領域からの少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの C D R または超可変ループをコードするヌクレオチド配列を含むことができる。さらに別の実施形態では、核酸は、本明細書の表に記載されているヌクレオチド配列またはそれと実質的に相同な配列（例えば、それと少なくとも約 85%、90%、95%、99% 以上同一である、及び/または本明細書に記載のストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることのできる配列）を有する重鎖及び軽鎖可変領域からの少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの C D R または超可変ループをコードするヌクレオチド配列を含むことができる。

20

30

【 0 2 8 7 】

別の態様では、本出願は、本明細書に記載の核酸を含む宿主細胞及びベクターを特徴とする。本明細書で以下により詳述されるように、核酸は、同一の宿主細胞または別個の宿主細胞に存在する単一のベクターまたは別個のベクターに存在し得る。

【 0 2 8 8 】

ベクター

本明細書でさらに提供されるのは、本明細書に記載の抗体分子をコードするヌクレオチド配列を含むベクターである。一実施形態では、ベクターは、本明細書に記載の抗体分子をコードするヌクレオチドを含む。一実施形態では、ベクターは本明細書に記載のヌクレオチド配列を含む。ベクターには、ウイルス、プラスミド、コスミド、ラムダファージ、または酵母人工染色体 (YAC) が含まれるが、これらに限定されない。

40

【 0 2 8 9 】

多数のベクター系を使用することができる。例えば、1 つのクラスのベクターは、例えば、ウシパピローマウイルス、ポリオーマウイルス、アデノウイルス、ワクシニアウイルス、パキユロウイルス、レトロウイルス (ラウス肉腫ウイルス、MMTV、もしくは M O M L V)、または SV 40 ウイルスなどの動物ウイルスに由来する DNA 要素を利用する。別のクラスのベクターは、セムリキ森林ウイルス、東部ウマ脳炎ウイルス、及びフラビ

50

ウイルスなどのRNAウイルスに由来するRNA要素を利用する。

【0290】

さらに、DNAを染色体に安定に組み込んだ細胞は、トランスフェクトされた宿主細胞の選択を可能にする1つ以上のマーカーを導入することによって選択され得る。マーカーは、例えば、栄養要求性宿主への原栄養性、殺生物剤耐性（例えば、抗生物質）、または銅などの重金属への耐性などを提供することができる。選択可能なマーカー遺伝子は、発現されるDNA配列に直接連結するか、または共形質転換により同一の細胞に導入することができる。mRNAの最適な合成には、追加の要素も必要になる場合がある。これらの要素には、スプライスシグナル、ならびに転写プロモーター、エンハンサー、及び終結シグナルが含まれ得る。

10

【0291】

コンストラクトを含む発現ベクターまたはDNA配列が発現のために調製されると、発現ベクターは、適切な宿主細胞にトランスフェクトまたは導入され得る。これを達成するために、例えば、プロトプラスト融合、リン酸カルシウム沈殿、エレクトロポレーション、レトロウイルス形質導入、ウイルストランスフェクション、遺伝子銃、脂質ベースのトランスフェクション、または他の従来技術などの様々な技術を使用することができる。プロトプラスト融合の場合、細胞は培地で増殖され、適切な活性についてスクリーニングされる。

【0292】

得られたトランスフェクト細胞を培養し、産生された抗体分子を回収する方法及び条件は当業者に公知であり、本記載に基づいて、使用される特定の発現ベクター及び哺乳動物宿主細胞に応じて変更または最適化することができる。

20

【0293】

細胞

別の態様では、本出願は、本明細書に記載の核酸を含む宿主細胞及びベクターを特徴とする。核酸は、単一のベクター、または同一の宿主細胞もしくは別個の宿主細胞に存在する別個のベクターに存在し得る。宿主細胞は、真核細胞、例えば、哺乳動物細胞、昆虫細胞、酵母細胞、または原核細胞、例えば、E. coliであり得る。例えば、哺乳動物細胞は、培養細胞または細胞株であり得る。例示的な哺乳動物細胞には、リンパ球細胞株（例えば、NS0）、チャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）、COS細胞、卵母細胞、及びトランスジェニック動物からの細胞、例えば、乳腺上皮細胞が含まれる。

30

【0294】

本発明はまた、本明細書に記載の抗体分子をコードする核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0295】

一実施形態では、宿主細胞は、抗体分子をコードする核酸を含むように遺伝子操作されている。

【0296】

一実施形態では、宿主細胞は発現カセットを用いて遺伝子操作される。「発現カセット」という表現は、そのような配列と適合する宿主における遺伝子の発現に影響を与えることができるヌクレオチド配列を指す。そのようなカセットは、プロモーター、イントロンを伴うまたは伴わないオープンリーディングフレーム、及び終結シグナルを含み得る。発現をもたらすのに必要または有用な追加の因子、例えば、誘導性プロモーターなどもまた使用され得る。

40

【0297】

本発明はまた、本明細書に記載のベクターを含む宿主細胞を提供する。

【0298】

細胞は、真核細胞、細菌細胞、昆虫細胞、またはヒト細胞であり得るが、これらに限定されない。適切な真核細胞には、Vero細胞、HeLa細胞、COS細胞、CHO細胞、HEK293細胞、BHK細胞、及びMDCKII細胞が含まれるが、これらに限定されない。適切な昆虫細胞には、Sf9細胞が含まれるが、これに限定されない。

50

【 0 2 9 9 】

用途と組み合わせ療法

本明細書に記載の方法は、本明細書に記載の多重特異性分子を使用すること、例えば、本明細書に記載の医薬組成物を使用することにより、対象におけるがんを治療することを含む。同様に提供されるのは、対象におけるがんの症状を軽減または改善するための方法、ならびにがんの増殖を阻害する及び/または1つ以上のがん細胞を死滅させるための方法である。実施形態では、本明細書に記載の方法は、本明細書に記載のまたは本明細書に記載の医薬組成物を投与された対象における腫瘍のサイズを減少させ、及び/またはがん細胞の数を減少させる。

【 0 3 0 0 】

実施形態では、がんは血液癌である。実施形態では、血液癌は白血病またはリンパ腫である。本明細書で使用されるとき、「血液癌」は、造血組織またはリンパ組織の腫瘍、例えば、血液、骨髄、またはリンパ節に影響を与える腫瘍を指す。例示的な血液悪性腫瘍には、白血病（例えば、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性リンパ性白血病（CLL）、慢性骨髄性白血病（CML）、有毛細胞白血病、急性単球性白血病（AMoL）、慢性骨髄単球性白血病（CMML）、若年性骨髄単球性白血病（JMML）、もしくは大顆粒リンパ球性白血病）、リンパ腫（例えば、AIDS関連リンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫（例えば、古典的ホジキンリンパ腫または結節リンパ球優位型ホジキンリンパ腫）、菌状息肉腫、非ホジキンリンパ腫（例えば、B細胞非ホジキンリンパ腫（例えば、パーキットリンパ腫、小リンパ球性リンパ腫（CLL/SLL））、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、免疫芽球性大細胞リンパ腫、前駆Bリンパ芽球性リンパ腫、もしくはマントル細胞リンパ腫）、もしくはT細胞非ホジキンリンパ腫（菌状息肉腫、未分化大細胞リンパ腫、もしくは前駆Tリンパ芽球性リンパ腫）、一次中枢神経系リンパ腫、セザリー症候群、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症）、慢性骨髄増殖性腫瘍、ランゲルハンス細胞組織球症、多発性骨髄腫/プラズマ細胞腫瘍、骨髄異形成症候群、または骨髄異形成性/骨髄増殖性腫瘍が含まれるが、これらに限定されない。

【 0 3 0 1 】

実施形態では、がんは固形がんである。例示的な固形がんには、卵巣癌、直腸癌、胃癌、精巣癌、肛門領域の癌、子宮癌、結腸癌、直腸癌、腎細胞癌、肝臓癌、非小細胞肺癌、小腸癌、食道癌、黒色腫、カボジ肉腫、内分泌系の癌、甲状腺癌、副甲状腺癌、副腎癌、骨癌、膵臓癌、皮膚癌、頭頸部癌、皮膚または眼内の悪性黒色腫、子宮癌、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、類表皮癌、子宮頸部扁平上皮癌、卵管癌、子宮内膜癌、腔癌、軟部組織肉腫、尿道癌、外陰部癌、陰茎癌、膀胱癌、腎臓または尿管の癌、腎盂癌、脊髄腫瘍、中枢神経系（CNS）腫瘍、原発性CNSリンパ腫、腫瘍血管新生、前記癌の転移性病変、またはこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。

【 0 3 0 2 】

いくつかの実施形態では、がんは血液癌または転移性病変である。いくつかの実施形態では、血液癌は、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、慢性リンパ性白血病、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯B細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、有毛細胞白血病、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群（MDS）、多発性骨髄腫、または急性リンパ性白血病のうち1つ以上である。

【 0 3 0 3 】

実施形態では多重特異性分子（または医薬組成物）は、治療または予防される疾患に適切な方法で投与される。投与の量と頻度は、患者の状態、患者の疾患の種類と重症度などの要因によって決定される。適切な投与量は、臨床試験によって決定され得る。例えば、「有効量」または「治療量」が示される場合、投与される医薬組成物（または多重特異性分子）の正確な量は、対象の腫瘍サイズ、感染または転移の程度、年齢、体重、及び状態の個人差を考慮して医師によって決定され得る。実施形態では、本明細書に記載の医薬組

10

20

30

40

50

成物は、 $10^4 \sim 10^9$ 細胞/kg体重、例えば、 $10^5 \sim 10^6$ 細胞/kg体重の投与量で投与でき、これらの範囲内の全ての整数値を含む。実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物は、これらの投与量で複数回投与することができる。実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物は、免疫療法に記載の注入技術を使用して投与することができる（例えば、Rosenberg et al., New Eng. J. of Med. 319: 1676, 1988を参照されたい）。

【0304】

実施形態では、多重特異性分子または医薬組成物が非経口的に対象に投与される。実施形態では、細胞は、静脈内、皮下、腫瘍内、結節内、筋肉内、皮内、または腹腔内で対象に投与される。実施形態では、細胞は腫瘍またはリンパ節に直接投与、例えば、注射される。実施形態では、細胞は注入（例えば、Rosenberg et al., New Eng. J. of Med. 319: 1676, 1988に記載されるように）または静脈内プッシュとして投与される。実施形態では細胞は注射可能なデポ製剤として投与される。

10

【0305】

実施形態では、対象は哺乳動物である。実施形態では、対象は、ヒト、サル、ブタ、イヌ、ネコ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウサギ、ラット、またはマウスである。実施形態では、対象はヒトである。実施形態では、対象は小児科の対象、例えば、18歳未満、例えば、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1歳、またはそれ未満である。実施形態では、対象は成人、例えば、18歳以上、例えば、19、20、21、22、23、24、25、25~30、30~35、35~40、40~50、50~60、60~70、70~80、または80~90歳である。

20

【0306】

組み合わせ療法

本明細書に開示される多重特異性分子は、第2の治療剤または処置と組み合わせて使用され得る。

【0307】

実施形態では、多重特異性分子及び第2の治療薬または処置は、対象ががんと診断された後、例えば、がんが対象から取り除かれる前に投与/実行される。実施形態では、多重特異性分子及び第2の治療薬または処置は、同時にまたは並行して投与/実行される。例えば、第2の送達の開始時に、1つの治療の送達はまだ行われており、例えば治療の投与に重複がある。他の実施形態では、多重特異性分子及び第2の治療薬または処置は、逐次的に投与/実行される。例えば、一方の治療の送達は、他方の治療の送達が始まる前に中止される。

30

【0308】

実施形態では、組み合わせ療法は、いずれかの薬剤単独の単独療法よりも効果的な治療をもたらす。実施形態では、第1及び第2の治療の組み合わせは、第1または第2の治療単独よりも効果的である（例えば、症状及び/またはがん細胞の大幅な減少をもたらす）。実施形態では、組み合わせ療法は、単独療法として投与した場合に同様の効果達成するために通常必要な第1または第2の治療の用量と比較して、第1または第2の治療の低用量の使用を可能にする。実施形態では、組み合わせ療法は、部分的に相加的な効果、完全に相加的な効果を有するか、または相加的な効果より大きい。

40

【0309】

一実施形態では、多重特異性分子は、療法、例えば、がん療法（例えば、抗がん剤、免疫療法、光線力学療法（PDT）、手術、及び/または放射線のうちの1つ以上）と組み合わせて投与される。「化学療法」、「化学療法剤」、及び「抗がん剤」という用語は、本明細書では互換可能に使用される。多重特異性分子の投与及び治療、例えば、がん治療は、逐次的（重複を有するかまたは有さない）または同時であり得る。多重特異性分子の投与は、治療（例えば、がん治療）過程の間、継続的または断続的であり得る。本明細書に記載の特定の療法は、がん及び非がん性疾患を治療するために使用することができる。例えば、PDTの有効性は、本明細書に記載の方法及び組成物を使用して、がん性及び非

50

がん性の状態（例えば、結核）で強化することができる（例えば、Agostinis, P. et al. (2011) CA Cancer J. Clin. 61:250-281で総説される）。

【0310】

抗がん療法

他の実施形態では、多重特異性分子は、低分子量または小分子量の化学療法剤と組み合わせられて投与される。例示的な低分子量または低分子量の化学療法剤には、13-シス-レチノイン酸（イソトレチノイン、ACCUTANE（登録商標））、2-CD4（2-クロロデオキシアデノシン、クラドリピン、LEUSTATIN（商標））、5-アザシチジン（アザシチジン、VIDAZA（登録商標））、5-フルオロウラシル（5-FU、フルオロウラシル、ADRUCIL（登録商標））、6-メルカプトプリン（6-MP、メルカプトプリン、PURINETHOL（登録商標））、6-TG（6-チオグアニン、チオグアニン、THIOGUANINE TABLOID（登録商標））、アブラキサン（パクリタキセルタンパク質結合）、アクチノマイシン-D（ダクチノマイシン、COSMEGEN（登録商標））、アイトレチノイン（PANRETIN（登録商標））、オールトランスレチノイン酸（ATRA、トレチノイン、VESANOID（登録商標））、アルトレタミン（ヘキサメチルメラミン、HMM、HEXALEN（登録商標））、アメトプテリン（メトトレキサート、メトトレキサートナトリウム、MTX、TREXAL L（商標）、RHEUMATREX（登録商標））、アミフォスチン（ETHYOL（登録商標））、アラビノシルシトシン（Ara-C、シタラビン、CYTOSAR-U（登録商標））、三酸化ヒ素（TRISENOX（登録商標））、アスパラギナーゼ（エルウィニアル-アスパラギナーゼ、L-アスパラギナーゼ、ELSPAR（登録商標）、KIDROLASE（登録商標））、BCNU（カルムスチン、BiCNU（登録商標））、ベンダムスチン（TREANDA（登録商標））、ベクサーオテン（TARGRETIN（登録商標））、ブレオマイシン（BLENOXANE（登録商標））、ブスルファン（BUSULFEX（登録商標）、MYLERAN（登録商標））、カルシウムロイコボリン（シトロボラム因子、ホリニン酸、ロイコボリン）、カンプトテシン-11（CPT-11、イリノテカン、CAMPTOSAR（登録商標））、カペシタビン（XELODA（登録商標））、カルボプラチン（PARAPLATIN（登録商標））、カルムスチンウェーハ（カルムスチンインプラントプロライフプロスパン20、GLIADEL（登録商標）ウェーハ）、CCI-779（テムシロリムス、TORISEL（登録商標））、CCNU（ロムスチン、CeeNU）、CDDP（シスプラチン、PLATINOL（登録商標）、PLATINOL-AQ（登録商標））、クロラムブシル（ロイケラン）、シクロホスファミド（CYTOXAN（登録商標）、NEOSAR（登録商標））、ダカルバジン（DIC、DTIC、イミダゾールカルボキサミド、DTIC-DOME（登録商標））、ダウノマイシン（ダウノルピシン、塩酸ダウノルピシン、塩酸ルビドマイシン（セルビジン（登録商標））、デシタビン（DACOGEN（登録商標））、デクスラゾキサン（ZINECARD（登録商標））、DHAD（ミトキサントロン、NOVANTRONE（登録商標））、ドセタキセル（TAXOTERE（登録商標））、ドキシソルピシン（ADRIAMYCIN（登録商標）、RUBEX（登録商標））、エピルピシン（ELLENC（商標））、エストラムスチン（EMCYT（登録商標））、エトポシド（VP-16、リン酸エトポシド、TOPOSAR（登録商標）、VEPESID（登録商標）、ETOPOPHOS（登録商標））、フロクスウリジン（FUDR（登録商標））、フルダラビン（FLUDARA（登録商標））、フルオロウラシル（クリーム）（CARAC（商標）、EFUDEX（登録商標）、FLUOROPLEX（登録商標））、ゲムシタビン（GEMZAR（登録商標））、ヒドロキシ尿素（HYDREA（登録商標））、DROXIA（商標）、MYLOCEL（商標）、イダルピシン（IDAMYCIN（登録商標））、イフォスファミド（IFEX（登録商標））、イクサベピロン（IXEMPRA（商標））、LCR（ロイロクリスチン、ピンクリスチン、VCR、ONCOVIN（登録商標）、VINCASAR PFS（登録商標））、L-PAM（L-サル

10

20

30

40

50

コリシン、メルファラン、フェニルアラニンマスタード、ALKERAN（登録商標）、メクロレタミン（塩酸メクロレタミン、ムスチン、窒素マスタード、MUSTARGE N（登録商標）、メスナ（MESNEX（商標）、マイトマイシン（マイトマイシン - C、MTC、MUTAMYCIN（登録商標）、ネララピン（ARRANON（登録商標）、オキサリプラチン（ELOXATIN（商標）、バクリタキセル（TAXOL（登録商標）、ONXAL（商標）、ペガスパルガーゼ（PEG-L-アスパラギナーゼ、ONCOSPARG（登録商標）、PEMETREXED（ALIMTA（登録商標）、ペントスタチン（NIPENT（登録商標）、プロカルバジン（MATULANE（登録商標）、ストレプトゾシン（ZANOSAR（登録商標）、テモゾロミド（TEMODAR（登録商標）、テニポシド（VM-26、VUMON（登録商標）、TESPA（チオホスホアミド、チオテパ、TSPA、THIOPLEX（登録商標）、トポテカン（HYCAMTIN（登録商標）、ピンプラスチン（硫酸ピンプラスチン、ピンカロイコプラスチン、VLB、ALKABAN-AQ（登録商標）、VELBAN（登録商標）、ピノレルピン（酒石酸ピノレルピン、NAVELBINE（登録商標）、及びポリノスタット（ZOLINZA（登録商標））が含まれるが、これらに限定されない。

10

【0311】

別の実施形態では、多重特異性分子は、生物学的製剤と組み合わせて投与される。がんの治療に有用な生物製剤は当該技術分野で公知であり、本発明の結合分子は、例えば、そのような公知の生物製剤と組み合わせて投与することができる。例えば、FDAは乳癌の治療のために次の生物製剤を承認している：HERCEPTIN（登録商標）（トラスツズマブ、Genentech Inc., South San Francisco, Calif., HER2陽性乳癌で抗腫瘍活性を有するヒト化モノクローナル抗体）、FASLODEX（登録商標）（フルベストラント、AstraZeneca Pharmaceuticals, LP, Wilmington, Del., 乳癌の治療に使用されるエストロゲン受容体拮抗薬）、ARIMIDEX（登録商標）（アナストロゾール、AstraZeneca Pharmaceuticals, LP、エストロゲンの生成に必要な酵素であるアロマターゼをブロックする非ステロイド性アロマターゼ阻害剤）、Aromasin（登録商標）（エキセメスタン、Pfizer Inc., New York, N.Y., 乳癌の治療に使用される不可逆的なステロイド性アロマターゼ不活性化剤）、FEMARA（登録商標）（レトロゾール、Novartis Pharmaceuticals, East Hanover, N.J., 乳癌の治療のためにFDAにより承認された非ステロイド性アロマターゼ阻害剤）、及びNOLVADEX（登録商標）（タモキシフェン、AstraZeneca Pharmaceuticals, LP、乳癌の治療のためにFDAによって承認された非ステロイド性抗エストロゲン）。本発明の結合分子と組み合わせることができる他の生物製剤には、以下が含まれる：AVASTIN（登録商標）（bevacizumab、Genentech Inc., 血管新生を阻害するように設計された第1のFDA承認治療）、及びZEVALIN（登録商標）（イブリツモマブチウキセタン、Biogen Idec, Cambridge, Mass., B細胞リンパ腫の治療に現在承認されている放射性標識モノクローナル抗体）。

20

30

40

【0312】

さらに、FDAは結腸直腸癌の治療のために次の生物製剤を承認している：AVASTIN（登録商標）、ERBITUX（登録商標）（セツキシマブ、ImClone Systems Inc., New York, N.Y. 及び Bristol-Myers Squibb, New York, N.Y., は、上皮増殖因子受容体（EGFR）に対するモノクローナル抗体である）、GLEEVEC（登録商標）（メシル酸イマチニブ、プロテインキナーゼ阻害剤）、ならびにERGAMISOL（登録商標）（塩酸レバミゾール、Janssen Pharmaceutica Products, LP, Titusville, N.J., デュークスステージCの結腸癌患者の外科的切除後の5-フルオロウラシルと組み合わせたアジュバント治療としてFDAにより1990年に承認された

50

免疫調節剤)。

【0313】

肺癌の治療のための例示的な生物製剤には、TARCEVA (登録商標) (エルロチニブHCL、OSI Pharmaceuticals Inc., Melville, N. Y.、ヒト上皮増殖因子受容体1 (HER1) 経路を標的とするように設計された小分子) が含まれる。

【0314】

多発性骨髄腫の治療のための例示的な生物製剤には、VELCADE (登録商標) Velcade (ボルテゾミブ、Millennium Pharmaceuticals, Cambridge Mass.、プロテアソーム阻害剤) が含まれる。さらなる生物製剤には、THALIDOMID (登録商標) (サリドマイド、Clegene Corporation, Warren, N. J.、免疫調節剤、骨髄腫細胞の増殖と生存を阻害する能力、抗血管新生を含む複数の作用があるようである) が含まれる。

【0315】

さらなる例示的ながん治療用抗体には、3F8、アバゴボマブ、アデカツママブ、アフツズマブ、アラシズマブペゴル、アレムツズマブ (CAMPATH (登録商標)、MAB CAMPATH (登録商標))、アルツモマブペンテテート (HYBRI-CEAKER (登録商標))、アナツモマブマフェナトックス、アンルキンズマブ (IMA-638)、アポリズマブ、アルシツモマブ (CEA-SCAN (登録商標))、バビツキシマブ、ベクツモマブ (LYMPHOSCAN (登録商標))、ベリムマブ (BENLYSTA (登録商標)、LYMPHOSTAT-B (登録商標))、ベシレソマブ (SCINTIMUN (登録商標))、ベバシズマブ (AVASTIN (登録商標))、ビバツズマブメルタンシン、ブリナツモマブ、ブレンツキシマブベドチン、カンツズマブメルタンシン、カプロマブペンデチド (PROSTASCINT (登録商標))、カツマキソマブ (REMOVAB (登録商標))、CC49、セツキシマブ (C225、ERBITUX (登録商標))、シタツズマブボガトックス、シクツムマブ、クリバツズマブテトラキセタン、コナツムマブ、ダセツズマブ、デノスマブ (PROLIA (登録商標))、デツモマブ、エクロメキシマブ、エドレコロマブ (PANOREX (登録商標))、エロツズマブ、エピツモマブシツキシセタン、エプラツズマブ、エルツマキソマブ (ertumaxomab) (REXOMUN (登録商標))、エタラシズマブ、ファレツズマブ、フィギツムマブ、フレゾリムマブ、ガリキシマブ、ゲムツズマブオゾガマイシン (MYLOTARG (登録商標))、ジレンツキシマブ、グレンバツムマブベドチン、イブリツモマブ (イブリツモマブチウキシセタン、ZEVALIN (登録商標))、イゴボマブ (INDIMACIS-125 (登録商標))、インテツムマブ、イノツズマブオゾガマイシン、イピリムマブ、イラツムマブ、ラベツズマブ (CEA-CIDE (登録商標))、レクサツムマブ、リンツズマブ、ルカツムマブ、ルミリキシマブ、マバツズマブ、マツズマブ、ミラツズマブ、ミンレツモマブ、ミツモマブ、ナコロマブタフェナトックス、ナブツモマブエスタフェナトックス、ネシツムマブ、ニモツズマブ (THERACIM (登録商標)、THERALOC (登録商標))、ノフェツモマブメルペンタン (VERLUMA (登録商標))、オフアツムマブ (ARZERRA (登録商標))、オララツマブ、オボルツズマブモナトックス、オレゴボマブ (OVAREX (登録商標))、パニツムマブ (VECTIBIX (登録商標))、ペムツモマブ (THERAGYN (登録商標))、ペルツズマブ (OMNITARG (登録商標))、ピンツモマブ、プリツムマブ、ラムシルマブ、ラニビズマブ (LUCENTIS (登録商標))、リロツムマブ、リツキシマブ (MABTHERA (登録商標)、RITUXAN (登録商標))、ロバツムマブ、サツモマブペンデチド、シブロツズマブ、シルツキシマブ、ソソツズマブ、タカツズマブテトラキセタン (AFP-CIDE (登録商標))、タブリツモマブパブトックス、テナツモマブ、TGN1412、チシリムマブ (トレメリムマブ)、チガツズマブ、TNX-650、トシツモマブ (BEXXAR (登録商標))、トラスツズマブ (HERCEPTIN (登録商標))、トレメリムマブ、ツコツズマブセルモロイキン、ベルツズマブ、ボロシキシマブ、ボツムマブ

10

20

30

40

50

(HUMASPECT (登録商標))、ザルツムマブ (HUMAX - EGFR (登録商標))、及びザノリムマブ (HUMAX - CD4 (登録商標))が含まれるが、これらに限定されない。

【0316】

他の実施形態では、多重特異性分子は、ウイルス性がん治療薬と組み合わせて投与される。例示的なウイルス性がん治療薬には、ワクシニアウイルス (vvDD - CDSR)、がん胎児性抗原発現麻疹ウイルス、組換えワクシニアウイルス (TK欠失プラスGM - CSF)、セネカバレーウイルス - 001、ニューカッスルウイルス、コクサッキーウイルスA21、GL - ONC1、EBNA1 C末端 / LMP2キメラタンパク質発現組換え改変ワクシニアアンカラワクチン、がん胎児性抗原発現麻疹ウイルス、G207腫瘍溶解性ウイルス、p53発現改変ワクシニアウイルスアンカラワクチン、OncovEX GM - CSF改変単純ヘルペス1ウイルス、鶏痘ウイルスワクチンベクター、組換えワクシニア前立腺特異的抗原ワクチン、ヒトパピローマウイルス16 / 18 L1ウイルス様粒子 / AS04ワクチン、MVA - EBNA1 / LMP2注射ワクチン、4価HPVワクチン、4価ヒトパピローマウイルス (タイプ6、11、16、18) 組換えワクチン (GARDASIL (登録商標))、組換え鶏痘 - CEA (6D) / TRICOMワクチン、組換えワクシニア - CEA (6D) - TRICOMワクチン、組換え改変ワクシニアアンカラ - 5T4ワクチン、組換え鶏痘 - TRICOMワクチン、腫瘍溶解性ヘルペスウイルスNV1020、HPV L1 VLPワクチンV504、ヒトパピローマウイルス2価 (タイプ16及び18) ワクチン (CERVARIX (登録商標))、単純ヘルペスウイルスHF10、Ad5CMV - p53遺伝子、組換えワクシニアDF3 / MUC1ワクチン、組換えワクシニア - MUC - 1ワクチン、組換えワクシニア - TRICOMワクチン、ALVAC MART - 1ワクチン、複製欠損単純ヘルペスウイルスタイプI (HSV - 1) ヒトプレプロエンケファリン (NP2) 発現ベクター、野生型レオウイルス、レオウイルスタイプ3ディアリング (REOLYSIN (登録商標))、腫瘍溶解性ウイルスHSV1716、エプスタイン - バーウイルスの標的抗原をコードする組換え型改変ワクシニアアンカラ (MVA) ベースのワクチン、組換え鶏痘前立腺特異的抗原ワクチン、組換えワクシニア前立腺特異的抗原ワクチン、組換えワクシニアB7.1ワクチン、rAd - p53遺伝子、Ad5 - delta24RGD、HPVワクチン580299、JX - 594 (チミジンキナーゼ欠失ワクシニアウイルスプラスGM - CSF)、HPV - 16 / 18 L1 AS04、鶏痘ウイルスワクチンベクター、ワクシニアチロシナーゼワクチン、MEDI - 517 HPV - 16 / 18 VLP AS04ワクチン、単純ヘルペスウイルスTK99UNのチミジンキナーゼを含むアデノウイルスベクター、HspE7、FP253 / フルダラピン、ALVAC (2) 黒色腫マルチ抗原治療ワクチン、ALVAC - hB7.1、canarypox - hIL - 12黒色腫ワクチン、Ad - REIC / Dkk - 3、rAd - IFN SCH 721015、TIL - Ad - INFg、Ad - ISF35、及びコクサッキーウイルスA21 (CVA21、CAVATAK (登録商標))が含まれるが、これらには限定されない。

【0317】

他の実施形態では、多重特異性分子は、ナノ医薬品と組み合わせて投与される。例示的ながんナノ医薬品には、ABRAXANE (登録商標) (パクリタキセル結合アルブミンナノ粒子)、CRLX101 (直線状シクロデキストリンベースのポリマーに結合したCPT)、CRLX288 (ドセタキセルを生分解性ポリマーポリ (乳酸 - co - グリコール酸) にコンジュゲートする)、シタラピンリポソーム (リポソームAra - C、DEPOCYT (商標))、ダウノルピシンリポソーム (DAUNOXOME (登録商標))、ドキシソルピシンリポソーム (DOXIL (登録商標)、CAELYX (登録商標))、カプセル化ダウノルピシンクエン酸リポソーム (DAUNOXOME (登録商標))、及びPEG抗VEGFアプタマー (MACUGEN (登録商標))が含まれるが、これらに限定されない。

【0318】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、多重特異性分子は、パクリタキセルまたはパクリタキセル製剤、例えば、TAXOL（登録商標）、タンパク質結合パクリタキセル（例えば、ABRAXANE（登録商標））と組み合わせて投与される。例示的なパクリタキセル製剤には、ナノ粒子アルブミン結合パクリタキセル（ABRAXANE（登録商標）、Abraxis Bioscienceによって販売）、ドコサヘキサエン酸結合パクリタキセル（DHA - パクリタキセル、タキソプレキシン、Protargaによって販売）、ポリグルタミン酸結合パクリタキセル（PG - パクリタキセル、パクリタキセルポリグリメックス、CT - 2103、XYOTAX、Cell Therapeuticによって販売）、腫瘍活性化プロドラッグ（TAP）、ANG105（Angiopep - 2がパクリタキセルの3つの分子に結合、ImmunoGenによって販売）、パクリタキセル - EC - 1（erbB2認識ペプチドEC - 1に結合したパクリタキセル、Liet al., Biopolymers（2007）87：225 - 230を参照されたい）、及びグルコースコンジュゲートパクリタキセル（例えば、2' - パクリタキセルメチル2 - グルコピラノシルコハク酸、Liu et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters（2007）17：617 - 620を参照されたい）が含まれるが、これらに限定されない。

10

【0319】

がんを治療するための例示的なRNAi及びアンチセンスRNA剤には、CALAA - 01、siG12D LODER（Local Drug EluteR）、及びALN - VSP02が含まれるが、これらに限定されない。

20

【0320】

他のがん治療薬には、サイトカイン（例えば、アルデスロイキン（IL - 2、インターロイキン - 2、PROLEUKIN（登録商標））、アルファインターフェロン（IFN - アルファ、インターフェロンアルファ、INTRON（登録商標）A（インターフェロンアルファ - 2b）、ROFERON - A（登録商標）（インターフェロンアルファ - 2a））、エポエチンアルファ（PROCRIT（登録商標））、フィルグラスチム（G - CSF、顆粒球 - コロニー刺激因子、NEUPOGEN（登録商標））、GM - CSF（顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、サルグラモスチム、LEUKINE（商標））、IL - 11（インターロイキン - 11、オブレルベキン、NEUMEGA（登録商標））、インターフェロンアルファ - 2b（PEGコンジュゲート）（PEGインターフェロン、PEG - INTRON（商標））、及びペグフィルグラスチム（NEULASTA（商標））、ホルモン療法剤（例えば、アミノグルテチミド（CYTADREN（登録商標））、アナストロゾール（ARIMIDEX（登録商標））、ピカルタミド（CASODEX（登録商標））、エキセメスタン（AROMASIN（登録商標））、フルオキシメステロン（HALOTESTIN（登録商標））、フルタミド（EULEXIN（登録商標））、フルベストラント（FASLODEX（登録商標））、ゴセレリン（ZOLADDEX（登録商標））、レトロゾール（FEMARA（登録商標））、ロイプロリド（ELIGARD（商標））、LUPRON（登録商標）、LUPRON DEPOT（登録商標）、VIADUR（商標））、メゲストロール（酢酸メゲストロール、MEGACE（登録商標））、ニルタミド（ANANDRON（登録商標）、NILANDRON（登録商標））、オクトレオチド（酢酸オクトレオチド、SANDOSTATIN（登録商標））、SANDOSTATIN LAR（登録商標））、ラロキシフェン（EVISTA（登録商標））、ロミプロスチム（NPLATE（登録商標））、タモキシフェン（NOVALDEX（登録商標））、及びトレミフェン（FARESTON（登録商標））、ホスホリパーゼA2阻害剤（例えば、アナグレリド（AGRYLIN（登録商標））、生物学的応答修飾因子（例えば、BCG（THERACYS（登録商標））、TICE（登録商標））、ダルベポエチンアルファ（ARANESP（登録商標））、標的治療薬（例えば、ボルテゾミブ（VELCADE（登録商標））、ダサチニブ（SPRYCEL（商標））、デニロイキンジフチトックス（ONTAK（登録商標））、エルロチニブ（TARCEVA（登録商標））、エベロリムス（AFINITOR（登録商標））、ゲフィチニ

30

40

50

ブ (I R E S S A (登 録 商 標)) 、 メ シ ル 酸 イ マ チ ニ ブ (S T I - 5 7 1 、 G L E E V E C (商 標)) 、 ラ パ チ ニ ブ (T Y K E R B (登 録 商 標)) 、 ソ ラ フ ェ ニ ブ (N E X A V A R (登 録 商 標)) 、 及 び S U 1 1 2 4 8 (ス ニ チ ニ ブ 、 S U T E N T (登 録 商 標)) 、 免 疫 調 節 剤 及 び 抗 血 管 新 生 剤 (例 え ば 、 C C - 5 0 1 3 (レ ナ リ ド マ イ ド 、 R E V L I M I D (登 録 商 標)) 、 及 び サ リ ド マ イ ド (T H A L O M I D (登 録 商 標))) 、 グ ル コ コ ル チ コ ス テ ロ イ ド (例 え ば 、 コ ル チ ゾ ン (ヒ ド ロ コ ル チ ゾ ン 、 ヒ ド ロ コ ル チ ゾ ン リ ン 酸 ナ ト リ ウ ム 、 ヒ ド ロ コ ル チ ゾ ン コ ハ ク 酸 ナ ト リ ウ ム 、 A L A - C O R T (登 録 商 標) 、 H Y D R O C O R T A C E T A T E (登 録 商 標) 、 リ ン 酸 ヒ ド ロ コ ル ト ン L A N A C O R T (登 録 商 標) 、 S O L U - C O R T E F (登 録 商 標)) 、 デ カ ド ロ ン (デ キ サ メ タ ゾ ン 、 酢 酸 デ キ サ メ タ ゾ ン 、 リ ン 酸 デ キ サ メ タ ゾ ン ナ ト リ ウ ム 、 D E X A S O N E (登 録 商 標) 、 D I O D E X (登 録 済 み) 商 標) 、 H E X A D R O L (登 録 商 標) 、 M A X I D E X (登 録 商 標)) 、 メ チ ル プ レ ド ニ ゾ ロ ン (6 - メ チ ル プ レ ド ニ ゾ ロ ン 、 酢 酸 メ チ ル プ レ ド ニ ゾ ロ ン ナ ト リ ウ ム 、 コ ハ ク 酸 メ チ ル プ レ ド ニ ゾ ロ ン ナ ト リ ウ ム 、 D U R A L O N E (登 録 商 標) 、 M E D R A L O N E (登 録 商 標) 、 M E D R O L (登 録 商 標) 、 M - P R E D N I S O L (登 録 商 標) 、 S O L U - M E D R O L (登 録 商 標)) 、 プ レ ド ニ ゾ ロ ン (D E L T A - C O R T E F (登 録 商 標) 、 O R A P R E D (登 録 商 標) 、 P E D I A P R E D (登 録 商 標) 、 P R E L O N E (登 録 商 標)) 、 及 び プ レ ド ニ ゾ ン (D E L T A S O N E (登 録 商 標) 、 L I Q U I D P R E D (登 録 商 標) 、 M E T I C O R T E N (登 録 商 標)) 、 O R A S O N E (登 録 商 標))) 、 な ら び に ビ ス フ オ ス フ オ ネ ー ト (例 え ば 、 パ ミ ド ロ ネ ー ト (A R E D I A (登 録 商 標)) 、 及 び ゾ レ ド ロ ン 酸 (Z O M E T A (登 録 商 標))) が 含 ま れ る が 、 こ れ ら に 限 定 さ れ な い 。

10

20

【 0 3 2 1 】

いくつの実施形態では、多重特異性分子は、チロシンキナーゼ阻害剤 (例 え ば 、 受 容 体 チ ロ シ ン キ ナ ー ゼ (R T K) 阻 害 剤) と 組 み 合 わ せ て 使 用 さ れ る 。 例 示 的 な チ ロ シ ン キ ナ ー ゼ 阻 害 剤 に は 、 上 皮 増 殖 因 子 (E G F) 経 路 阻 害 剤 (例 え ば 、 上 皮 増 殖 因 子 受 容 体 (E G F R) 阻 害 剤) 、 血 管 内 皮 増 殖 因 子 (V E G F) 経 路 阻 害 剤 (例 え ば 、 V E G F に 対 す る 抗 体 、 V E G F ト ラ ッ プ 、 血 管 内 皮 増 殖 因 子 受 容 体 (V E G F R) 阻 害 剤 (例 え ば 、 V E G F R - 1 阻 害 剤 、 V E G F R - 2 阻 害 剤 、 V E G F R - 3 阻 害 剤) 、 血 小 板 由 来 増 殖 因 子 (P D G F) 経 路 阻 害 剤 (例 え ば 、 血 小 板 由 来 増 殖 因 子 受 容 体 (P D G F R) 阻 害 剤 (例 え ば 、 P D G F R - 阻 害 剤)) 、 R A F - 1 阻 害 剤 、 K I T 阻 害 剤 、 及 び R E T 阻 害 剤 が 含 ま れ る が 、 こ れ ら に 限 定 さ れ な い 。 いくつの実施形態では、A H C M 剤 と 組 み 合 わ せ て 使 用 さ れ る 抗 が ん 剤 は 、 ア キ シ チ ニ ブ (A G 0 1 3 7 3 6) 、 ポ ス チ ニ ブ (S K I - 6 0 6) 、 セ ジ ラ ニ ブ (R E C E N T I N (商 標) 、 A Z D 2 1 7 1) 、 ダ サ チ ニ ブ (S P R Y C E L (登 録 商 標) 、 B M S - 3 5 4 8 2 5) 、 エ ル ロ チ ニ ブ (T A R C E V A (登 録 商 標)) 、 ゲ フ ィ チ ニ ブ (I R E S S A (登 録 商 標)) 、 イ マ チ ニ ブ (G l e e v e c (登 録 商 標) 、 C G P 5 7 1 4 8 B 、 S T I - 5 7 1) 、 ラ パ チ ニ ブ (T Y K E R B (登 録 商 標) 、 T Y V E R B (登 録 商 標)) 、 レ ス タ ウ ル チ ニ ブ (C E P - 7 0 1) 、 ネ ラ チ ニ ブ (H K I - 2 7 2) 、 ニ ロ チ ニ ブ (T A S I G N A (登 録 商 標)) 、 セ マ ク サ ニ ブ (セ マ キ シ ニ ブ 、 S U 5 4 1 6) 、 ス ニ チ ニ ブ (S U T E N T (登 録 商 標) 、 S U 1 1 2 4 8) 、 ト セ ラ ニ ブ (P A L L A D I A (登 録 商 標)) 、 バ ン デ タ ニ ブ (Z A C T I M A (登 録 商 標) 、 Z D 6 4 7 4) 、 パ タ ラ ニ ブ (P T K 7 8 7 、 P T K / Z K) 、 ト ラ ス ツ ズ マ ブ (H E R C E P T I N (登 録 商 標)) 、 ベ バ シ ズ マ ブ (A V A S T I N (登 録 商 標)) 、 リ タ キ シ マ ブ (R I T U X A N (登 録 商 標)) 、 セ ツ キ シ マ ブ (E R B I T U X (登 録 商 標)) 、 パ ニ ム マ ブ (V E C T I B I X (登 録 商 標)) 、 ラ ニ ビ ズ マ ブ (L u c e n t i s (登 録 商 標)) 、 ニ ロ チ ニ ブ (T A S I G N A (登 録 商 標)) 、 ソ ラ フ ェ ニ ブ (N E X A V A R (登 録 商 標)) 、 ア レ ム ツ ズ マ ブ (C A M P A T H (登 録 商 標)) 、 ゲ ム ツ ズ マ ブ オ ゾ ガ マ イ シ ン (M Y L O T A R G (登 録 商 標)) 、 E N M D - 2 0 7 6 、 P C I - 3 2 7 6 5 、 A C 2 2 0 、 乳 酸 ド ビ チ ニ ブ (T K I 2 5 8 、 C H I R - 2 5 8) 、 B I B W 2 9 9 2 (T O V O K (商 標)) 、 S G X 5 2 3 、 P F - 0 4 2 1 7 9 0 3 、 P F - 0 2 3 4 1 0 6 6 、 P F - 2 9 9 8 0 4 、 B M S - 7 7 7 6 0 7 、 A B T

30

40

50

- 869、MP470、BIBF 1120 (VARGATEF (登録商標))、AP24534、JNJ - 26483327、MGCD265、DCC - 2036、BMS - 690154、CEP - 11981、チボザニブ (AV - 951)、OSI - 930、MM - 121、XL - 184、XL - 647、XL228、AEE788、AG - 490、AST - 6、BMS - 599626、CUDC - 101、PD153035、ペリチニブ (EKB - 569)、バンデタニブ (ザクチマ)、WZ3146、WZ4002、WZ8040、ABT - 869 (リニファニブ)、AEE788、AP24534 (ポナチニブ)、AV - 951 (チボザニブ)、アキシチニブ、BAY 73 - 4506 (レゴラフェニブ)、プリバニブアラニン酸塩 (BMS - 582664)、プリバニブ (BMS - 540215)、セジラニブ (AZD2171)、CHIR - 258 (ドピチニブ)、CP 673451、CYC116、E7080、Ki8751、マシチニブ (AB1010)、MGCD - 265、モテサニブニリン酸 (AMG - 706)、MP - 470、OSI - 930、塩酸パゾパニブ、PD173074、nソラフェニブトシラート (Bay 43 - 9006)、SU5402、TSU - 68 (SU6668)、パタラニブ、XL880 (GSK1363089、EXEL - 2880) からなる群から選択される。選択されたチロシンキナーゼ阻害剤は、スニチニブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、またはソラフェニブから選択される。一実施形態では、チロシンキナーゼ阻害剤はスニチニブである。

【0322】

一実施形態では、多重特異性分子は、抗血管新生剤、または血管標的化剤または血管破壊剤のうちの一つ以上と組み合わせて投与される。例示的な抗血管新生剤には、とりわけ、VEGF阻害剤 (例えば、抗VEGF抗体 (例えば、ベバシズマブ)、VEGF受容体阻害剤 (例えば、イトラコナゾール)、細胞増殖阻害剤及び/または内皮細胞の遊走の阻害剤 (例えば、カルボキシアミドトリアゾール、TNP - 470)、血管新生刺激因子の阻害剤 (例えば、スラミン) が含まれるが、これらに限定されない。血管標的化剤 (VTA) または血管破壊剤 (VDA) は、がん腫瘍の血管 (血管) を損傷して中心性壊死を引き起こすように設計されている (例えば、Thorpe, P. E. (2004) Clin. Cancer Res. Vol. 10: 415 - 427に総説される)。VTAは低分子であってよい。例示的な小分子VTAには、微血管不安定化剤 (例えば、コンプレタスタチンA - 4リン酸二ナトリウム (CA4P)、ZD6126、AVE8062、Oxi4503)、及びバジメザン (ASA404) が含まれるが、これらに限定されない。

【0323】

免疫チェックポイント阻害剤

他の実施形態では、本明細書に記載の方法は、多重特異性分子と組み合わせた免疫チェックポイント阻害剤の使用を含む。この方法は、*in vivo*の治療プロトコールで使用することができる。

【0324】

実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤はチェックポイント分子を阻害する。例示的なチェックポイント分子には、CTLA4、PD1、PD - L1、PD - L2、TIM3、LAG3、CD160、2B4、CD80、CD86、B7 - H3 (CD276)、B7 - H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14またはCD270)、BTLA、KIR、MHCクラスI、MHCクラスII、GAL9、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、及びA2aRが含まれるが、これらに限定されない。例えば、参照により本明細書に組み込まれるPardoll, Nat. Rev. Cancer 12. 4 (2012): 252 - 64を参照されたい。

【0325】

実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤はPD - 1阻害剤、例えば、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、ピジリズマブなどの抗PD - 1抗体である。ニボルマブ (MDX - 1106、MDX - 1106 - 04、ONO - 4538、またはBMS - 936558とも呼ばれる) は、PD1を特異的に阻害する完全ヒトIgG4モノクローナル抗体である。例えば、US8,008,449及びWO2006/121168を参照されたい。ペン

10

20

30

40

50

ブロリズマブ(ラムブロリズマブ、MK-3475、MK03475、SCH-900475またはKEYTRUDA(登録商標)とも呼ばれる、Merck)は、PD-1に結合するヒト化IgG4モノクローナル抗体である。例えば、Hamid, O. et al. (2013) *New England Journal of Medicine* 369(2): 134-44, US8,354,509、及びWO2009/114335を参照されたい。ピジリズマブ(CT-011またはCure Techとも呼ばれる)は、PD1に結合するヒト化IgG1kモノクローナル抗体である。例えば、WO2009/101611を参照されたい。一実施形態では、PD-1の阻害剤は、実質的に同一または類似の配列、例えば、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、またはピジリズマブの配列と少なくとも85%、90%、95%またはそれ以上同一である配列を有する抗体分子である。さらなる抗PD1抗体、例えば、AMP 514 (Amplimmune)は、例えば、US8,609,089、US2010028330、及び/またはUS20120114649に記載されている。

10

【0326】

いくつかの実施形態では、PD-1阻害剤は、イムノアドヘシン、例えば、定常領域(例えば、重鎖のFc領域)に融合したPD-1リガンド(例えば、PD-L1またはPD-L2)の細胞外/PD-1結合部分を含むイムノアドヘシンである。実施形態では、PD-1阻害剤は、B7-H1とPD-1の間の相互作用をブロックするPD-L2 Fc融合可溶性受容体であるAMP-224 (B7-DC Ig、例えば、WO2011/066342及びWO2010/027827に記載)である。

20

【0327】

実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤はPD-L1阻害剤、例えば、抗体分子である。いくつかの実施形態では、PD-L1阻害剤はYW243.55.S70、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0010718C、またはMDX-1105である。いくつかの実施形態では、抗PD-L1抗体は、PD-L1に結合するモノクローナル抗体であるMSB0010718C (A09-246-2とも呼ばれる、Merck Serono)である。例示的なヒト化抗PD-L1抗体は、例えば、WO2013/079174に記載されている。一実施形態では、PD-L1阻害剤は、抗PD-L1抗体、例えば、YW243.55.S70である。YW243.55.S70抗体は、例えば、WO2010/077634に記載されている。一実施形態では、PD-L1阻害剤は、MDX-1105 (BMS-936559とも呼ばれる)であり、例えば、WO2007/005874に記載されている。一実施形態では、PD-L1阻害剤は、PD-L1に対するヒトFc最適化IgG1モノクローナル抗体であるMDPL3280A (Genentech/Roche)である。例えば、米国特許第7,943,743号、及び米国特許出願公開第20120039906号を参照されたい。一実施形態では、PD-L1の阻害剤は、実質的に同一または類似の配列、例えば、YW243.55.S70、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0010718C、またはMDX-1105の配列と少なくとも85%、90%、95%またはそれ以上同一である配列を有する抗体分子である。

30

【0328】

実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤はPD-L2阻害剤、例えば、AMP-224 (PD1とB7-H1の間の相互作用をブロックするPD-L2 Fc融合可溶性受容体である)である。例えば、WO2010/027827及びWO2011/066342を参照されたい。

40

【0329】

一実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤はLAG-3阻害剤、例えば、抗LAG-3抗体分子である。実施形態では、抗LAG-3抗体はBMS-986016 (BMS986016とも呼ばれる、Bristol-Myers Squibb)である。BMS-986016及び他のヒト化抗LAG-3抗体は、例えば、US2011/0150892、WO2010/019570、及びWO2014/008218に記載されてい

50

る。

【0330】

実施形態では免疫チェックポイント阻害剤は、TIM-3阻害剤、例えば、抗TIM3抗体分子であり、例えば、米国特許第8,552,156号、WO2011/155607、EP2581113、及び米国特許公開第2014/044728号に記載されている。

【0331】

実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤はCTLA-4阻害剤、例えば、抗CTLA-4抗体分子である。例示的な抗CTLA4抗体には、トレメリムマブ（以前はチシリムマブとして知られていたPfizerからのIgG2モノクローナル抗体、CP-675,206）、及びイピリムマブ（MDX-010とも呼ばれる、CAS No. 477202-00-9）が含まれる。他の例示的な抗CTLA-4抗体は、例えば、米国特許第5,811,097号に記載されている。

10

【実施例】

【0332】

以下の実施例は、例示を意図したものであり、決して限定を意味するものではない。

【0333】

実施例1．複数のCCR2 / CSF1R二重特異性抗体分子の生成

1．プラスミドの構築

タンパク質配列をコードするDNAは、*Cricetulus griseus*での発現用に最適化され、合成され、ゲートウェイクローニングを使用してpCDNA3.4-TOPO (Life Technologies A14697) にクローニングされた。全てのコンストラクトはIgカッパリーダー配列を含んだ。(ATGGAAACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCTGCTCTTGTGGGTGCCAGGATCTACAGGA (配列番号115)、配列番号METDTLLLVVLLLVVPGSTG (配列番号116))。使用した核酸配列を表5に示す。

20

【0334】

30

40

50

【表 5 - 1】

表 5 : 例示的な抗体の核酸配列

配列番号	説明	核酸配列
配列番号 1	α CCR 2 MC 1 2 V H	CAGGTCCAGCTGCAAGAGTCTGGCCC TGGACTGGTTCAGCCCTCTCAGACCC TGTCTCTGACCTGTACCGTGTCCGGC TTCTCCCTGACCGACTTCTCTGTGCA CTGGGTCCGACAGCCTCCAGGCCAAAG GACTGGAATGGATGGGCAGAAATCAGA TCCGAGGGCAACACCGACTACAACAG CGCCCTGAAGTCCCGGCTGTCTATCA GCAGAGACACCTCCAAGAGCCAGGTG TTCCTGAAGATGAACTCCCTGCAGAC CGAGGACACCGCCATCTATTTCTGCA CCAGAGGCGACATCCTCGGCTTCGGC TATTGGGGACAGGGCGTGATGGTCAC CGTTAGCTCT
配列番号 2	α CCR 2 MC 1 2 V L	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCA GTCCGTGTCTGTGACCCCTGGCGAGT CTGCCTCCATCTCCTGCAGATCCTCC AAGAGCCTGCTGCACTTCAAGGGCAT CACCTTCGTGTACTGGTATCTGCAGA AGCCCGGCCAGTCTCCTCAGCTGCTG ATCTTCAGAAATGTCCAGCCTGGCCTC TGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCT CCGGCTCCGAGACAGACTTCACCCTG AAGATCTCCAGAGTGGAAGCCGAGGA CGTGGGCACCTACTATTGTGGCCAGC TGCTGGAAAACCCCTACACCTTTGGC GCTGGCACCAAGCTGGAACTGAAG
配列番号 3	R 2 b CH 1	GCTCAGACCACCGCTCCTAGCGTGTA CCCTTTGGCTCCTGGCTGTGGCGACA

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

		CCACCTCTTCTACAGTGACCCTGGGC TGTCTGGTCAAGGGCTACTTTCTGA GCCTGTGACCGTGACCTGGAACCTG GTGCCCTGTCTCCGACGTGCACACC TTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCGGCCT GTACACCCTGACATCCTCCGTGACCT CTTCACCTGGCCTAGCCAGACCGTG ACATGCAATGTGGCTCACCCCTGCCTC CAGCACCAAGGTGGACAAGAAGGTGG AACGGCGG	10
配列番号 4	R 2 b CL	AGAGCTGACGCTGCCCCTACCGTGTC TATCTTCCCTCCATCCATGGAACAGC TGACCTCTGGCGGAGCTACCGTCTGTG TGCTTCGTGAACAACCTTCTACCCTCG GGACATCTCCGTGAAGTGGAAGATCG ACGGCTCTGAGCAGCGAGATGGCGTG CTGGATTCTGTGACCGACCAGGACTC CAAGGACAGCACCTACTCCATGTCTA GCACCCTGAGCCTGACCAAGGTGGAA TACGAGCGGCACAACCTGTATACCTG CGAGGTGGTGCACAAGACCTCCAGCT CTCCCGTGGTCAAGTCCTTCAACCGG AACGAGTGC	20
配列番号 5	α m C S F 1 R VH	CAGGTCCAGTTGCAGCAGTCTGGCGC TGAGCTGGTCAAGCCTGGATCCTCCG TGAAGATCTCCTGCAAGGCCTCCGGC TACACCTTACCTCCAACCTTCATGCA CTGGATCAAGCAGCAGCCCGGCAACG GCCTGGAATGGATCGGATGGATCTAT CCTGGCGACGGCGACACCGAGTACAA CCAGAAGTTCAACGGCAAGGCTACCC TGACCGCCGACAAGTCCTCTTCCACC GCTTACATGCAGCTGTCCAGCCTGAC CTCTGAGGACTCCGCCGTGTACTTCT GCGCCGTGAATTATGGCGGCTACGTG CTGGATGCTTGGGGCCAAGGCGCTTC TGTGACAGTGTCTCT	30
配列番号 6	R 2 a CH 1	GCCGAGACAACCGCTCCTAGCGTTTA CCCTCTGGCTCCTGGCACAGCCCTGA AGTCCAACCTCTATGGTCAACCCTGGGC TGCCTGGTCAAGGGCTACTTTCTGA GCCTGTGACCGTGACCTGGAACCTG GTGCTCTGTCTAGCGGCGTGCACACC	40

【表 5 - 3】

		TTTCCAGCTGTGCTGCAGAGCGGCCT GTACACCCCTGACATCTAGCGTGACCG TGCCTTCCAGCACCTGGTCTAGTCAG GCTGTGACCTGCAACGTGGCCCATCC TGCCTCTTCTACCAAGGTGGACAAGA AAATCGTGCCCAGAGAGTGCAAC	
配列番号 7	α mCS F1R VL	GAGATCGTGCTGACCCAGTCTCCTAC CACCATGGCTGCTAGCCCTGGCGAGA AAGTGACAATTACCTGCCGGGCCTCC TCCTCCACCAACTACATGTCCTGGTA TCAGCAGAAGTCCGGCGCCTCTCCTA AGCCTTGGATCTACGAGACATCCAAG CTGGCCTCTGGCGTGCCCGATAGATT TTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCTCCT ACAGCTTCAACCATCTCCAGCATGGAA ACAGAGGACGCCGCCACCTACTACTG CCACCAGTGGTCATCTACCCCTCTGA CCTTTGGCAGCGGCACCAAGCTGGAA ATCAAG	10
配列番号 8	R2a CL	AGAGCTGACGCCGCTCCTACCGTGTC TATCTTCCCTCCATCCATGGAACAGC TGACCTCCGGCGGAGCTACCGTCTGTG TGTTTCGTGAACAACCTTCTACCCTCG GGACATCTCCGTGAAGTGGAAGATCG ACGGCTCTGAGCAGCGAGATGGCGTG CTGGATTCTGTGACCGACCAGGACTC CAAGGACAGCACCTACTCCATGTCTA GCACCCTGAGCCTGACCAAGGTGGAA TACGAGCGGCACAACCTGTATACCTG CGAGGTGGTGCACAAGACCTCCAGCT CTCCCGTGGTCAAGTCCTTCAACCGG AACGAGTGC	20 30
配列番号 9	mFcノ ブ	ACCATTAAGCCTTGTCTCCTCCATGCAA GTGCCCCGCTCCTAATCTGCTCGGAG GCCCTTCCGTGTTTCACTTTCCACCT AAGATCAAGGACGTGCTGATGATCTC CCTGTCTCCTATCGTGACCTGCGTGG TGGTGGACGTGTCCGAGGATGATCCT GACGTGCAGATCAGTTGGTTCGTGAA CAACGTGGAAGTGCACACCGCTCAGA CCCAGACACACAGAGAGGACTACAAC TCTACCCTGAGAGTGGTGTCTGCCCT GCCTATCCAGCATCAGGACTGGATGT	40

【表 5 - 4】

		<p>CCGGCAAAGAATTCAAGTGCAAAGTG AACAAACAAGGACCTGCCTGCTCCAAT CGAGCGGACCATCTCTAAGCCTAAGG GCTCTGTTCAGGGCCCCTCAGGTGTAC GTTCTGCCTCCTTGCAGGAAGAGAT GACCAAGAAACAAGTGACACTGTGGT GCATGGTCCACAGACTTCATGCCCGAG GACATCTACGTGGAATGGACCAACAA CGGCAAGACCGAGCTGAACTACAAGA ACACCGAGCCTGTGCTGGACTCCGAC GGCTCCTACTTCATGTACTCCAAGCT GCGCGTCGAGAAGAAGAAGTGGGTCG AGAGAAACTCCTACTCCTGCTCCGTG GTGCACGAGGGCCTGCACAATCACCA CACCACCAAGTCCTTCTCTCGGACCC CTGGCAAG</p>
<p>配列番号 10</p>	<p>mFcホ ール</p>	<p>ACCATCAAGCCCTGTCCTCCATGCAA GTGCCCCGCTCCTAATCTGCTCGGAG GCCCTTCCGTGTTTCATCTTCCCACCT AAGATCAAGGACGTGCTGATGATCTC CCTGTCTCCTATCGTGACCTGCGTGG TGGTGGACGTGTCCGAGGATGATCCT GACGTGCAGATCAGTTGGTTCGTGAA CAACGTGGAAGTGACACCCGCTCAGA CCCAGACACACAGAGAGGACTACAAC AGCACCCCTGAGAGTGGTGTCTGCCCT GCCAATCCAGCACCCAGGATTGGATGT CCGGCAAAGAATTCAAGTGCAAAGTG AACAAACAAGGACCTGCCTGCTCCAAT CGAGCGGACCATCTCTAAGCCTAAGG GCTCTGTGCGGGCTCCCCAAGTTTGT GTTCTGCCTCCACCTGAGGAAGAGAT GACCAAGAAACAAGTGACCCTGTCTT GTGCCGTGACCGACTTCATGCCCGAG GACATCTACGTGGAATGGACCAACAA TGGCAAGACCGAGCTGAACTACAAGA ACACCGAGCCTGTGCTGGACTCCGAC GGCTCCTACTTCATGGTGTCTAAGCT GCGCGTCGAGAAGAAGAAGTGGGTCG AGAGAAACTCCTACTCCTGCTCCGTG GTGCACGAGGGCCTGCACAATCACCA CACCACCAAGTCCTTCTCTCGGACCC CTGGCAAG</p>

10

20

30

40

50

【表 5 - 5】

配列番号 1 1	α h C C R 2 プロザリ ズマブ V H	GAGGTGCAGCTGGTTGAATCTGGCGG AGGACTGGTTAAGCCTGGCGGCTCTC TGAGACTGTCTTGTGCCGCTTCTGGC TTCACCTTCTCCGCCTACGCCATGAA CTGGGTCCGACAGGCTCCTGGCAAAG GCCTGGAATGGGTCCGGAAGAATCCGG ACCAAGAACAACAACACTACGCCACCTA CTACGCCGACTCCGTGAAGGACCGGT TCACCATCTCTCGGGACGACTCCAAG AACACCCTGTACCTGCAGATGAACTC CCTGAAAACCGAGGACACCGCCGTGT ACTACTGCACCACCTTCTACGGCAAT GGCGTGTGGGGACAGGGCACACTGGT TACCGTTTCTTCCGCCTCCACCAAGG GACCCTCTGTGTTTCCTCTGGCTCCC TCCAGCAAGTCTACCTCTGGTGGAAC AGCTGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG ATTACTTTCCTGAGCCTGTGACCGTG TCCTGG	10
配列番号 1 2	h C H 1	GCTTCTACCAAGGGACCCAGCGTGTT CCCTCTGGCTCCTTCCAGCAAGTCTA CCTCTGGCGGAACAGCTGCTCTGGGC TGCCTGGTCAAGGACTACTTTCCTGA GCCTGTGACCGTGTCTTGGAACCTG GCGCTCTGACATCCGGCGTGACACA TTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCCTCCGG CCTGTACTCTCTGTCCTCTGTCGTGA CCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGAACC CAGACCTACATCTGCAATGTGAACCA CAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTGGAACCCAAGTCCTGC	20
配列番号 1 3	h F c ノ ブ	GATAAGACCCACACATGTCCTCCATG CCCTGCCCTGAGCTGCTGGGCGGAC CTTCCGTGTTTCTGTTCCCTCCAAG CCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCG GACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGG TGGATGTGTCCACGAGGATCCCGAA GTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGG CGTGGAAGTGACACAACGCCAAGACCA AGCCCAGAGAGGAACAGTACAACAGC ACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGAC CGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACG GCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCC	30 40

【表 5 - 6】

		AACAAAGGCCCTGCCTGCCCTATCGA GAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCC AGCCCCGCGAACCTCAGGTGTACACA CTGCCTCCCTGCCGGGAAGAGATGAC CAAGAACCAGGTGTCCCTGTGGTGCC TGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGAT ATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGG CCAGCCCGAGAACAACACTACAAGACCA CCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGGC AGCTTCTTCCTGTACTCCAAACTGAC CGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAGG GCAATGTGTTTCAGCTGTAGCGTGATG CACGAGGCCCTGCACAACCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCCTGTCTCCTG GCAA	10
配列番号 14	α h C C R 2 プロザリ ズマブ V L	GACGTGGTTCATGACACAGAGCCCTCT GTCTCTGCCCGTGACATTGGGACAGC CTGCCTCCATCTCCTGCAAGTCCTCT CAGTCCCTGCTGGACTCTGACGGCAA GACCTTCCTGAACTGGTTCCAGCAGC GGCCTGGCCAGTCTCCTAGAAGGCTG ATCTACCTGGTGTCCAAGCTGGATTC TGGCGTGCCCGACAGATTCTCCGGCT CTGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTG AAGATCTCCAGAGTGGAAAGCCGAGGA CGTGGGCGTGTACTACTGTTGGCAGG GCACCCACTTTCATACACCTTCGGC CAGGGCACCCAGACTGGAAATCAAG	20
配列番号 15	h C L (カッ パ)	AGAACAGTGGCCGCTCCTTCCGTGTT CATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGC TGAAGTCCGGCACCGCTTCTGTGCGTG TGCCTGCTCAACAACCTTCTACCCTCG GGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGG ACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCC CAGGAATCCGTCACCGAGCAGGACTC CAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCT CCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGAC TACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTG CGAAGTGACCCACCAGGGCCTGAGCA GCCCCGTGACCAAGTCCCTTCAACCGG GGCGAGTGC	30

40

50

【表 5 - 7】

配列番号 16	α hCC R2 D 1 VH	GAAGTGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGC CGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTG TGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCTGGC TACACCTTTACCGGCTACCACATGCA CTGGGTCCGACAGGCTCCAGGACAAG GCTTGGAATGGATGGGCTGGATCAAC CCCAACTCCGGCGTGACCAAATACGC CCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACCA TGACCAGAGACACCTCCATCAACACC GCCTACATGGAACTGTCCCGGCTGAG ATTCGACGACACCGACGTGTACTACT GTGCCACCGGCGGCTTTGGCTATTGG GGAGAGGGAACACTGGTCCACCGTGT CTCC	10
配列番号 17	α hCC R2 D 1 VL	CTGCCCGTGTGGACCCAGCCTCCTAG CGTTTCCAAGGGCCTGAGACAGACCG CCACACTGACCTGTACCGGCAACTCT AACAAACGTGGGCAATCAGGGCGCTGC CTGGTTGCAGCAGCATCAGGGACAGC CTCCAAAGCTGCTGTCCTACCGGAAC CACAAACAGACCTAGCGGCGTGTCCGA GCGGTTTCAGCCCTTCTAGATCTGGCG ACACCTCCAGCCTGACCATCACTGGA CTGCAGCCTGAGGACGAGGCCGACTA CTATTGTCTGGCCTGGGACAGCTCCC TGCGGGCCTTTGTTTTTGGCACCGGC ACCAAGCTGACCGTGCTG	20
配列番号 18	hCL (ラム ダ)	GGACAACCTAAGGCCAATCCTACCGT GACACTGTTCCCTCCATCCTCCGAGG AACTGCAGGCCAACAAAGGCTACCCTC GTGTGCCTGATCTCCGACTTTTACCC TGCGCGCTGTGACCGTGGCCTGGAAGG CTGATGGATCTCCTGTGAAGGCTGGC GTGGAAACCACCAAGCCTTCCAAGCA GTCCAACAACAATAACGCCGCCTCCT CCTACCTGTCTCTGACCCCTGAACAG TGGAAGTCCCACCGGTCTACAGCTG CCAAGTGACCCATGAGGGCTCCACCG TGAAAAGACCGTGGCTCCTACCGAG TGCTCC	30
配列番号 19	α hCC R2 4	CAGGTGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGC CGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTG TGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCCGGC	40

【表 5 - 8】

	2G7 VH	TACACCTTCTCCAGCTACTACATGCA CTGGGTCCGACAGGCCCTGGACAAG GATTGGAGTGGATGGGCATCATCAAC CCCTCTGGCGGCAACACCTCTTACGC CCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACCA TGACCAGAGACACCTCCACCAGCACC GTGTACATGGAAGTGTCCAGCCTGAG ATCCGAGGACACCGCGTGTACTACT GTGCCAGAGGCGGATAACCAGCTGCCT CACGGTAGAGCCAGAGCCTTCGATAT GTGGGGCCAGGGCACAAATGGTCAACG TGTCCCTCT	10
配列番号 20	α hCC R2 4 2G7 VL	GCCATCAGAATGACCCAGTCTCCACT GAGCCTGCCTGTGACATTGGGCCAGC CTGCCTCTATCTCCTGCACCTCCTCT CAGTCTCTGGTGTACAGAGATGGCAC CACCTACCTGAACTGGTTCCAGCAGA GGCCTGGCCAGTCTCCTAGACGGCTG ATCTACAAGGTGTCCAACAGAGACTC TGGCGTGCCTCGACAGATTCACCGGCT CTGGCTCTGGCACCCACATTCACCCCTG ACCATCTCCAGAGTGGAAAGCCGAGGA CGTGGGCATCTACTACTGTATGCAGG GCACCCACTGGCCTCTGACCTTTGGC CAGGGAACAAAGGTGGAAATCAAG	20
配列番号 21	α hCC R2 4 3G12 VH	GAGGTGCAGCTGGTTGAATCTGGCGG AGGATTGGTTCAGCCTGGCGGCTCTC TGAGACTGTCTTGTGTGGCCTCTGGC TTCACCTTCTCCGACTACTGGATGTC CTGGGTCCGACAGGCTCCTGGCAAAG GACTGGAATGGGTGCGCAACATCAAG AAAGACGGCTCCGTGAACTACTACGT GGACTCCGTGAAGGGCAGATTCACCA TCTCTCGGGACAACGCCAAGAAGTCC CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAG AGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACT GCACCAGATTTCGATTACTGGGGCCAG GGCACCCCTGGTTCACAGTGTCCCTCT	30
配列番号 22	α hCC R2 4 3G12 VL	CAGGCTGGCTTGACCCAGCCTCCTAG CGTTTCCAAGGGCCTGAGACAGACCG CCACACTGACCTGTACCGGCAACTCT AACAAACGTGGGCAATCAGGGCGCTGC CTGGTTGCAGCAGCATCAGGGACATC	40

【表 5 - 1 0】

		AGCCCAGAGAGGAAACAGTACAACAGC ACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGAC CGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACG GCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCC AACAAAGGCCCTGCCAGCCCCTATCGA GAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCC AGCCTAGAGAGCCTCAGGTCTGCACC CTGCCTCCCAGCCGGGAAGAGATGAC CAAGAACCAGGTGTCCCTGAGCTGCG CCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGAT ATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGG CCAGCCCAGAGAACAACTACAAGACCA CCCCTCCCCTGGCTGGACAGCGACGGC AGCTTCTTCCCTGGTGTCCAAACTGAC CGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAGG GCAATGTGTTTCAGCTGTAGCGTGATG CACGAGGCCCTGCACAACCACTACAC CCAGAAGTCTCTGAGCCTGAGCCCTG GCAAA	10
配列番号 26	α hCS F1Rカ ピラリズ マブVH	CAGGTGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGC CGAAGTGAAGAAACCTGGCTCCTCCG TGAAGGTGTCTCTGCAAGGCTTCTGGC TACACCTTTACCGACAACCTACATGAT CTGGGTCCGACAGGCTCCTGGACAGG GACTTGAGTGGATGGGCGACATCAAC CCTTACAACGGCGGCACCACCTTCAA CCAGAAATTCAAGGGCAGAGTGACCA TCACCGCCGACAAGTCTACCTCCACC GCCTACATGGAAGTGTCCAGCCTGAG ATCTGAGGACACCGCCGTGTACTACT GCGCCAGAGAGTCCCCTTACTTCTCC AACCTGTACGTGATGGACTACTGGGG CCAGGGCACACTGGTCACAGTGTCTCT	20 30
配列番号 27	α hCS F1Rカ ピラリズ マブVL	GAGATCGTGCTGACCCAGTCTCCTGCG CACACTGTCACTGTCTCCAGGCGAGA GAGCTACCCTGTCTCTGCAAGGCTTCT CAGTCCGTGGACTACGACGGCGACAA CTACATGAACTGGTATCAGCAGAAGC CCGGCCAGGCTCCTAGACTGCTGATC TACGCCGCCTCCAACCTGGAATCTGG CATCCCCGCTAGATTCTCCGGCTCTG GCTCTGGCACAGACTTTACCCTGACC	40

【表 5 - 1 1】

	ATCTCCAGCCTGGAACCTGAGGACTT CGCCGTGTACTACTGCCACCTGTCCA ACGAGGACCTGTCCACATTTGGCGGA GGCACCAAGGTGGAAATCAAG
--	---

【表 6】

表 6 ORF を構築するのに使用された配列

配列番号	可変	定常	F c
配列番号 2 8	配列番号 1	配列番号 3	配列番号 9
配列番号 2 9	配列番号 2	配列番号 4	
配列番号 3 0	配列番号 5	配列番号 6	配列番号 1 0
配列番号 3 1	配列番号 7	配列番号 8	
配列番号 3 2	配列番号 1 1	配列番号 1 2	配列番号 1 3
配列番号 3 3	配列番号 1 4	配列番号 1 5	
配列番号 3 4	配列番号 1 6	配列番号 1 2	配列番号 1 3
配列番号 3 5	配列番号 1 7	配列番号 1 8	
配列番号 3 6	配列番号 1 9	配列番号 1 2	配列番号 1 3
配列番号 3 7	配列番号 2 0	配列番号 1 5	
配列番号 3 8	配列番号 2 1	配列番号 1 2	配列番号 1 3
配列番号 3 9	配列番号 2 2	配列番号 1 8	
配列番号 4 0	配列番号 2 3	配列番号 1 2	配列番号 2 5
配列番号 4 1	配列番号 2 4	配列番号 1 5	
配列番号 4 2	配列番号 2 6	配列番号 1 2	配列番号 2 5
配列番号 4 3	配列番号 2 7	配列番号 1 5	

10

20

【 0 3 3 6】

【表 7 - 1】

表 7 ORF の核酸配列

配列番号	核酸配列
配列番号 2 8	ATGGAAACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCT GCTCTTGTGGGTGCCAGGATCTACAGGACAGG TCCAGCTGCAAGAGTCTGGCCCTGGACTGGTT CAGCCCTCTCAGACCCTGTCTCTGACCTGTAC CGTGTCCGGCTTCTCCCTGACCGACTTCTCTG TGCACTGGGTCCGACAGCCTCCAGGCAAAGGA CTGGAATGGATGGGCAGAATCAGATCCGAGGG CAACACCGACTACAACAGCGCCCTGAAGTCCC GGCTGTCTATCAGCAGAGACACCTCCAAGAGC CAGGTGTTCTGAAGATGAACTCCCTGCAGAC CGAGGACACCGCCATCTATTTCTGCACCAGAG GCGACATCCTCGGCTTCGGCTATTGGGGACAG GGCGTGATGGTCACCGTTAGCTCTGCTCAGAC CACCGCTCCTAGCGTGTACCCTTTGGCTCCTG

30

40

50

【表 7 - 2】

	<p>GCTGTGGCGACACCACCTCTTCTACAGTGACC CTGGGCTGTCTGGTCAAGGGCTACTTTCCTGA GCCTGTGACCGTGACCTGGAACCTCTGGTGCCC TGTCCTCCGACGTGCACACCTTTCCAGCTGTG CTGCAGTCCGGCCTGTACACCCTGACATCCTC CGTGACCTCTTCCACCTGGCCTAGCCAGACCG TGACATGCAATGTGGCTCACCCCTGCCTCCAGC ACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACGGCGGAC CATTAAGCCTTGTCCTCCATGCAAGTGCCCCG CTCCTAATCTGCTCGGAGGCCCTTCCGTGTTC ATCTTTCCACCTAAGATCAAGGACGTGCTGAT GATCTCCCTGTCTCCTATCGTGACCTGCGTGG TGGTGGACGTGTCCGAGGATGATCCTGACGTG CAGATCAGTTGGTTTCGTGAACAACGTGGAAGT GCACACCGCTCAGACCCAGACACACAGAGAGG ACTACAACCTTACCCTGAGAGTGGTGTCTGCC CTGCCTATCCAGCATCAGGACTGGATGTCCGG CAAAGAATTCAAGTGCAAAGTGAACAACAAGG ACCTGCCTGCTCCAATCGAGCGGACCATCTCT AAGCCTAAGGGCTCTGTTCAGGGCCCTCAGGT GTACGTTCTGCCTCCTTGCAGGAAGAGATGA CCAAGAAACAAGTGACACTGTGGTGCATGGTC ACAGACTTCATGCCCGAGGACATCTACGTGGA ATGGACCAACAACGGCAAGACCGAGCTGAACT ACAAGAACACCGAGCCTGTGCTGGACTCCGAC GGCTCCTACTTCATGTACTCCAAGCTGCGCGT CGAGAAGAAGAACTGGGTTCGAGAGAACTCCT ACTCCTGCTCCGTGGTGCACGAGGGCCTGCAC AATCACACACCACCAAGTCCTTCTCTCGGAC CCCTGGCAAGTGATGA</p>	<p>10</p> <p>20</p>
<p>配列番 号 29</p>	<p>ATGGAAACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCT GCTCTTGTGGGTGCCAGGATCTACCGGCGACA TCGTGATGACCCAGTCTCCACTGTCCGTGTCT GTGACCCCTGGCGAGTCTGCCTCCATCTCCTG CAGATCCTCCAAGAGCCTGCTGCACTTCAAGG GCATCACCTTCGTGTA CTGGTATCTGCAGAAG CCCGGCCAGTCTCCTCAGCTGCTGATCTTCAG AATGTCCAGCCTGGCCTCTGGCGTGCCCGATA GATTTTCTGGCTCCGGCTCCGAGACAGACTTC ACCCTGAAGATCTCCAGAGTGGAAGCCGAGGA CGTGGGCACCTACTATTGTGGCCAGCTGCTGG AAAACCCCTACACCTTTGGCGCTGGCACCAAG CTGGAACTGAAGAGAGCTGACGCTGCCCTAC</p>	<p>30</p> <p>40</p>

【表 7 - 3】

	<p>CGTGTCTATCTTCCCTCCATCCATGGAACAGC TGACCTCTGGCGGAGCTACCGTCGTGTGCTTC GTGAACAACCTTCTACCCTCGGGACATCTCCGT GAAGTGGAAGATCGACGGCTCTGAGCAGCGAG ATGGCGTGCTGGATTCTGTGACCGACCAGGAC TCCAAGGACAGCACCTACTCCATGTCTAGCAC CCTGAGCCTGACCAAGGTGGAATACGAGCGGC ACAACCTGTATACCTGCGAGGTGGTGCACAAG ACCTCCAGCTCTCCCGTGGTCAAGTCCTTCAA CCGGAACGAGTGCTGATGA</p>	10
配列番号 30	<p>ATGGAAACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCT GCTCTTGTGGGTGCCAGGATCTACAGGACAGG TCCAGTTGCAGCAGTCTGGCGCTGAGCTGGTC AAGCCTGGATCCTCCGTGAAGATCTCCTGCAA GGCCTCCGGCTACACCTTCACCTCCAACCTTCA TGCACTGGATCAAGCAGCAGCCCAGGCAACGGC CTGGAATGGATCGGATGGATCTATCCTGGCGA CGGCGACACCGAGTACAACCAGAAGTTCAACG GCAAGGCTACCCTGACCGCCGACAAGTCCTCT TCCACCGCTTACATGCAGCTGTCCAGCCTGAC CTCTGAGGACTCCGCCGTGTACTTCTGCGCCG TGAATTATGGCGGCTACGTGCTGGATGCTTGG GGCCAAGGCGCTTCTGTGACAGTGTCTCTGTC CGAGACAACCGCTCCTAGCGTTTACCCTCTGG CTCCTGGCACAGCCCTGAAGTCCAACCTCTATG GTCACCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGGCTACTT TCCTGAGCCTGTGACCGTGACCTGGAACCTCTG GTGCTCTGTCTAGCGGCGTGCACACCTTTCCA GCTGTGCTGCAGAGCGGCCTGTACACCCTGAC ATCTAGCGTGACCGTGCCTTCCAGCACCTGGT CTAGTCAGGCTGTGACCTGCAACGTGGCCCAT CCTGCCTCTTCTACCAAGGTGGACAAGAAAAT CGTGCCCAAGAGAGTGCAACACCATCAAGCCCT GTCCTCCATGCAAGTGCCCCGCTCCTAATCTG CTCGGAGGCCCTTCCGTGTTTCATCTTCCCACC TAAGATCAAGGACGTGCTGATGATCTCCCTGT CTCCTATCGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTG TCCGAGGATGATCCTGACGTGCAGATCAGTTG GTTTCGTGAACAACGTGGAAGTGCACACCGCTC AGACCCAGACACACAGAGAGGACTACAACAGC ACCCTGAGAGTGGTGTCTGCCCTGCCAATCCA GCACCAGGATTGGATGTCCGGCAAAGAATTCA AGTGCAAAGTGAACAACAAGGACCTGCCTGCT</p>	20 30 40

【表 7 - 4】

	<p>CCAATCGAGCGGACCATCTCTAAGCCTAAGGG CTCTGTGCGGGCTCCCCAAGTTTGTGTTCTGC CTCCACCTGAGGAAGAGATGACCAAGAAACAA GTGACCCTGTCTTGTGCCGTGACCGACTTCAT GCCCCGAGGACATCTACGTGGAATGGACCAACA ATGGCAAGACCGAGCTGAACTACAAGAACC GAGCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTACTT CATGGTGTCTAAGCTGCGCGTCGAGAAGAAGA ACTGGGTCGAGAGAACTCCTACTCCTGCTCC GTGGTGCACGAGGGCCTGCACAATCACACAC CACCAAGTCCTTCTCTCGGACCCCTGGCAAGT GATGA</p>	10
配列番号 3 1	<p>ATGGA AACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCT GCTCTTGTGGGTGCCAGGATCTACAGGCGAGA TCGTGCTGACCCAGTCTCCTACCACCATGGCT GCTAGCCCTGGCGAGAAAGTGACAATTACCTG CCGGGCCTCCTCCTCCACCAACTACATGTCCT GGTATCAGCAGAAGTCCGGCGCCTCTCCTAAG CCTTGGATCTACGAGACATCCAAGCTGGCCTC TGGCGTGCCCGATAGATTTTCCGGCTCTGGCT CCGGCACCTCCTACAGCTTCACCATCTCCAGC ATGGA AACAGAGGACGCCGCCACTACTACTG CCACCAGTGGTCATCTACCCCTCTGACCTTTG GCAGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAGAGAGCT GACGCCGCTCCTACCGTGTCTATCTTCCCTCC ATCCATGGAACAGCTGACCTCCGGCGGAGCTA CCGTGCTGTGTTTCGTGAACAACCTTCTACCCT CGGGACATCTCCGTGAAGTGGAAGATCGACGG CTCTGAGCAGCGAGATGGCGTGCTGGATTCTG TGACCGACCAGGACTCCAAGGACAGCACCTAC TCCATGTCTAGCACCTGAGCCTGACCAAGGT GGAATACGAGCGGCACAACCTGTATACCTGCG AGGTGGTGCACAAGACCTCCAGCTCTCCCGTG GTCAAGTCCTTCAACCGGAACGAGTGCTGATG A</p>	20 30
配列番号 3 2	<p>ATGGA AACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCT GCTCTTGTGGGTGCCAGGATCTACAGGCGAGG TGCAGCTGGTTGAATCTGGCGGAGGACTGGTT AAGCCTGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTTGTGC CGCTTCTGGCTTCACCTTCTCCGCCTACGCCA TGA ACTGGGTCCGACAGGCTCCTGGCAAAGGC CTGGAATGGGTCCGGAAGAATCCGGACCAAGAA CAACA ACTACGCCACCTACTACGCCGACTCCG</p>	40

【表 7 - 5】

	<p>TGAAGGACCGGTTACCATCTCTCGGGACGAC TCCAAGAACACCCCTGTACCTGCAGATGAACTC CCTGAAAACCGAGGACACCGCCGTGTACTACT GCACCACCTTCTACGGCAATGGCGTGTGGGGA CAGGGCACACTGGTTACCGTTTCTTCCGCCTC CACCAAGGGACCCTCTGTGTTTCTCTGGCTC CCTCCAGCAAGTCTACCTCTGGTGGAACAGCT GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTTCC TGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCG CTCTGACATCTGGCGTGCACACCTTTCCAGCT GTGCTGCAGTCCTCTGGCCTGTACTCTCTGTC CTCCGTCGTGACCGTGCCTTCTAGCTCTCTGG GCACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCAC AAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGT GGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCT GTCCTCCATGTCCTGCTCCAGAACTGCTCGGC GGACCTTCCGTGTTCCCTGTTTCCCTCAAAGCC TAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGACCCCTG AAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCTCAC GAGGATCCCGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGT GGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCA AGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTAC AGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCA GGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCA AGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATC GAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCC TAGGGAACCCAGGTTTACACCCTGCCTCCAT GCCGGGAAGAGATGACCAAGAATCAGGTGTCC CTGTGGTGCCTCGTGAAGGGCTTCTACCCTTC CGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAATGGCC AGCCTGAGAACAACACTACAAGACAACCCCTCCT GTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCTGTA CTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATG CACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAA GTCCCTGTCTCTGTCCCCTGGCAAGTGATGA</p>	10
		20
		30
配列番号 33	<p>ATGGAAACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCT GCTCTTGTGGGTGCCAGGATCTACAGGCGACG TGGTCATGACACAGAGCCCTCTGTCTCTGCC GTGACATTGGGACAGCCTGCCTCCATCTCCTG CAAGTCCTCTCAGTCCCTGCTGGACTCTGACG GCAAGACCTTCCCTGAACTGGTTCCAGCAGCGG CCTGGCCAGTCTCCTAGAAGGCTGATCTACCT</p>	40

10

20

30

40

【表 7 - 6】

	<p>GGTGTCCAAGCTGGATTCTGGCGTGCCCGACA GATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTC ACCCTGAAGATCTCCAGAGTGGAAGCCGAGGA CGTGGGCGTGTACTACTGTTGGCAGGGCACCC ACTTTCCATACACCTTCGGCCAGGGCACCCAGA CTGGAAATCAAGAGAACCCTGGCCGCTCCTTC CGTGTTCATCTTCCACCTTCCGACGAGCAGC TGAAGTCCGGCACAGCTTCTGTGCGTGTGCCTG CTGAACAACCTTCTACCCTCGGGAAGCCAAGGT GCAGTGGAAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCG GCAACTCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGAC TCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGTCCAGCAC ACTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGC ACAAGGTGTACGCCCTGCGAAGTGACCCATCAG GGCCTGTCTAGCCCTGTGACCAAGTCTTTCAA CCGGGGCGAGTGCTGATGA</p>	10
配列番号 34	<p>ATGGAAACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCT GCTCTTGTGGGTGCCAGGATCTACAGGCGAAG TGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAG AAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTCCTGCAA GGCTTCTGGCTACACCTTTACCGGCTACCACA TGCAGTGGGTCCGACAGGCTCCAGGACAAGGC TTGGAATGGATGGGCTGGATCAACCCCAACTC CGGCGTGACCAAATACGCCCAGAAATTCCAGG GCAGAGTGACCATGACCAGAGACACCTCCATC AACACCGCCTACATGGAACGTGCCCGGCTGAG ATTCGACGACACCGACGTGTACTACTGTGCCA CCGGCGGCTTTGGCTATTGGGGAGAGGGAACA CTGGTCAACGTGTCCCTCCGCTTCTACCAAGGG ACCCTCCGTGTTTCCCTCTGGCTCCTTCCAGCA AGTCTACCTCCGGTGGAACAGCTGCTCTGGGC TGCCTGGTCAAGGACTACTTTCCCTGAGCCTGT GACCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCTCTGACAT CCGGCGTGACACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAA TCCTCCGGCCTGTACTCTCTGTCCCTCCGTCGT GACCGTGCCTTCTAGCTCTCTGGGCACCCAGA CCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTTCC AACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAACCCAA GTCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCTCCAT GTCCTGCTCCAGAACTGCTCGGCGGACCTTCT GTGTTCCCTGTTTCCCTCAAAGCCTAAGGACAC CCTGATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCT GCGTGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGACCCA</p>	20 30 40

【表 7 - 7】

	<p>GAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGT GGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAG AGGAACAGTACAACCTCACCTACAGAGTGGTG TCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCT GAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCA ACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGAAAAGACC ATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAACC CCAGGTTTACACCCTGCCTCCATGCCGGGAAG AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTGGTG CTCGTGAAGGGCTTCTACCCTTCCGATATCGC CGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGA ACAAC TACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGAC TCCGACGGCTCATTCTTCTGTA CTCCAAGCT GACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCA ACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCC CTGCACAATCACTACACACAGAAGTCCCTGTC TCTGTCCCCTGGCAAGTGATGA</p>	10
配列番号 3 5	<p>ATGGAAACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCT GCTCTTGTGGGTGCCAGGATCTACAGGACTGC CCGTGTTGACCCAGCCTCCTAGCGTTTCCAAG GGCCTGAGACAGACCGCCACACTGACCTGTAC CGGCAACTCTAACAACGTGGGCAATCAGGGCG CTGCCTGGTTGCAGCAGCATCAGGGACAGCCT CCAAAGCTGCTGTCTACCGGAACCACAACAG ACCTAGCGGCGTGTCCGAGCGGTTCAGCCCTT CTAGATCTGGCGACACCTCCAGCCTGACCATC ACTGGACTGCAGCCTGAGGACGAGGCCGACTA CTATTGTCTGGCCTGGGACAGCTCCCTGCGGG CCTTTGTTTTTTGGCACCGGCACCAAGCTGACC GTGCTGGGACAACCTAAGGCCAATCCTACCGT GACACTGTTCCCTCCATCCTCCGAGGAACTGC AGGCCAACAAGGCTACCCTCGTGTGCCTGATC TCCGACTTTTACCCTGGCGCTGTGACCGTGGC CTGGAAGGCTGATGGATCTCCTGTGAAGGCTG GCGTGGAAACCACCAAGCCTTCCAAGCAGTCC ACAACA AATACGCCGCCTCCTCCTACCTGTC TCTGACCCCTGAACAGTGGAAGTCCCACCGGT CCTACAGCTGCCAAGTGACCCATGAGGGCTCC ACCGTGGAAAAGACCGTGGCTCCTACCGAGTG CTCCTGATGA</p>	20
配列番号 3 6	<p>ATGGAAACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCT GCTCTTGTGGGTGCCAGGATCTACAGGACAGG TGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAG</p>	30
		40

【表 7 - 8】

AAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTCCTGCAA
GGCTTCCGGCTACACCTTCTCCAGCTACTACA
TGCACTGGGTCCGACAGGCCCTGGACAAGGA
TTGGAGTGGATGGGCATCATCAACCCCTCTGG
CGGCAACACCTCTTACGCCAGAAATTCCAGG
GCAGAGTGACCATGACCAGAGACACCTCCACC
AGCACCGTGTACATGGAAGTGTCCAGCCTGAG
ATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCA
GAGGCGGATAACCAGCTGCCTCACGGTAGAGCC
AGAGCCTTCGATATGTGGGGCCAGGGCACAAAT
GGTCACCGTGTCCCTCTGCTTCCACCAAGGGAC
CCTCTGTGTTCCCTCTGGCTCCTTCCAGCAAG
TCCACATCCGGTGGAACAGCTGCTCTGGGCTG
CCTGGTCAAGGACTACTTTCCTGAGCCTGTGA
CCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCTCTGACATCC
GGCGTGCACACATTTCCAGCTGTGCTGCAGTC
CTCCGGCCTGTACTCTCTGTCCTCTGTCTGTGA
CCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACC
TACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTTCCAA
CACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAAACCCAAGT
CCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCACCATGT
CCTGCTCCAGAAGTGTCTCGGCGGACCTTCCGT
GTTCCCTGTTTCCCTCCAAAGCCTAAGGACACCC
TGATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGC
GTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCAGA
AGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG
AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAG
GAACAGTACAACCTCCACCTACAGAGTGGTGTC
CGTGCTGACCGTGTCTGCACCAGGATTGGCTGA
ACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAAC
AAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGAAAAGACCAT
CTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAACCCC
AGGTTTACACCCTGCCTCCATGCCGGGAAGAG
ATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTGGTGCCT
CGTGAAGGGCTTCTACCCTTCCGATATCGCCG
TGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCAGAGAAC
AACTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTC
CGACGGCTCATTCTTCCCTGTACTCCAAGCTGA
CAGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAAC
GTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCT
GCACAATCACTACACACAGAAGTCCCTGTCTC
TGTCCCTGGCAAGTGATGA

10

20

30

40

50

【表 7 - 9】

配列番号 37	<p>ATGGAAACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCT GCTCTTGTGGGTGCCAGGATCTACCGGCGCCA TCAGAATGACCCAGTCTCCACTGAGCCTGCCT GTGACATTGGGCCAGCCTGCCTCTATCTCCTG CACCTCCTCTCAGTCTCTGGTGTACAGAGATG GCACCACCTACCTGAACTGGTTCCAGCAGAGG CCTGGCCAGTCTCCTAGACGGCTGATCTACAA GGTGTCCAACAGAGACTCTGGCGTGCCCGACA GATTCACCGGCTCTGGCTCTGGCACACATTC ACCCTGACCATCTCCAGAGTGGAAGCCGAGGA CGTGGGCATCTACTACTGTATGCAGGGCACCC ACTGGCCTCTGACCTTTGGCCAGGGAACAAAG GTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCTTC CGTGTTTCATCTTCCACCTTCCGACGAGCAGC TGAAGTCTGGCACAGCCTCTGTTCGTGTGCCTG CTGAACAACCTTCTACCCTCGGGAAGCCAAGGT GCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCG GCAACTCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGAC TCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGTCCTCCAC ACTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGC ACAAGGTGTACGCCCTGCGAAGTGACCCATCAG GGCCTGTCTAGCCCTGTGACCAAGTCTTTCAA CCGGGGCGAGTGCTGATGA</p>	10
配列番号 38	<p>ATGGAAACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCT GCTCTTGTGGGTGCCAGGATCTACAGGCGAGG TGCAGCTGGTTGAATCTGGCGGAGGATTGGTT CAGCCTGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTTGTGT GGCCTCTGGCTTACCTTCTCCGACTACTGGA TGTCTTGGGTCCGACAGGCTCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGGTCGCCAACATCAAGAAAGACGG CTCCGTGAACTACTACGTGGACTCCGTGAAGG GCAGATTACCATCTCTCGGGACAACGCCAAG AACTCCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAG AGCCGAGGACACCGCCGTGTAATACTGACCA GATTCGATTAATACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTC ACAGTGTCTCTGCTTCTACCAAGGGACCCAG CGTGTTCCCTCTGGCTCCTTCCAGCAAGTCTA CCTCTGGCGGAACAGCTGCTCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTTCCTGAGCCTGTGACCGT GTCTTGGAACTCTGGCGCTCTGACATCTGGCG TGCACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCTCC GGCCTGTACTCTCTGTCTCTGTTCGTGACCGT GCCTTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCTACA</p>	30
		40

【表 7 - 1 0】

	<p>TCTGCAATGTGAACCACAAGCCTTCCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTGGAACCCAAGTCCTG CGACAAGACCCACACCTGTCCTCCATGTCCTG CTCCAGAAGTGTCTCGGCGGACCTTCCGTGTTT CTGTTTCCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGAT GATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGG TGGTGGATGTGTCTCACGAGGATCCCGAAGTG AAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAAGT GCACAATGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAAC AGTACAACCTCCACCTACAGAGTGGTGTCCGTG CTGACCGTGTCTGCACCAGGATTGGCTGAACGG CAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGG CCCTGCCTGCTCCTATCGAAAAGACCATCTCC AAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAACCCAGGT TTACACCCTGCCTCCATGCCGGGAAGAGATGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGTGGTGCCTGGTT AAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGA ATGGGAGTCTAATGGCCAGCCAGAGAACAAC ACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCCGAC GGCTCATTTCTTCTGTACTCCAAGCTGACAGT GGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGT TCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCAC AATCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTCTGTC CCCTGGCAAGTGATGA</p>	<p>10</p> <p>20</p>
<p>配列番 号 3 9</p>	<p>ATGGAAACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCT GCTCTTGTGGGTGCCAGGATCTACAGGACAGG CTGGCTTGACCCAGCCTCCTAGCGTTTCCAAG GGCCTGAGACAGACCGCCACACTGACCTGTAC CGGCAACTCTAACAACGTGGGCAATCAGGGCG CTGCCTGGTTGCAGCAGCATCAGGGACATCCT CCAAAGCTGCTGTTCTACCGGAACAACAACAG AGCCTCCGGCATCTCCGAGCGGCTGTCTGCTT CTAGATCCGGCAATACCGCCAGCCTGACCATC ACTGGACTGCAGCCTGAGGACGAGGCCGACTA CTATTGCCTGACCTGGGACTCCTCTCTGTCCG TGGTGGTTTTTGGCGGAGGCACCAAGCTGACA GTGCTGGGACAGCCTAAGGCCAATCCTACCGT GACACTGTTCCCTCCATCCTCCGAGGAACTGC AGGCCAACAAGGCTACCCTCGTGTGCCTGATC TCCGACTTTTACCCTGGCGCTGTGACCGTGGC CTGGAAGGCTGATGGATCTCCTGTGAAGGCTG GCGTGGAAACCACCAAGCCTTCCAAGCAGTCC AACAACAATAACGCCCGCCTCCTCCTACCTGTC</p>	<p>30</p> <p>40</p>

【表 7 - 1 1】

	TCTGACCCCTGAACAGTGGAAAGTCCCACCGGT CCTACAGCTGCCAAGTGACCCATGAGGGCTCC ACCGTGGAAAAGACCGTGGCTCCTACCGAGTG CTCCTGATGA
配列番 号 4 0	ATGGAAACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCT GCTCTTGTGGGTGCCAGGATCTACAGGACAGG TGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAG AAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTCCTGCAA GGCTTCCGGCTACACCTTTACCAGCTACGACA TCTCCTGGGTCCGACAGGCTCCTGGACAAGGC TTGGAATGGATGGGCGTGATCTGGACCGATGG CGGCACCAATTACGCCAGAACTGCAGGGCA GAGTGACCATGACCACCGACACCTCTACCTCC ACCGCCTACATGGAAGTGCGGTCCCTGAGATC TGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAG ATCAGCGGCTGTACTTCGATGTGTGGGGCCAG GGCACAAACCGTGACAGTGTCTCTGCTTCCAC CAAGGGACCCAGCGTTTTTCCCTCTGGCTCCAT CCTCCAAGTCTACCTCTGGCGGAACAGCTGCT CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTTCCCTGA GCCTGTGACCGTGTCTCTGGAACCTCTGGCGCTC TGACATCTGGCGTGCACACATTCCCTGCTGTG CTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCTCTGTCTC TGTGGTTACCGTGCCTTCCCTCTAGCCTGGGCA CCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAG CCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGG ACCCAAGTCCCTGCGACAAGACCCACACCTGTC CACCATGTCTCTGCTCCAGAACTGCTCGGCGGA CCTTCCGTGTTCCCTGTTTCCCTCCAAGCCTAA GGACACCCTGATGATCTCTCGGACCCCTGAAG TGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCTCACGAG GACCCAGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGA CGGCGTGGAAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGC CTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACAGA GTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA TTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGG TGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGAA AAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCG GGAACCTCAAGTCTGTACCCTGCCTCCTAGCC GGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTG AGCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCTTCTGA TATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CTGAGAACAACCTACAAGACAACCCCTCCTGTG

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 2】

	CTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCCTGGTGTC CAAGCTGACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAGC AGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAATCACTACACACAGAAGTC CCTGTCTCTGTCCCCTGGCAAGTGATGA
配列番号 4 1	ATGGAAACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCT GCTCTTGTGGGTGCCAGGATCTACCGGCGACA TCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCC GCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTG TAGAGCCTCCGAGGACGTGAACACCTACGTGT CCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCTCCC AAGCTGCTGATCTACGCCGCTCTAACAGATA CACCGGCGTGCCCTCTAGATTCTCCGGCTCTG GCTCTGGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCC AGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTA CTGCCAGCAGTCCTTCAGCTACCCACCTTTG GCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGGACA GTGGCCGCTCCTTCCGTGTTTCATCTTCCCACC TTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCTT CTGTGCTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCT CGGGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAA TGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAAGAGTCTG TGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTAC AGCCTGTCTCCACACTGACCCTGTCCAAGGC CGACTACGAGAAGCACAAAGGTGTACGCCCTGCG AAGTGACCCATCAGGGCCTGTCTAGCCCTGTG ACCAAGTCTTTCAACC GGGGCGAGTGCTGATG A
配列番号 4 2	ATGGAAACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCT GCTCTTGTGGGTGCCAGGATCTACAGGACAGG TGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAG AAACCTGGCTCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAA GGCTTCTGGCTACACCTTTACCGACAACCTACA TGATCTGGGTCCGACAGGCTCCTGGACAGGGA CTTGAGTGGATGGGCGACATCAACCCTTACAA CGGCGGCACCACCTTCAACCAGAAATTCAAGG GCAGAGTGACCATCACCGCCGACAAGTCTACC TCCACCGCCTACATGGAAC TGTCCAGCCTGAG ATCTGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGAGTCCCCTTACTTCTCCAACCTGTACGTG ATGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTGGTCAC AGTGTCTCTGTCTTCCACCAAGGGACCCAGCG TTTTCCCTCTGGCTCCATCCTCCAAGTCCACC

10

20

30

40

【表 7 - 1 4】

G T T C A T C T T C C C A C C T T C C G A C G A G C A G C T G A
A G T C T G G C A C C G C T T C T G T C G T G T G C C T G C T G
A A C A A C T T C T A C C C T C G G G A A G C C A A G G T G C A
G T G G A A G G T G G A C A A T G C C C T G C A G T C C G G C A
A C T C C C A A G A G T C T G T G A C C G A G C A G G A C T C C
A A G G A C A G C A C C T A C A G C C T G T C C T C C A C A C T
G A C C C T G T C C A A G G C C G A C T A C G A G A A G C A C A
A G G T G T A C G C C T G C G A A G T G A C C C A T C A G G G C
C T G T C T A G C C C T G T G A C C A A G T C T T T C A A C C G
G G G C G A G T G C T G A T G A

10

【 0 3 3 7】

2. 発現及び精製

プラスミドは、Expi293細胞(Life Technologies A14527)またはExpiCHO細胞(Life Technologies A29127)に共トランスフェクションされた。トランスフェクションは、1:1のノブとホルルの重鎖の比率、及び3:2の軽鎖と重鎖の比率の多重特異性コンストラクトに対して、1mgの総DNAを使用して実行された。ピオチン化が必要な場合は、多重特異性コンストラクトDNAに加えて、1リットルあたり250µgのBirAを添加した。Expi293細胞へのトランスフェクションは、25,000Daの直鎖状ポリエチレンイミン(PEI、Polysciences Inc 23966)を、総DNAと3:1の比率で使用して実行した。DNAとPEIをそれぞれ50mLのOptiMem(Life Technologies 31985088)培地に加え、滅菌ろ過した。DNAとPEIを10分間混合し、 $1.8 \sim 2.8 \times 10^6$ 細胞/mL細胞密度、少なくとも95%の生存率のExpi293細胞に添加した。ExpiCHOトランスフェクションは、製造者の取扱説明書に従って実施した。Expi293細胞は加湿インキュベーター内で、トランスフェクション後5~7日間、37、8%CO₂で増殖し、ExpiCHO細胞は、14日間、32、5%CO₂で増殖した。細胞を4500×gでの遠心分離によりペレット化し、上清を0.2µmメンブレンで濾過した。プロテインA樹脂(GE 17-1279-03)を濾過した上清に加え、室温で1~3時間インキュベートした。樹脂をカラムに充填し、3×10カラム容量のダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水(DPBS、Life Technologies 14190-144)で洗浄した。結合したタンパク質は、20mMのクエン酸塩、100mMのNaCl、pH2.9でカラムから溶出した。必要な場合、タンパク質は、リガンド親和性及び/またはサイズ排除クロマトグラフィーを用いて、DPBSの泳動用緩衝液を含むSuperdex 200カラムでさらに精製した。

20

30

【 0 3 3 8】

【表 8 - 1】

表 8 アミノ酸配列

配列番号	説明	アミノ酸配列
配列番号44	αCCR 2 MC	QVQLQESGPGLVQPSQTLISLTCTVSGF SLTDFSVHWVRQPPGKGLEWMGRIRSE GNTDYN SALKSRLSISRDTSKSQVFLK

40

50

【表 8 - 2】

	1 2 V H	MNSLQTEDTAIYFCTRGDILGFGYWGQ GVMVTVSS	
配列番 号 4 5	α CCR 2 MC 1 2 V L	DIVMTQSPLSVSVTPGESASISCRSSK SLLHFKGITFVYWYLQKPGQSPQLLIF RMSSSLASGVPDRFSGSGSETDFTLKIS RVEAEDVGTYYCGQLLENPYTFGAGTK LELK	
配列番 号 4 6	R 2 b CH1	AQTTAPSVYPLAPGCGDTTSSTVTLGC LVKGYFPEPVTVTWNSGALS SDVHTFP AVLQSGLYTLTSSVTSSTWPSQTVTCN VAHPASSTKVDKKVERR	10
配列番 号 4 7	R 2 b CL	RADAAPT V S I F P P S M E Q L T S G G A T V V C F V N N F Y P R D I S V K W K I D G S E Q R D G V L D S V T D Q D S K D S T Y S M S S T L S L T K V E Y E R H N L Y T C E V V H K T S S S P V V K S F N R N E C	
配列番 号 4 8	α mCS F 1 R VH	QVQLQQSGAELVKPGSSVKISCKASGY TFTSNFMHWIKQQPGNGLEWIGWIYPG DGDTEYNQKFNKGATLTADKSSSTAYM QLSSLTSEDSAVYFCVNYGGYVLD AWGQGASVTVSS	
配列番 号 4 9	R 2 a CH1	AETTAPSVYPLAPGTALKSNSMVTLC LVKGYFPEPVTVTWNSGALS SSGVHTFP AVLQSGLYTLTSSVTVPSSTWSSQAVT CNVAHPASSTKVDKKI V P R E C N	20
配列番 号 5 0	α mCS F 1 R VL	EIVLTQSPPTMAASPGEKVTITCRASS STNYMSWYQQKSGASPKPWIYETSKLA SGVPDRFSGSGSGTSYSFTISSMETED AATYYCHQWSSTPLTFGSGTKLEIK	
配列番 号 5 1	R 2 a CL	RADAAPT V S I F P P S M E Q L T S G G A T V V C F V N N F Y P R D I S V K W K I D G S E Q R D G V L D S V T D Q D S K D S T Y S M S S T L S L T K V E Y E R H N L Y T C E V V H K T S S S P V V K S F N R N E C	30
配列番 号 5 2	mFcノ ブ	TIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFI F P P K IKDVLMI S L S P I V T C V V D V S E D D P D V Q I S W F V N N V E V H T A Q T Q T H R E D Y N S T L R V V S A L P I Q H Q D W M S G K E F K C K V N N K D L P A P I E R T I S K P K G S V R A P Q V Y V L P P C E E E M T K K Q V T L W C M V T D F M P E D I Y V E W T N N G K T E L N Y K N T E P V L D S D G S Y F M Y S K L R V E K K N W V E R N S Y S C S V V H E G L H N H H T T K S F S R T P G K	
配列番 号 5 3	mFcホ ール	TIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFI F P P K IKDVLMI S L S P I V T C V V D V S E D D P D V	40

【表 8 - 3】

		Q I S W F V N N V E V H T A Q T Q T H R E D Y N S T L R V V S A L P I Q H Q D W M S G K E F K C K V N N K D L P A P I E R T I S K P K G S V R A P Q V C V L P P P E E E M T K K Q V T L S C A V T D F M P E D I Y V E W T N N G K T E L N Y K N T E P V L D S D G S Y F M V S K L R V E K K N W V E R N S Y S C S V V H E G L H N H H T T K S F S R T P G K	
配列番号 54	α h C C R 2 プロザリ ズマブ V H	E V Q L V E S G G G L V K P G G S L R L S C A A S G F T F S A Y A M N W V R Q A P G K G L E W V G R I R T K N N N Y A T Y Y A D S V K D R F T I S R D D S K N T L Y L Q M N S L K T E D T A V Y Y C T T F Y G N G V W G Q G T L V T V S S	10
配列番号 55	h C H 1	A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C	
配列番号 56	h F c ノ ブ	D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P C R E E M T K N Q V S L W C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G X、ここでXはKまたは不存在である	20
配列番号 57	α h C C R 2 プロザリ ズマブ V L	D V V M T Q S P L S L P V T L G Q P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T F L N W F Q Q R P G Q S P R R L I Y L V S K L D S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D V G V Y Y C W Q G T H F P Y T F G Q G T R L E I K	
配列番号 58	h C L (カッ パ)	R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C	30
配列番号 59	α h C C R 2 D 1 V H	E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T G Y H M H W V R Q A P G Q G L E W M G W I N P N S G V T K Y A Q K F Q G R V T M T R D T S I N T A Y M E L S R L R F D D T D V Y Y C A T G G F G Y W G E G T L V T V S S	
配列番号 60	α h C C R 2 D 1 V L	L P V L T Q P P S V S K G L R Q T A T L T C T G N S N N V G N Q G A A W L Q Q H Q G Q P P K L L S Y R N H N R P S G V S E R F S P S R S G D T S S L T I T G L Q P	40

10

20

30

40

50

【表 8 - 4】

		EDEADYYCLAWDSSLRADFVFGTGTKLTVL
配列番号61	hCL (ラムダ)	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVE TTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号62	α hCC R2 4 2G7 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGY TFSSYYMHVVRQAPGGLEWMGIINPS GGNTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYM ELSSLRSEDTAVYYCARGGYQLPHGRA RAFDMWGQGTMTVTVSS
配列番号63	α hCC R2 4 2G7 VL	AIRMTQSPLSLPVTLGQPASISCTSSQ SLVYRDGTTYLNWFQQRPGQSPRRLIY KVSNRDSGVPDRFTGSGSGTTFTLTIS RVEAEDVGIYYCMQGTHWPLTFGQGTK VEIK
配列番号64	α hCC R2 4 3G12 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGF TFSDYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKKD GSVNYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCTRFDYWGQGTLV TVSS
配列番号65	α hCC R2 4 3G12 VL	QAGLTQPPSVSKGLRQTATLTCTGNSN NVGNQGAAWLQQHQGHPPKLLFYRNNN RASGISERLSASRSGNTASLTI TGLQP EDEADYYCLTWDSSLSVVFVGGGTKLTVL
配列番号66	α hCS F1Rエ マクツズ マブVH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGY TFTSYDISWVRQAPGGLEWMGVIWTD GGTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYME LRSLRSDDTAVYYCARDQRLYFDVWGG GTTVTVSS
配列番号67	α hCS F1Rエ マクツズ マブVL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASE DVNTYVSWYQQKPKAPKLLIYAASNR YTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSFSYPTFGQGTKLEIK
配列番号68	hFcホ ール	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPISR EEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSK

10

20

30

40

50

【表 8 - 5】

		LTVDKSRWQQGNVFS CS SVMHEALHNHY TQKSLSLSPGX、ここでXはKまたは不存在である
配列番号69	α hCS F1Rカ ビラリズ マブVH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGY TFTDNYMIWVRQAPGQGLEWMDINPY NGGTTFNQKFKGRVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARESPYFSNLYV MDYWGQGGLVTVSS
配列番号70	α hCS F1Rカ ビラリズ マブVL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQ SVDYDGDNYMNWYQQKPGQAPRLLIYA ASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISS LEPEDFAVYYCHLSNEDLSTFGGGTKV EIK

10

【0339】

【表 9】

表9 完全重鎖及び軽鎖のためのタンパク質配列

配列番号	可変	定常	Fc
配列番号71	配列番号44	配列番号46	配列番号52
配列番号72	配列番号45	配列番号47	
配列番号73	配列番号48	配列番号49	配列番号53
配列番号74	配列番号50	配列番号51	
配列番号75	配列番号54	配列番号55	配列番号56
配列番号76	配列番号57	配列番号58	
配列番号77	配列番号59	配列番号55	配列番号56
配列番号78	配列番号60	配列番号61	
配列番号79	配列番号62	配列番号55	配列番号56
配列番号80	配列番号63	配列番号58	
配列番号81	配列番号64	配列番号55	配列番号56
配列番号82	配列番号65	配列番号58	
配列番号83	配列番号66	配列番号55	配列番号68
配列番号84	配列番号67	配列番号58	
配列番号85	配列番号69	配列番号55	配列番号68
配列番号86	配列番号70	配列番号58	

20

30

40

【0340】

50

【表 10 - 1】

表 10 多重特異性分子を構築するのに使用された鎖のアミノ酸配列

配列番号	アミノ酸配列
配列番号 71	QVQLQESGPGLVQPSQTLSSLTCTVSGFSLTD FSVHWVRQPPGKGLEWMGRIRSEGNTDYNSA LKSRLSISRDTSKSQVFLKMNSLQTEDTAIY FCTRGDILGFGYWGQGVMVTVSSAQTTAPSV YPLAPGCGDTSSTVTLGCLVKGYFPEPVTV TWNSGALS SDVHTFPAVLQSGLYTLTSSVTS STWPSQTVTCNV AHPASSTKVDKKVERRTIK PCPPCKCPAPNLLGGPSVFI FPPKIKDVLMI

10

20

30

40

50

【表 10 - 2】

	<p>SLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNVEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHGDWMS GKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAP QVYVLPPEEEMTKKQVTLWCMVTDMPEDI YVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYS KLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTK SFSRTPGK</p>	
配列番号 7 2	<p>DIVMTQSPLSVSVTPGESASISCRSSKSL LH FKGITFVYWYLQKPGQSPQLLIFRMS SLASG VPDRFSGSGSETDFTLKRVEAEDVGTYC GQLLENPYTFGAGTKLELKRADAAPT VSI FP PSMEQLTSGGATVVCVFN NFYPRDISVKWKI DGSEQRDGVLD SVTDQDSK DSTYSMSSTLSL TKVEYERHNLYTCEVVHKTSSSPVVKSFNRN EC</p>	10
配列番号 7 3	<p>QVQLQQSGAELVKPGSSVKISCKASGYTFTS NFMHWIKQKPGNGLEWIGWIYPGDGDTEYNQ KFN GKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAV YFCAVNYGGYVLD AWGQGASVTVSSAETTAP SVYPLAPGTALKSNSMVT LGCLVKGYFPEPV TWTWNSGALSSGVHTFPAVLQSGLYTTLTSSV TVPSS TWS SQAVTCNV AHPASSTKVDK KIVP RECN TIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFI FPPK IKDVLMI SLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHGDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKP KGSVRAPQVCVLPPEEEMTKKQVTLSCAVT DFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSD GSYFMVSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGL HNHHTTKSFSRTPGK</p>	20
配列番号 7 4	<p>EIVLTQSPPTMAASPGEKVTITCRASSSTNY MSWYQQKSGASP KPWIYETSKLASGVPDRFS GSGSGTSYSFTISSMETEDAATYCHQWSST PLTFGSGTKLEIKRADAAPT VSI FPPSMEQL TSGGATVVCVFN NFYPRDISVKWKIDGSEQR DGVLD SVTDQDSK DSTYSMSSTLSLTKVEYE RHNLYTCEVVHKTSSSPVVKSFNRNEC</p>	30
配列番号 7 5	<p>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSA YAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRTKNNNYATYY ADSVKDRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTTFYGNVWGQGT LVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV</p>	40

【表 10 - 3】

	TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGX、ここでXはKまたは不存在である	
配列番号 76	DVVMTQSPLSLPVTTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTFNLNWFQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDFRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGQTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	10
配列番号 77	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTG YHMHVVRQAPGQGLEWMGWINPNSGVTKYAAQKFQGRVTMTRDTSINTAYMELSRRLRFDDTDVYYCATGGFGYWGEGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGX、ここでXはKまたは不存在である	20 30
配列番号 78	LPVLTQPPSVSKGLRQTATLTCTGNSNNVGNQGAAWLQQHQQGPPKLLSYRNHNRPSGVSERFSPSRSGDTSSTLTITGLQPEDEADYYCLAWDSSLRAFVFGTGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYYAAASSYLSLTP EQWKS HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	
配列番号 79	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSSYYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGNTSYAAQKFQGRVTMTRDTSSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGGYQLPHGRARAFDMWGQGTMTVTVSS	40

【表 10 - 4】

	<p>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGX、ここでXはKまたは不 存在である</p>	10
配列番号 80	<p>AIRMTQSPSLPVTLGQPASISCTSSQSLVY RDGTTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRDSG VPDRFTGSGSGTTFITLISRVEAEDVGIYYC MQGTHWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC</p>	20
配列番号 81	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSD YWMSWVRQAPGKGLEWVANIKKDGSVNYYVD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCTRFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMIS RTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREP QVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGX、ここでXはKまたは不 存在である</p>	30
配列番号 82	<p>QAGLTQPPSVSKGLRQTATLTCTGNSNNVGN QGAAWLQQHQGHPPKLLFYRNNNRASGISER LSASRSGNTASLTITGLQPEDEADYYCLTWD SSLSVVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPP SSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD GSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTP EQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS</p>	40

【表 10 - 5】

配列番号 83	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YDISWVRQAPGGGLEWGMV I WTDGGTNYAQK LQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARDQRLYFDVWGQGTTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKRVEPK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVCTLPSPREEMTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGX、ここでXはKまたは不存在である</p>	10
配列番号 84	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASEDVNT YVSWYQQKPKGKAPKLLIYAASNRYTGVPSTRF SGSGSGTDFTLTITSSSLQPEDFATYYCQQSFS YPTFGGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>	20
配列番号 85	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTD NYMIWVRQAPGGGLEWGMGINPYNGGTTFNQ KFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAV YYCARESPYFSNLYVMDYWGQGLVTVSSAS TKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS SKAKGQPREPQVCTLPSPREEMTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGX、ここでXはKまたは不存在 である</p>	30
配列番号 86	<p>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSDY DGDNYMNWYQQKPGQAPRLLIYAASNLESGI PARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCH LSNEDLSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD</p>	40

【表 10 - 6】

	<p>NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C</p>
--	---

【0341】

【表 1 1】

表 1 1 α CCR2/ α CSF1R 多重特異性分子を生成するのに使用された配列

多重特異性分子	重鎖 1	軽鎖 1	重鎖 2	軽鎖 2
1	配列番号 7 1	配列番号 7 2	配列番号 7 3	配列番号 7 4
2	配列番号 7 5	配列番号 7 6	配列番号 8 3	配列番号 8 4
3	配列番号 7 5	配列番号 7 6	配列番号 8 5	配列番号 8 6
4	配列番号 7 7	配列番号 7 8	配列番号 8 3	配列番号 8 4
5	配列番号 7 7	配列番号 7 8	配列番号 8 5	配列番号 8 6
6	配列番号 7 9	配列番号 8 0	配列番号 8 3	配列番号 8 4
7	配列番号 7 9	配列番号 8 0	配列番号 8 5	配列番号 8 6
8	配列番号 8 1	配列番号 8 2	配列番号 8 3	配列番号 8 4
9	配列番号 8 1	配列番号 8 2	配列番号 8 5	配列番号 8 6

10

【0342】

実施例 2 . 複数の CCR2 / CSF1R 二重特異性抗体分子の生成

1 . プラスミドの構築

タンパク質配列をコードする DNA は、*Cricetulus griseus* での発現用に最適化され、合成され、ゲートウェイクローニングを使用して p cDNA 3 . 4 - TOPO (Life Technologies A14697) にクローニングされた。全てのコンストラクトは Ig カップリーダー配列 METDTLLLVVLLLVVPGSTG (配列番号 116) を含んだ。

20

【0343】

2 . 発現及び精製

プラスミドは、Expi293 細胞 (Life Technologies A14527) または ExpiCHO 細胞 (Life Technologies A29127) に共トランスフェクションされた。トランスフェクションは、1 : 1 のノブとホルルの重鎖の比率、及び 3 : 2 の軽鎖と重鎖の比率の多重特異性コンストラクトに対して、1 mg の総 DNA を使用して実行された。ピオチン化が必要な場合は、多重特異性コンストラクト DNA に加えて、1 リットルあたり 250 μ g の BirA を添加した。Expi293 細胞へのトランスフェクションは、25,000 Da の直鎖状ポリエチレンイミン (PEI、Polysciences Inc 23966) を、総 DNA と 3 : 1 の比率で使用して実行した。DNA と PEI をそれぞれ 50 mL の OptiMem (Life Technologies 31985088) 培地に加え、滅菌ろ過した。DNA と PEI を 10 分間混合し、 $1.8 \sim 2.8 \times 10^6$ 細胞/mL 細胞密度、少なくとも 95% の生存率の Expi293 細胞に添加した。ExpiCHO トランスフェクションは、製造者の取扱説明書に従って実施した。Expi293 細胞は加湿インキュベーター内で、トランスフェクション後 5 ~ 7 日間、37、8% CO₂ で増殖し、ExpiCHO 細胞は、14 日間、32、5% CO₂ で増殖した。細胞を 4500 \times g での遠心分離によりペレット化し、上清を 0.2 μ m メンブレンで濾過した。プロテイン A 樹脂 (GE 17-1279-03) を濾過した上清に加え、室温で 1 ~ 3 時間インキュベートした。樹脂をカラムに充填し、3 \times 10 カラム容量のダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水 (DPBS、Life Technologies 14190-144) で洗浄した。結合したタンパク質は、20 mM のクエン酸塩、100 mM の NaCl、pH 2.9 でカラムから溶出した。必要な場合、タンパク質は、リガンド親和性及び/またはサイズ排除クロマトグラフィーを用いて、DPBS の泳動用緩衝液を含む Superdex 200 カラムでさらに精製した。

30

40

【0344】

50

【表 1 2 - 1】

表 1 2 アミノ酸配列

配列番号	説明	アミノ酸配列
配列番号 1 1 6	I g カッパシグナルペプチド	M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G
配列番号 5 5	h C H 1	A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C
配列番号 5 6	h F c ノブ	D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P C R E E M T K N Q V S L W C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G X、ここで X は K または不存在である
配列番号 1 2 7	G リンカー	G
配列番号 1 2 8	4 G S リンカー	G G G G S
配列番号 1 2 9	G G S G リンカー	G G S G G
配列番号 1 3 0	G G S G G S リンカー	G G S G G S
配列番号 1 3 1	G G G S G G G リンカー	G G G S G G G

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2】

配列番号 132	GGGG SGGG G	GGGGSGGGG	
配列番号 133	3×4G Sリンカー	GGGGSGGGGSGGGGS	
配列番号 134	4×4G Sリンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	
配列番号 58	hCLIG__vk	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	10
配列番号 61	hCLIG__vl	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAFTVAWKADGSPVKAGVE TTKPSKQSNKYYASSYLSLTPEQWKS HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	
配列番号 66	α-hCSF1R エマクツ ズマブV H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGY TFTSYDISWVRQAPGQGLEWMGVIWTD GGTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYME LRSLRSDDTAVYYCARDQRLYFDVWGQ GTTVTVSS	20
配列番号 67	α-hCSF1R エマクツ ズマブV L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASE DVNTYVSWYQQKPKGKAPKLLIYAASNR YTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSFSYPTFGQGTKLEIK	
配列番号 68	hFcホール	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK KDTLMISRTPETCVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPISR EEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGX、ここでXはKまたは不 存在である	30
配列番号 69	α-hCSF1R カビラリ ズマブV H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGY TFTDNYMIWVRQAPGQGLEWMGDINPY NGGTTFNQKFKGRVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARESPYFNSLYV MDYWGQGTLVTVSS	
配列番号 70	α-hCSF1R	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQ SVDYDGDNYMNWYQQKPGQAPRLLIYA	40

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 3】

	カビラリ ズマブV L	ASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISS LEPEDFAVYYCHLSNEDLSTFGGGTKV EIK	
配列番 号11 3	α -hP DL1ア ベルマブ VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRRLSCAASGF TFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPS GGITFYADTVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVD YWGQGTLVTVSS	
配列番 号11 4	α -hP DL1ア ベルマブ VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSS DVGGINVSWYQQHPGKAPKLMIDVVS NRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQ AEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTKVT VL	10
配列番 号19 1	TGF β R1リー ダー配列	MEAAVAAPRPRLLLLVLAAAAAAAAAA	
配列番 号13 5	TGF β R1	LLPGATALQCFCHLCTKDNFTCVTDGL CFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIPR DRPFVCAPSSKTGSVTTTTYCCNQDHCN KIELPTTVKSSPGLGPVE	20
配列番 号13 6	TGF β R2リー ダー配列	MGRGLLRGLWPLHIVLWTRIAS	
配列番 号10 0	TGF β R2	TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQ LCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSI CEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHD PKLPYHDFILEDAAAPKCIMKEKKKPG ETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSN PD	
配列番 号10 9	α -PD L1デュ ルバルマ ブVH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRRLSCAASGF TFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQD GSEKYYVDSVKGRFTISRDNKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAF DYWGQGTLVTVSS	30
配列番 号11 0	α -PD L1デュ ルバルマ ブVL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQ RVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASS RATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEP EDFAVYYCQQYGS LPWTFGQGTKVEIK	
配列番 号1 11	α -PD L1アテ ゾリズム ブVH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRRLSCAASGF TFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPY GGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYW GQGTLVTVSS	40

【表 1 2 - 4】

配列番号 112	α -PD L1 アテ ゾリズム ブVL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ DVSTAVAWYQQKPKAPKLLIYSASFL YSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCQQYLYHPATFGGQGTKVEIK
配列番号 108	TGF β R3	GPEPGALCELS PVSASHPVQALMESFT VLSGCASRGTTGLPQEVHVLNLRTAGQ GPGQLQREVTLHLNPISSVHIHHKSVV FLLNSPHPLVWHLKTERLATGVSRLF VSEGSVVQFSSANFSLTAETEERNFPH GNEHLLNWARKEYGAVTSFTELKIARN IYIKVGEDQVFPPKCNIGKNFLSLNYL AEYLQPKAAEGCVMS SQPQNEEVHIIE LITPNSNPYSAFQVDITIDIRPSQEDL EVVKNLILILKCKKSVNWVIKSFVKG SLKIIAPNSIGFGKESERSMTMTKSIR DDIPSTQGNLVKWALDNGYSPITSYTM APVANRFHLRLENNAEEMGDEEVHTIP PELRILLDPGALPALQNPPIRGGEGQN GGLPFPFPDISRRVWNEEGEDGLPRPK DPVIPS IQLFPGLREPEEVQGSVDIAL SVKCDNEKMI VAVEKDSFQASGYSGMD VTLLDPTCKAKMNGTHFVLESPLNGCG TRPRWSALDGVVYYNSIVI QVPALGDS SGWPDGYEDLES GDNGFP GDMDEGDAS LFTRPEIVVFNC SLQQVRNPS SFQEQP HGNITFNME LYNTDLFLVPSQGVFSVP ENGHVYVEVS VTKAEQELGFAIQTCFI SPYSNPDRMSHYTI IENICPKDES VKF YSPKRVHFP I PQADM DKKRFSFVFKPV FN TSL LFLQCELT LCTKMEKHPQKLPK CVPPDEACTSLDAS I IWAMMQNKKTFT KPLAVIHHEAESKEKGP SMKEPNPISP PIFHGLDTLTV

10

20

30

【0345】

40

50

【表 13 - 1】

表 13 多重特異性分子を構築するのに使用された鎖のアミノ酸配列

配列 番号	説明	アミノ酸配列
配列 番号 13 7	α -hPDL 1 アベルマブ VH-hCH 1-hFc_ ノブ-3×4 GSリンカー	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSS IYPSGGITFYADTVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIK LGTVTTVDYWGQGTLLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 2】

	<p> α-hCS F1Rエマク ツズマブVH -4×4GS リンカー-α -hCSF1 Rエマクツズ マブVL </p>	<p> DYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQ VYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSSFLLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK GGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFTSYDIS WVRQAPGGGLEWMGVIWTDGGTNYA QKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSL RSDDTAVYYCARDQRLYFDVWGQGT TVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCR ASEDVNTYVSWYQQKPKGAPKLLIY AASNRYTGVP SRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQSFSYPTFGQ GTKLEIK </p>	10
<p> 配列 番号 13 8 </p>	<p> α-hPDL 1アベルマブ VL-hCL Ig_v1 </p>	<p> QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGT SSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMI YDVSNRPSGVS NRFSGSKSGNTASL TISGLQAED EADYYC SSYTSSSTRV FGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECS </p>	30
<p> 配列 番号 13 9 </p>	<p> α-hPDL 1 VH-h CH1-hF c_ノブ-3 ×4GSリン カー-α-h CSF1Rカ ビラリズマブ VH-4×4 GSリンカー -α-hCS </p>	<p> EVQLLES GGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSS IYPSGGITFYADTVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIK LGTVTTVDYWGQGTLLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE </p>	40

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 3】

	F1Rカビラ リズマブVL	VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LSDGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK GGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSCKASGYTFDNYMI WVRQAPGQGLEWMGDIINPYNGGTTF NQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSS LRSEDTAVYYCARESPLYFSNLYVMD YWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGER ATLSCKASQSVSDYDGDNYMNWYQQK PGQAPRLLIYAASNLESGIPARFSG SGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCH LSNEDLSTFGGGTKVEIK	10
配列 番号 14 0	TGFβR1 -4GSリン カー-hCH 1-hFc_ ホール	LLPGATALQCFCHLCTKDNFTCVTD GLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEID LIPRDRPFVCA PSSKTG SVTTTYCC NQDHCNKIELPTTVKSSPGLGPVEG GGGSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQV SLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGGSFFLVSKLTV KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGX、ここでXはKまたは不存在である	20 30
配列 番号 14 1	TGFβR2 -4GS-h CL Ig_v k	TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKF PQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCS ITSICEKPEVCVAVWRKNDENITL ETVCHDPKLPYHDFILEDAA SPKCI MKEKKKPGETF FMCSCSSDECNDNI IFSEEYNTSNPDGGGGSRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY	40

【表 1 3 - 4】

		P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C
配列 番号 1 4 2	T G F β R 1 - 4 G S - h F c _ ノブ 3 × 4 G S リ ンカー - α - h P D L 1 V H - 4 × 4 G S リンカー - α - h P D L 1 V L	L L P G A T A L Q C F C H L C T K D N F T C V T D G L C F V S V T E T T D K V I H N S M C I A E I D L I P R D R P F V C A P S S K T G S V T T T Y C C N Q D H C N K I E L P T T V K S S P G L G P V E G G G G S D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P C R E E M T K N Q V S L W C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K G G G G S G G G G S G G G G S E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y I M M W V R Q A P G K G L E W V S S I Y P S G G I T F Y A D T V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R I K L G T V T T V D Y W G Q G T L V T V S S G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S Q S A L T Q P A S V S G S P G Q S I T I S C T G T S S D V G G Y N Y V S W Y Q Q H P G K A P K L M I Y D V S N R P S G V S N R F S G S K S G N T A S L T I S G L Q A E D E A D Y Y C S S Y T S S S T R V F G T G T K V T V L
配列 番号 1 4 3	T G F β R 2 - 4 G S - h F c _ ホール - 3 × 4 G S - α - h C S F 1 R エマク ツズマブ V H - 4 x 4 G S - α - h C S F 1 R エマク ツズマブ V L	T I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C N D N I I F S E E Y N T S N P D G G G G S D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V C T L P P S R E E M T K N Q V S L S C A V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L V S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K G G G G S G G G G S G G G G S Q V Q L V Q S G A E V K K P G A

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 5】

		SVKVSCKASGYTFTSYDISWVRQAP GQGLEWMGVIWTDGGTNYAQKLQGR VTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTA VYYCARDQRLYFDVWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMT QSPSSLASVGDVRTITCRASEDN TYVSWYQQKPGKAPKLLIYAASNRY TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQSFSYPTFGGKLEIK	10
配列 番号 14 4	TGFβR2 -4GS-h Fc_ホール -3×4GS -α-hCS F1Rカビラ リズマブVH -4×4GS -α-hCS F1Rカビラ リズマブVL	TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKF PQLCKFCDFRFSTCDNQKSCMSNCS ITSICEKPEVCVAVWRKNDENITL ETVCHDPKLPYHDFILEDAAAPKCI MKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNI IFSEYNTSNPDGGGGSDKTHTCP CPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPP SREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSG GGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGS SVKVSCKASGYTFTDNYMIWVRQAP GQGLEWMGDINPYNGGTTFNQKFKG RVTITADKSTSTAYMELSSLRSED AVYYCARESPYFSNLYVMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCK ASQSVSDYDGDNYMNWYQQKPGQAPR LLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTD FTLTISLSEPEDFAVYYCHLSNEDL STFGGGTKVEIK	20
配列 番号 14 5	α-hCSF 1Rエマクツ ズマブVH- hCH1-h Fc_ノブ- 3×4GS- α-PDL1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTSYDISWVRQAPGQGLEWMGV IWTDGGTNYAQKLQGRVTMTTDTST STAYMELRSLRSDDTAVYYCARDQR LYFDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS	30
			40

【表 13 - 7】

		FYADTVKGRFTISRDN SKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVD YWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSI TISCTGTSSSDVGGYNYVSWYQQHPG KAPKLM IYDVSNRPSGVSNRFSGSK SGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSY TSSSTRVFGTGTKVTVL	
配列 番号 14 7	α -hCSF 1Rエマクツ ズマブCL I g_v k	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRA SEDVNTYVSWYQQKPGKAPKLLIYA ASNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQSFSYPTFGQG TKLEIKRTVAAPS VFI FPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL STLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC	10
配列 番号 14 8	α -hCSF 1Rカビラリ ズマブCL I g_v k	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKA SQSVDYDGDNYMNWYQQKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDF TLTISSLEPEDFAVYYCHLSNEDLS TFGGGTKEIKRTVAAPS VFI FPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC	20
配列 番号 14 9	α -hPDL 1デュルバル マブVH-h CH1-hF c_ノブ-3 ×4GSリン カー- α -h CSF1Rエ マクツズマブ VH-4×4 GSリンカー - α -hCS F1Rエマク ツズマブVL	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVAN IKQDGESEKYYVDSVKGRFTISRDN KNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREG GWFGE LAFDYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVKDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPP VLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN	30 40

【表 13 - 8】

		<p>V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K G G G G S G G G G S G G G G S Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T S Y D I S W V R Q A P G Q G L E W M G V I W T D G G T N Y A Q K L Q G R V T M T T D T S T S T A Y M E L R S L R S D D T A V Y Y C A R D Q R L Y F D V W G Q G T T V T V S S D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S E D V N T Y V S W Y Q Q K P G K A P K L L I Y A A S N R Y T G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q S F S Y P T F G Q G T K L E I K</p>	10
配列 番号 15 0	α -hPDL 1デュルバル マブVL-h CL Ig_v k	<p>E I V L T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C R A S Q R V S S S Y L A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y D A S S R A T G I P D R F S G S G S G T D F T L T I S R L E P E D F A V Y Y C Q Q Y G S L P W T F G Q G T K V E I K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C</p>	20
配列 番号 15 1	α -hPDL 1アテゾリズ マブVH-h CH1-hF c_ノブ-3 ×4GSリン カー- α -h CSF1Rエ マクツズマブ VH-4×4 GSリンカー - α -hCS F1Rエマク ツズマブVL	<p>E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S D S W I H W V R Q A P G K G L E W V A W I S P Y G G S T Y Y A D S V K G R F T I S A D T S K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R R H W P G G F D Y W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P C R E E M T K N Q V S L W C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K G G G G S G G G G S G G G G S Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T S Y D I S W V R Q A P G Q G L E W M G V I W T D G G T N Y A Q K L Q G R V T M T T D T S T S T A Y M E L R S L R S D D T A V Y Y C A R D Q R L Y F D V W G Q G T T V</p>	30 40

【表 13 - 9】

		TVSSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCRASEDVNTYVSWYQQKPGKAPKL LIYAASNRYTGVP SRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSFSYPT FGQGTKLEIK
配列 番号 15 2	α -hPDL 1アテゾリズ マブVL-h CL Ig_v k	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRA SQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYS ASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
配列 番号 15 3	α -CSF1 Rエマクツズ マブVH-h CH1-hF cノブ-3 ×4GS- α -PDL1デ ュルバルマブ VH-4×4 GS- α -P DL1デュル バルマブVL	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTSYDISWVRQAPGQGLEWMGV IWT DGGTNYAQKLQGRVTMTTDTST STAYMELRSLRSDDTAVYYCARDQR LYFDVWGQGT TTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTP E VTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVS VLT VLVHLDWLNQKEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGG SGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQ APGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSV KGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQG TLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC RASQRVSSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDF LTI SRLEPEDFAVYYCQQYGS L PWT FGQGTKVEIK

10

20

30

40

50

【表 13 - 10】

配列 番号 15 4	α -CSF1 Rエマクツズ マブVH-h CH1-hF c__ノブ-3 ×4GS- α -PDL1ア テゾリズマブ VH-4×4 GS- α -P DL1アテゾ リズマブVL	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTSYDISWVRQAPGQGLEWMGV IWTGGTNYAQKLQGRVTMTTDTST STAYMELRSLRSDDTAVYYCARDQR LYFDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGG SGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSRLRSCAASGFTFSDSWIHWVRQ APGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSV KGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE DTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGLTV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSD IQMTQSPSSLSASVGRVTITCRAS QDVSTAVAWYQQKPKAPKLLIYSA SFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQG TKVEIK
配列 番号 15 5	α -CSF1 Rカピラリズ マブVH-h CH1-hF c__ノブ-3 ×4GS- α -PDL1デ ユルバルマブ VH-4×4 GS- α -P DL1デユル バルマブVL	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GYTFTDNYMIWVRQAPGQGLEWMGD INPYNGGTTFNQKFKGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARES PYFSNLYVMDYWGQGLVTVSSAST KGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE

10

20

30

40

【表 13 - 11】

		<p>PQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GKGGGGSGGGGGSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYW MSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEK YYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAF DYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGE RATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSG SGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSLPWTFGQGTKVEIK</p>	
配列 番号 15 6	<p>α-CSF1 Rカビラリズ マブVH-h CH1-hF c_ノブ-3 ×4GS-α -PDL1ア テゾリズマブ VH-4×4 GS-α-P DL1アテゾ リズマブVL</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GYTFTDNYMIWVRQAPGQGLEWMGD INPYNGGTTFNQKFKGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARES PYFSNLYVMDYWGQGTLLVTVSSAST KGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSVTVTPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSC DKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GKGGGGSGGGGGSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSW IHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGST YYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQM NSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYW GQGTLLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTV ITCRASQDVSTAVAWYQQKPKGKAPK LLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD</p>	

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 1 2】

		FTLT I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q Y L Y H P A T F G Q G T K V E I K	
配列 番号 1 5 7	T F G β R 1 - 4 G S - h F c _ ノブ 3 \times 4 G S - α - P D L 1 デュルバルマ ブ V H - 4 \times 4 G S - α P D L 1 デュル バルマブ V L	L L P G A T A L Q C F C H L C T K D N F T C V T D G L C F V S V T E T T D K V I H N S M C I A E I D L I P R D R P F V C A P S S K T G S V T T T Y C C N Q D H C N K I E L P T T V K S S P G L G P V E G G G G S D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P C R E E M T K N Q V S L W C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S R Y W M S W V R Q A P G K G L E W V A N I K Q D G S E K Y Y V D S V K G R F T I S R D N A K N S L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R E G G W F G E L A F D Y W G Q G T L V T V S S G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S E I V L T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C R A S Q R V S S S Y L A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y D A S S R A T G I P D R F S G S G S G T D F T L T I S R L E P E D F A V Y Y C Q Q Y G S L P W T F G Q G T K V E I K	10 20
配列 番号 1 5 8	T F G β R 1 - 4 G S - h F c _ ノブ 3 \times 4 G S - α - P D L 1 アテゾリズマ ブ V H - 4 \times 4 G S - α P D L 1 アテゾ リズマブ V L	L L P G A T A L Q C F C H L C T K D N F T C V T D G L C F V S V T E T T D K V I H N S M C I A E I D L I P R D R P F V C A P S S K T G S V T T T Y C C N Q D H C N K I E L P T T V K S S P G L G P V E G G G G S D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P C R E E M T K N Q V S L W C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K G G G G S G G G G S G G G G S E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S D S W I H W V R Q A P G K G L E W V A W I S P Y G G S T Y Y A D S V K G R F T I S A D T S K N T A	30 40

【表 1 3 - 1 4】

		<p>WQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSQVQL VQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTF TDNYMIWVRQAPGQGLEWMGDINPY NGGTTFNQKFKGRVTITADKSTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCARESPYFS NLYVMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGG GSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLS LSPGERATLSCKASQSVVDYDGDNYM NWYQQKPGQAPRLLIYAASNLESGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDF AVYYCHLSNEDLSTFGGGTKVEIK</p>	10
配列 番号 16 1	TGFβR1 -4GS-C L I g _ v k	<p>LLPGATALQCFCHLCTKDNFTCVTD GLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEID LI PRDRPFVCA P S S K T G S V T T T Y C C NQDHCNKIELPTTVKSSPGLGPVEG GGGSR TVA A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C</p>	20
配列 番号 16 2	TGFβR2 -4GSリン カー-hCH 1-hFc_ ホール	<p>TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKF PQLCKFC D V R F S T C D N Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C N D N I I F S E E Y N T S N P D G G G G S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V C T L P P S R E E M T K N Q V S L S C A V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L V S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G X、こ こでXはKまたは不存在である</p>	30
配列 番号	TGFβR2 -4GS-h	<p>TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKF PQLCKFC D V R F S T C D N Q K S C M S N C S</p>	40

【表 13 - 15】

<p>16 3</p> <p>Fc_ノブ 3×4GS- αPDL1ア ベルマブVH -4×4GS -αPDL1 アベルマブV L</p>		<p>ITSICEKPQEVCAVWRKNDENITL ETVCHDPKLPYHDFILEDAAAPKCI MKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNI IFSEYNTSNPDGGGGSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP CREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSG GGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTTFSSYIMMWVRQAP GKGLEWVSSIYPSGGITFYADTVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGLV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ SALTQPASVSGSPGQSITISCTGTS SDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMY DVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLT ISGLQAEEADYYCSSLTSSSTRVF GTGTKVTVL</p>
<p>配列 番号 16 4</p> <p>TGFβR2 -4GS-h Fc_ノブ 3×4GS- αPDL1デ ュルバルマブ VH-4×4 GS-αPD L1デュルバ ルマブVL</p>		<p>TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKF PQLCKFCDFRFSTCDNQKSCMSNCS ITSICEKPQEVCAVWRKNDENITL ETVCHDPKLPYHDFILEDAAAPKCI MKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNI IFSEYNTSNPDGGGGSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP CREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSG GGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAP GKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKG RFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDT</p>

10

20

30

40

50

【表 13 - 17】

	1 アベルマブ VL	V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P C R E E M T K N Q V S L W C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K G G G G S G G G G S G G G G S E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y I M M W V R Q A P G K G L E W V S S I Y P S G G I T F Y A D T V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R I K L G T V T T V D Y W G Q G T L V T V S S G G G G S G G G G S G G G S G G G G S Q S A L T Q P A S V S G S P G Q S I T I S C T G T S S D V G G Y N Y V S W Y Q Q H P G K A P K L M I Y D V S N R P S G V S N R F S G S K S G N T A S L T I S G L Q A E D E A D Y Y C S S Y T S S S T R V F G T G T K V T V L	10
配列 番号 16 7	TFGβR1 -4GS-h CH1-hF c_ノブ-3 ×4GS-α -PDL1 ^デ ユルバルマブ VH-4×4 GS-α-P DL1 ^デ ユル バルマブVL	L L P G A T A L Q C F C H L C T K D N F T C V T D G L C F V S V T E T T D K V I H N S M C I A E I D L I P R D R P F V C A P S S K T G S V T T T Y C C N Q D H C N K I E L P T T V K S S P G L G P V E G G G G S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P C R E E M T K N Q V S L W C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K G G G G S G G G G S G G G G S E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S R Y W M S W V R Q A P G K G L E W V A N I K Q D G S E K Y Y V D S V K G R F T I S R D N A K N S L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R E G G W F G E L A F D Y W G Q G T L V T V S S G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S E I V L T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C R A S Q R V S S S Y L A	20
30			30
40			40

【表 1 3 - 1 8】

		WYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA VYYCQQYGSLPWTFGQGTKVEIK
配列 番号 16 8	TFGβR1 -4GS-h CH1-hF c_ノブ-3 ×4GS-α -PDL1ア テゾリズマブ VH-4×4 GS-α-P DL1アテゾ リズマブVL	LLPGATALQCFCHLCTKDNFTCVTD GLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEID LIPRDRPFVCA PSSKTGSVTTTYCC NQDHCNKIELPTTVKSSPGLGPVEG GGGSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SK AKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQV SLWCLVKGFFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWI SPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHW PGGFDYWGQGT LVT VSSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQDVSTAVAWYQQ KPGKAPKLLIYSASF L YSGVPSRFS GSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYC QQYLYHPATFGQGTKVEIK
配列 番号 16 9	TFGβR2 -4GS-h CH1-hF c_ノブ-3 ×4GS-α -PDL1ア ベルマブVH -4×4GS -α-PDL 1アベルマブ VL	TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKF PQLCKFCDFRFSTCDNQKSCMSNCS ITSICEKPEVCVAVWRKNDENITL ETVCHDPKLPYHDFILED AASP KCI MKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNI IFSEEYNTSNPDGGGGASATKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF

10

20

30

40

【表 13 - 19】

		<p>NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY LPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGG GSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV PGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWR QAPGKGLEWVSSIYPSSGITFYADT VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQ TLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSQSALTQPASVSGSPGQSITISCT GTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKL MIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTA SLTISGLQAEDAADYYCSSLTSSST RVFGTGTKVTVL</p>	
配列 番号 17 0	TFGβR2 -4GS-h CH1-hF c_ノブ-3 ×4GS-α -PDL1 ^デ ユルバルマブ VH-4×4 GS-α-P DL1 ^デ ユル バルマブVL	<p>TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKF PQLCKFCDFRFSTCDNQKSCMSNCS ITSICEKPEVCVAVWRKNDENITL ETVCHDPKLPYHDFILEDAAAPKCI MKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNI IFSEYNTSNPDGGGGASATKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTHT CPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY LPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGG GSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV PGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWR QAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRA EDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGG</p>	

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 2 1】

	<p>×4GS-α -CSF1R エマクツズマ ブVL</p>	<p>RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQV SLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFTSYDISWVRQAPGQGLEWMGVI WTDGGTNYAQKLQGRVTMTTDTSTS TAYMELRSLRSDDTAVYYCARDQRL YFDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASV GDRVITICRASEDVNTYVSWYQQKP GKAPKLLIYAASNRYTGVPSTRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SFSYPTFGQGTKLEIK</p>
<p>配列 番号 17 3</p>	<p>TFGβR1 -4GS-h CH1-hF c_ホルー 3×4GS- α-CSF1 Rカビラリズ マブVH-4 ×4GS-α -CSF1R カビラリズマ ブVL</p>	<p>LLPGATALQCFCHLCTKDNFTCVTD GLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEID LIPRDRPFVCA PSSKVTGVTTTYCC NQDHCNKIELPTTVKSSPGLGPVEG GGGSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQV SLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG YTFTDNYMIWVRQAPGQGLEWMGDI NPYNGGTTFNQKFKGRVTITADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCARESP YFSNLYVMDYWGQGTTLVTVSSGGGG</p>

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 2 3】

	マブVH-4 ×4GS-α -CSF1R カビラリズム ブVL	PEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCT LPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGG GSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSCKASGYTFITDNYMIWVR QAPGQGLEWMGDIINPYNGGTTFNQK FKGRVTITADKSTSTAYMELSSLSR EDTAVYYCARESPYFNSLYVMDYWG QGTLVTVSSEIVLTQSPATLSLSPG ERATLSCKASQSVVDYDGDNYMNWYQ QKPGQAPRLLIYAASNLESGIPARF SSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYY CHLSNEDLSTFGGGTKVEIK
配列 番号 17 6	α-PDL1 アベルマブV H-CH1- hFc_ノブ -3×4GS -TGFβR 1	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSS IYPSGGITFYADTVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIK LGTVTTVDYWGQGTLLVTVSSASTK PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK GGGGSGGGGSGGGGSLLPGATALQC FCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVTET TDKVHNSMCIAEIDLIPRDRPFVC

10

20

30

40

【表 13 - 24】

		APSSKTGSVTTTTYCCNQDHCNKIEL PTTVKSSPGLGPVE
配列 番号 17 7	α-PDL1 デュルバルマ ブVH-CH 1-hFc_ ノブ-3×4 GS-TGF βR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVAN IKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNA KNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREG GWFGEIAFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK KVSNAKALPAPIEKTIISKAKGQPREP QVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSAFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFNCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG KGGGSGGGGSGGGGSLLPGATALQ CFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVTE TTDKVHNHSMCIAEIDLIPRDRPFV CAPSSKTGSVTTTTYCCNQDHCNKIE LPTTVKSSPGLGPVE
配列 番号 17 8	α-A-PD L1アテゾリ ズマブVH- CH1-hF c_ノブ-3 ×4GS-T GFβR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAW ISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTS KNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRH WPGGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVY TLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYF SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFAFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGG

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 2 6】

		<p>KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG KGGGSGGGGSGGGGSTIPPHVQKS VNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDV RFSTCDNQKSCMSNCSITSIKPKQ EVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKL PYHDFILEDAAASPCKIMKEKKKPGE TFFMCSCSSDECNDNIIFSEYNTS NPD</p>	10
配列 番号 18 1	α-PDL1 アテゾリズマ ブVH-CH 1-hFc_ ノブ-3×4 GS-TGF βR2	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAV ISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTS KNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRH WPGGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGG GSGGGGSGGGGSTIPPHVQKSVNN DMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRF TCDNQKSCMSNCSITSIKPKQEV VAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYH DFILEDAAASPCKIMKEKKKPGETFF MCSCSSDECNDNIIFSEYNTSNPD</p>	20
配列 番号 18 2	α-PDL1 アベルマブV H-CH1- hFc_ ノブ -3×4GS -TGFβR 3	<p>EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSS IYPSGGITFYADTVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIK LGTVTTVDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPA</p>	30
			40

【表 1 3 - 2 7】

	<p>VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVT CVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQ VYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK GGGGSGGGGSGGGGSGPEPGALCEL SPVSASHPVQALMESFTVLSGCASR GTTGLPQEVHVLNLRTAGQGPGLQ REVTLHLNPISSVHIHHKSVVFLLN SPHPLVWHLKTERLATGVSRLFVLS EGSVVQFSSANFSLTAETEERNFPH GNEHLLNWARKEYGAVTSFTELKIA RNIYIKVGEDQVFPKCNIGKNFLS LNYLAEYLQPKAAEGCVMSSQPQNE EVHIIELITPNSNPYSAFQVDITID IRPSQEDLEVVKNLILILKCKKSVN WVIKSFVDVKGSLKIIAPNSIGFGKE SERSMTMTKSI RDDIPSTQGNLVKW ALDNGYSPITSYTMAPVANRFHLRL ENNAEEMGDEEVHTIPPELRILLDP GALPALQNPPIRGGEGQNGGLPFPF PDISRRVWNEEGEDGLPRPKDPVIP SIQLFPGLREPEEVQGSVDIALSVK CDNEKMI VAVEKDSFQASGYSGMDV TL LDPTCKAKMNGTHFVLESPLNGC GTRPRWSALDGVVYYNSIVI QVPAL GDSSGWPDGYEDLES GDNGFP GDMD EGDASLFTRPEIVVFNC SLQQVRNP SSFQEQPHGNITFNMELYNTDLFLV PSQGVFSVPENGHVYVEVSVTKAEQ ELGFAIQTCFISPYSNPDRMSHYTI IENICPKDES VKFYSPKRVHFPI PQ ADMCKKRF SFVFKPVFN TSL LFLQC ELTLCTKMEKHPQKL PKCVPPDEAC TSLDASIIWAMMQNKKTFTKPLAVI HHEAESKEKGPSMKEPNPISPPIFH GLDTLTV</p>	
--	---	--

10

20

30

40

50

【表 13 - 28】

配列 番号 18 3	α -PDL1 デュルバルマ ブVH-CH 1-hFc ノブ-3×4 GS-TGF β R3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVAN IKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNA KNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREG GWFGEIAFDYWGQGTLLVTVSSASTK GPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP VLDSGSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG KGGGSGGGGSGGGGSGPEPGALCE LSPVSAHPVQALMESFTVLSGCAS RGTGTPQEVHVLNLRTAGQGPGLL QREVTLHLNPISSVHIHHSVVFLL NSPHPLVWHLKTERLATGVSRLFLV SEGSVVQFSSANFSLTAETEERNFP HGNEHLNWARKEYGAVTSFTELKI ARNIYIKVGEDQVFPKCNIGKNFL SLNYLAEYLQPKAAEGCVMSSQPQN EEVHI IELITPNSNPYSAFQVDITI DIRPSQEDLEVVKNLILILKCKKSV NWVIKSFQVKGSLKIIAPNSIGFGK ESERSMTMTKSI RDDIPSTQGNLVK WALDNGYSPITSYTMAPVANRFHLR LENNAEEMGDEEVHTIPPELRILLD PGALPALQNPPIRGGEGQNGGLPFP FPDISRVRWNEEGEDGLPRPKDPVI PSIQLFPLREPEEVQGSVDIALSV KCDNEKMI VAVEKDSFQASGYSGMD VTLLDPTCKAKMNGTHFVLESPLNG CGTRPRWSALDGVVYYNSIVIQVPA LGDSSGWPDGYEDLES GDNGFP GDM DEGDASL FTRPEI VVFNCSLQQVRN PSSFQEQPHGNITFNMELYNTDLFL VPSQGVFSVPENGHVYVEVSVTKAE
---------------------	---	---

10

20

30

40

【表 13 - 30】

		<p>NEKMI VAVEKDSFQASGYSGMDVTL LDPTCKAKMNGTHFVLESPLNGCGT RPRWSALDGVVYYNSIVI QVPALGD SSGWP DGYEDLES GDNGFP GDMDEG DASLFTRPEI VVFNC SLQQVRNPSS FQEQPHGNI TFMELYNTDLFLVPS QGVFSVPENGHVYVEVSVTKAEQEL GFAIQTCFISPYSNPDRMSHYTIE NICPKDES VKFYSPKRVHFPI PQAD MDKKRFSFVFKPVFN TSL LFLQCEL TLCTKMEKHPQKL PKCVPPDEACTS LDASIIWAMMQNKKTFTKPLAVIHH EAESKEKGP SMKEPNPISPPIFHGL DTLTV</p>	10
配列 番号 18 5	<p>α-CSF1 Rエマクツズ マブVH-C H1-hFc __ホール-3 ×4GS-T GFβR1</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTSYDISWVRQAPGQGLEWMGV IWT DGGTNYAQKLQGRVTMTTDTST STAYMELRSLRSDDTAVYYCARDQR LYFDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTP E VTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPI E K T I S K A K G Q P R E P Q V C T L PPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGG SGGGGSGGGGSLLPGATALQCFCHL CTKDNFTCVTDGLCFVSVTETTDKV IHNSMCIAEIDLIPRDRPFVCA PSS KTGSVTTTYCCNQDHCNKIELPTTV KSSPGLGPVE</p>	20
配列 番号 18 6	<p>α-CSF1 Rカビラリズ マブVH-H 1-hFc__ ホール-3×</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GYTFTDNYMIWVRQAPGQGLEWMGD INPYNGGTTFNQKFKGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARES PYFSNLYVMDYWGQGLVTVSSAST KGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCL</p>	40

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 3 1】

	4GS-TG FβR1	VKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPRE PQVCTLPSPREEMTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSGSGFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GKGGGGSGGGGSGGGGSLLPGATAL QCFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVT ETTDKVIHNSMCIAEIDLIPRDRPF VCAPSSKTGSVTTTYCCNQDHCNKI ELPTTVKSSPGLGPVE	10
配列 番号 18 7	α-CSF1 Rエマクツズ マブVH-C H1-hFc _ホール T GFβR2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTSYDISWVRQAPGQGLEWMGV IWTDGGTNYAQKLQGRVTMTTDTST STAYMELRSLRSDDTAVYYCARDQR LYFDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVCTL PPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSG GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGG SGGGGSGGGGSTIPPHVQKSVNNDM IVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTC DNQKSCMSNCSITSI CEKPQEVCA VWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDF ILEDAAAPKCI MKEKKKPGETF FMC SCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD	20 30
配列 番号	α-CSF1 Rカピラリズ	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GYTFTDNYMIWVRQAPGQGLEWMGD	40

【表 1 3 - 3 2】

<p>1 8 8</p> <p>マブVH-C H1-hFc _ホール-3 ×4GS-T GFβR2</p>		<p>INPYNGGTTFNQKFKGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSED TAVYYCARES PYFSNLYVMDYWGQGT LVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVCTLPSPREEMTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDS DGSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GKGGGGSGGGGSGGGGSTIPPHVQK SVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCD VRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKP QEVCAVWRKNDENITLETVCHDPK LPYHDFILED AASP KCIMKEKKKPG ETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNT SNPD</p>
<p>配列 番号 1 8 9</p> <p>α-CSF1 Rエマクツズ マブVH-C H1-hFc _ホール-3 ×4GS-T GFβR3</p>		<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTSYDISWVRQAPGQGLEWMGV IWT DGGTNYAQKLQGRVTMTTDTST STAYMELRSLRSDDTAVYYCARDQR LYFDVWGQGT TTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVS VLT VLVHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL PPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGG SGGGGSGGGGSGPEPGALCELS PVS ASHPVQALMESFTVLSGCASRGTTG</p>

10

20

30

40

【表 1 3 - 3 3】

		<p>LPQEVHVLNLRTAGQGPGQLQREVT LHLNPISSVHIHHKSVVFLLNSPHP LVWHLKTERLATGVSRLFVSEGSV VQFSSANFSLTAETEERNFPHGNEH LLNWARKEYGAVTSFTELKIARNIY IKVGEDQVFPKCNIGKNFLSLNYL AEYLQPKAAEGCVMS SQPNEEVHI IELITPNSNPYSAFQVDITIDIRPS QEDLEVVKNLILILKCKKSVNWVIK SFDVKGSLKIIAPNSIGFGKESERS MTMTKSIRDDIPSTQGNLVKWALDN GYSPITSYTMAPVANRFHLRLENA EEMGDEEVHTIPPELRILLDPGALP ALQNPPIRGGEGQNGGLPFPFPDIS RRVWNEEGEDGLPRPKDPVIPS IQL FPGLREPEEVQGSVDIALSVKCDNE KMI VAVEKDSFQASGYSGMDVTLLD PTCKAKMNGTHFVLESPLNGCGTRP RWSALDGVVYYNSIVIQVPALGDS GWPDGYEDLESGDNGFPGDMDEGDA SLFTRPEIVVFNC SLQQVRNPS SFQ EQPHGNI TFNMELYNTDLFLVPSQG VFSVPENGHVYVEVSVTKAEQELGF AIQTCFISPYSNPDRMSHYTI IENI CPKDES VKFYSPKRVHFPI PQADMD KKRFSFVFKPVFN TSLFLQCELT CTKMEKHPQKLPKCVPPDEACTSLD ASIIWAMMQNKKTF TKPLAVIHHEA ESKEKGPSMKEPNPISPPIFHGLDT LTV</p>	<p>10</p> <p>20</p>
<p>配列 番号 19 0</p>	<p>α-CSF1 Rカビラリズ マブVH-C H1-hFc _ホール-3 ×4GS-T GFβR3</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GYTFTDNYMIWVRQAPGGGLEWMGD INPYNGGTTFNQKFKGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSED TAVYYCARES PYFSNLYVMDYWGQGTLVTVSSAST KGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK</p>	<p>30</p> <p>40</p>

【表 1 3 - 3 4】

	CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSGDGSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GKGGGGSGGGGSGGGGSGPEPGALC ELSPVSASHPVQALMESFTVLSGCA SRGTTGLPQEVHVLNLRTAGQGPQG LQREVTLHLNPISSVHIHHKSVVFL LNSPHPLVWHLKTERLATGVSRLF VSEGSVVQFSSANFSLTAETEERNF PHGNEHLLNWARKEYGAVTSFTELK IARNIYIKVGEDQVFPKCNIGKNF LSLNYLAEYLQPKAAEGCVMSSQPQ NEEVHIIELITPNSNPYSAFQVDIT IDIRPSQEDLEVVKNLILILKCKKS VNWVIKSFVKGSLKIIAPNSIGFG KESERSMTMTKSIRDDIPSTQGNLV KWALDNGYSPITSYTMAPVANRFHL RLENNAEEMGDEEVHTIPPELRILL DPGALPALQNPPIRGGEGQNGGLPF PFPDISRRVWNEEGEDGLPRPKDPV IPSIQLFPGLREPEEVQGSVDIALS VKCDNEKMIVAVEKDSFQASGYSGM DVTLLDPTCKAKMNGTHFVLESPLN GCGTRPRWSALDGVVYYNSIVIQVP ALGDSSGWPDGYEDLESGDNGFPGD MDEGDASLFTRPEIVVFNC SLQQVR NPSSFQEQPHGNITFNME LYNTDLF LVPSQGVFVSPENGHVYVEVSVTKA EQELGFAIQTCFISPYSNPDRMSHY TIIENICPKDES VKFYSPKRVHFP PQADMDKKRFSFVFKPVFNTSLLFL QCELTCTKMEKHPQKLPKCVPPDE ACTSLDASIIWAMMQNKKTF TKPLA VIHHEAESKEKGPSMKEPNPISPPI FHGLD T LTV	10 20 30 40
--	---	----------------------

【0 3 4 6】

【表 1 4 - 1】

表 1 4 多重特異性分子を生成するのに使用された配列

多重特異性分子識別	含まれる配列番号	図番号によって表す
多重特異性分子 1	配列番号 1 7 6、1 3 8、1 8 5、1 4 7	図 1 A

【表 1 4 - 2】

多重特異性分子 2	配列番号 1 7 6、1 3 8、1 8 6、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 3	配列番号 1 7 6、1 3 8、1 8 7、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 4	配列番号 1 7 6、1 3 8、1 8 8、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 5	配列番号 1 7 6、1 3 8、1 8 9、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 6	配列番号 1 7 6、1 3 8、1 9 0、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 7	配列番号 1 7 7、1 5 0、1 8 5、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 8	配列番号 1 7 7、1 5 0、1 8 6、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 9	配列番号 1 7 7、1 5 0、1 8 7、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 1 0	配列番号 1 7 7、1 5 0、1 8 8、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 1 1	配列番号 1 7 7、1 5 0、1 8 9、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 1 2	配列番号 1 7 7、1 5 0、1 9 0、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 1 3	配列番号 1 7 8、1 5 2、1 8 5、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 1 4	配列番号 1 7 8、1 5 2、1 8 6、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 1 5	配列番号 1 7 8、1 5 2、1 8 7、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 1 6	配列番号 1 7 8、1 5 2、1 8 8、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 1 7	配列番号 1 7 8、1 5 2、1 8 9、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 1 8	配列番号 1 7 8、1 5 2、1 9 0、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 1 9	配列番号 1 7 9、1 3 8、1 8 5、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 2 0	配列番号 1 7 9、1 3 8、1 8 6、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 2 1	配列番号 1 7 9、1 3 8、1 8 7、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 2 2	配列番号 1 7 9、1 3 8、1 8 8、1 4 8	☒ 1 A

10

20

30

40

50

【表 1 4 - 3】

多重特異性分子 2 3	配列番号 1 7 9、1 3 8、1 8 9、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 2 4	配列番号 1 7 9、1 3 8、1 9 0、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 2 5	配列番号 1 8 0、1 5 0、1 8 5、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 2 6	配列番号 1 8 0、1 5 0、1 8 6、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 2 7	配列番号 1 8 0、1 5 0、1 8 7、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 2 8	配列番号 1 8 0、1 5 0、1 8 8、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 2 9	配列番号 1 8 0、1 5 0、1 8 9、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 3 0	配列番号 1 8 0、1 5 0、1 9 0、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 3 1	配列番号 1 8 1、1 5 2、1 8 5、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 3 2	配列番号 1 8 1、1 5 2、1 8 6、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 3 3	配列番号 1 8 1、1 5 2、1 8 7、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 3 4	配列番号 1 8 1、1 5 2、1 8 8、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 3 5	配列番号 1 8 1、1 5 2、1 8 9、1 4 7	☒ 1 A
多重特異性分子 3 6	配列番号 1 8 1、1 5 2、1 9 0、1 4 8	☒ 1 A
多重特異性分子 3 7	配列番号 1 4 5、1 4 7、1 4 0、1 6 1	☒ 2 A
多重特異性分子 3 8	配列番号 1 5 3、1 4 7、1 4 0、1 6 1	☒ 2 A
多重特異性分子 3 9	配列番号 1 5 4、1 4 7、1 4 0、1 6 1	☒ 2 A
多重特異性分子 4 0	配列番号 1 4 6、1 4 8、1 4 0、1 6 1	☒ 2 A
多重特異性分子 4 1	配列番号 1 5 5、1 4 8、1 4 0、1 6 1	☒ 2 A
多重特異性分子 4 2	配列番号 1 5 6、1 4 8、1 4 0、1 6 1	☒ 2 A
多重特異性分子 4 3	配列番号 1 4 5、1 4 7、1 4 0、1 4 1	☒ 2 B

10

20

30

40

50

【表 1 4 - 4】

多重特異性分子 4 4	配列番号 1 5 3、1 4 7、1 4 0、1 4 1	図 2 B
多重特異性分子 4 5	配列番号 1 5 4、1 4 7、1 4 0、1 4 1	図 2 B
多重特異性分子 4 6	配列番号 1 4 6、1 4 8、1 4 0、1 4 1	図 2 B
多重特異性分子 4 7	配列番号 1 5 5、1 4 8、1 4 0、1 4 1	図 2 B
多重特異性分子 4 8	配列番号 1 5 6、1 4 8、1 4 0、1 4 1	図 2 B
多重特異性分子 4 9	配列番号 1 4 5、1 4 7、1 6 2、1 6 1	図 2 C
多重特異性分子 5 0	配列番号 1 5 3、1 4 7、1 6 2、1 6 1	図 2 C
多重特異性分子 5 1	配列番号 1 5 4、1 4 7、1 6 2、1 6 1	図 2 C
多重特異性分子 5 2	配列番号 1 4 6、1 4 8、1 6 2、1 6 1	図 2 C
多重特異性分子 5 3	配列番号 1 5 5、1 4 8、1 6 2、1 6 1	図 2 C
多重特異性分子 5 4	配列番号 1 5 6、1 4 8、1 6 2、1 6 1	図 2 C
多重特異性分子 5 5	配列番号 1 4 5、1 4 7、1 6 2、1 4 1	図 2 D
多重特異性分子 5 6	配列番号 1 5 3、1 4 7、1 6 2、1 4 1	図 2 D
多重特異性分子 5 7	配列番号 1 5 4、1 4 7、1 6 2、1 4 1	図 2 D
多重特異性分子 5 8	配列番号 1 4 6、1 4 8、1 6 2、1 4 1	図 2 D
多重特異性分子 5 9	配列番号 1 5 5、1 4 8、1 6 2、1 4 1	図 2 D
多重特異性分子 6 0	配列番号 1 5 6、1 4 8、1 6 2、1 4 1	図 2 D
多重特異性分子 6 1	配列番号 1 3 7、1 3 8、1 4 0、1 6 1	図 3 A
多重特異性分子 6 2	配列番号 1 3 9、1 3 8、1 4 0、1 6 1	図 3 A
多重特異性分子 6 3	配列番号 1 4 9、1 5 0、1 4 0、1 6 1	図 3 A
多重特異性分子 6 4	配列番号 1 5 1、1 5 2、1 4 0、1 6 1	図 3 A

10

20

30

40

50

【表 1 4 - 5】

多重特異性分子 6 5	配列番号 1 3 7、1 3 8、1 4 0、1 4 1	図 3 B
多重特異性分子 6 6	配列番号 1 3 9、1 3 8、1 4 0、1 4 1	図 3 B
多重特異性分子 6 7	配列番号 1 4 9、1 5 0、1 4 0、1 4 1	図 3 B
多重特異性分子 6 8	配列番号 1 5 1、1 5 2、1 4 0、1 4 1	図 3 B
多重特異性分子 6 9	配列番号 1 3 7、1 3 8、1 6 2、1 6 1	図 3 C
多重特異性分子 7 0	配列番号 1 3 9、1 3 8、1 6 2、1 6 1	図 3 C
多重特異性分子 7 1	配列番号 1 4 9、1 5 0、1 6 2、1 6 1	図 3 C
多重特異性分子 7 2	配列番号 1 5 1、1 5 2、1 6 2、1 6 1	図 3 C
多重特異性分子 7 3	配列番号 1 3 7、1 3 8、1 6 2、1 4 1	図 3 D
多重特異性分子 7 4	配列番号 1 3 9、1 3 8、1 6 2、1 4 1	図 3 D
多重特異性分子 7 5	配列番号 1 4 9、1 5 0、1 6 2、1 4 1	図 3 D
多重特異性分子 7 6	配列番号 1 5 1、1 5 2、1 6 2、1 4 1	図 3 D
多重特異性分子 7 7	配列番号 1 6 6、1 6 1、1 7 2、1 6 1	図 4 A
多重特異性分子 7 8	配列番号 1 6 7、1 6 1、1 7 2、1 6 1	図 4 A
多重特異性分子 7 9	配列番号 1 6 8、1 6 1、1 7 2、1 6 1	図 4 A
多重特異性分子 8 0	配列番号 1 6 6、1 6 1、1 7 3、1 6 1	図 4 A
多重特異性分子 8 1	配列番号 1 6 7、1 6 1、1 7 3、1 6 1	図 4 A
多重特異性分子 8 2	配列番号 1 6 8、1 6 1、1 7 3、1 6 1	図 4 A
多重特異性分子 8 3	配列番号 1 6 9、1 4 1、1 7 4、1 4 1	図 4 B
多重特異性分子 8 4	配列番号 1 7 0、1 4 1、1 7 4、1 4 1	図 4 B
多重特異性分子 8 5	配列番号 1 7 1、1 4 1、1 7 4、1 4 1	図 4 B

10

20

30

40

50

【表 1 4 - 6】

多重特異性分子 8 6	配列番号 1 6 9、1 4 1、1 7 5、1 4 1	図 4 B
多重特異性分子 8 7	配列番号 1 7 0、1 4 1、1 7 5、1 4 1	図 4 B
多重特異性分子 8 8	配列番号 1 7 1、1 4 1、1 7 5、1 4 1	図 4 B
多重特異性分子 8 9	配列番号 1 6 6、1 6 1、1 7 4、1 4 1	図 4 C
多重特異性分子 9 0	配列番号 1 6 7、1 6 1、1 7 4、1 4 1	図 4 C
多重特異性分子 9 1	配列番号 1 6 8、1 6 1、1 7 4、1 4 1	図 4 C
多重特異性分子 9 2	配列番号 1 6 6、1 6 1、1 7 5、1 4 1	図 4 C
多重特異性分子 9 3	配列番号 1 6 7、1 6 1、1 7 5、1 4 1	図 4 C
多重特異性分子 9 4	配列番号 1 6 8、1 6 1、1 7 5、1 4 1	図 4 C
多重特異性分子 9 5	配列番号 1 6 6、1 4 1、1 7 4、1 6 1	図 4 D
多重特異性分子 9 6	配列番号 1 6 7、1 4 1、1 7 4、1 6 1	図 4 D
多重特異性分子 9 7	配列番号 1 6 8、1 4 1、1 7 4、1 6 1	図 4 D
多重特異性分子 9 8	配列番号 1 6 6、1 4 1、1 7 5、1 6 1	図 4 D
多重特異性分子 9 9	配列番号 1 6 7、1 4 1、1 7 5、1 6 1	図 4 D
多重特異性分子 1 0 0	配列番号 1 6 8、1 4 1、1 7 5、1 6 1	図 4 D
多重特異性分子 1 0 1	配列番号 1 4 2、1 4 3	図 5 A
多重特異性分子 1 0 2	配列番号 1 4 2、1 4 4	図 5 A
多重特異性分子 1 0 3	配列番号 1 5 7、1 4 3	図 5 A
多重特異性分子 1 0 4	配列番号 1 5 7、1 4 4	図 5 A
多重特異性分子 1 0 5	配列番号 1 5 8、1 4 3	図 5 A
多重特異性分子 1 0 6	配列番号 1 5 8、1 4 4	図 5 A
多重特異性分子 1 0 7	配列番号 1 6 3、1 4 3	図 5 B
多重特異性分子 1 0 8	配列番号 1 6 3、1 4 4	図 5 B
多重特異性分子 1 0 9	配列番号 1 6 4、1 4 3	図 5 B
多重特異性分子 1 1 0	配列番号 1 6 4、1 4 4	図 5 B
多重特異性分子 1 1 2	配列番号 1 6 5、1 4 3	図 5 B
多重特異性分子 1 1 3	配列番号 1 6 5、1 4 4	図 5 B

【 0 3 4 7】

実施例 3 T G F トラップを使用した T G F シグナル伝達の阻害

この試験では、T G F シグナル伝達を阻害する能力について、3つの T G F トラップコンストラクトを調べる。第 1 のコンストラクトである、図 7 に示す「単一 T G F F a b - トラップ」は、2つの鎖を含み、第 1 の鎖は、N末端から C末端に向けて、第 1 の T G F B R 2 E C D、第 1 のリンカー、及び重鎖定常領域 1 (C H 1) を含み、第 2 の鎖は、N末端から C末端に向けて、第 2 の T G F B R 2 E C D、第 2 のリンカー、及び軽鎖定常領域 (C L) を含む。このコンストラクトは標的化ドメインを含まない。第 2 のコンストラクトである、図 7 に示される「抗 P D L 1 x T G F トラップ」は、その 2

10

20

30

40

50

つのFc領域のC末端で、TGFB₂ ECDホモ二量体に融合された抗PD₁抗体を含む。第3のコンストラクトである、図7に示される「抗CCR₂ × 抗CSF₁R × TGF-₁ トラップ」は、その2つのFc領域のC末端で、TGFB₂ ECDホモ二量体に融合された抗CCR₂ × 抗CSF₁R二重特異性抗体を含む。さらに、第4の構築物である図7に示される「抗CCR₂ × 抗CSF₁R」は、TGF-₁ トラップのない抗CCR₂ × 抗CSF₁R二重特異性抗体であり、陰性対照として使用した。

【0348】

簡潔に述べると、HEK-Blue TGF-₁細胞を0.5 ng/mlのTGF-₁の存在下で20~22時間、用量依存的に上述の4つのコンストラクトで処理した。TGF-₁はHEK-Blue細胞上の受容体に結合し、TGF-₁/Smad経路の活性化を誘導して、Smad3/Smad4複合体の形成をもたらす。このヘテロ複合体は核に入り、SBE(Smad3/4結合要素)部位と結合し、SEAP(分泌型胚性アルカリホスファターゼ)の産生を誘導する。上清に分泌されたSEAPを、比色酵素アッセイ(QUANTI-Blue)で定量した。図7に示すように、TGF-₁を介したSEAPの産生は、ここで試験された3つ全てのTGF-₁ トラップコンストラクトによって減少した。TGF-₁ トラップなしの抗CCR₂ × 抗CSF₁R二重特異性抗体は、TGF-₁ シグナル伝達を減少させなかった(図7)。

10

【0349】

参照による組み込み

本明細書で言及される全ての刊行物及び特許は、あたかも各個々の刊行物または特許が特定のかつ個別に参照により組み込まれることが示されているかのように、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

20

【0350】

均等物

当業者は、本明細書に記載の本発明の特定の実施形態に対する多くの均等物を認識し、または日常的な実験のみを使用して確認することができるであろう。そのような均等物は、以下の特許請求の範囲によって包含されることが意図される。

本願は以下の発明を包含する。

[項目1] 単離された多重特異性分子、例えば、二重特異性または三重特異性の分子であって、

30

(i) TGF-₁ ベータ阻害剤と、

(ii) 抗CSF₁R結合部分(例えば、抗CSF₁R抗体分子)または抗CCR₂結合部分(例えば、抗CCR₂抗体分子)と、

(iii) 腫瘍標的化部分(例えば、腫瘍標的化抗体分子)とを含む、

前記多重特異性分子。

[項目2] 前記TGF-₁ ベータ阻害剤が、

(i) TGF-₁ ベータ1、

(ii) TGF-₁ ベータ2、または

(iii) TGF-₁ ベータ3、

のうちの1つ、2つ、または全ての活性を低減し、

40

任意で、前記TGF-₁ ベータ阻害剤が、

(a) TGF-₁ ベータ1及びTGF-₁ ベータ3、または

(b) TGF-₁ ベータ1、TGF-₁ ベータ2、及びTGF-₁ ベータ3(例えば、図7に関して実施例3に記載される方法を用いて測定されるとき)

の活性を低減する、項目1に記載の多重特異性分子。

[項目3] 前記TGF-₁ ベータ阻害剤が、TGF-₁ ベータ受容体ポリペプチド(例えば、TGF-₁ ベータ受容体の細胞外ドメイン、または、その機能的バリエーション)を含む、項目1または2に記載の多重特異性分子。

[項目4] 前記TGF-₁ ベータ阻害剤が、

(i) TGFB₁ポリペプチド(例えば、1つ、2つ、3つ、またはそれ以上のTGF-

50

B R 1 ポリペプチド)、

(i i) T G F B R 2 ポリペプチド (例 えば、 1 つ、 2 つ、 3 つ、 または それ 以上 の T G F B R 2 ポリペプチド)、 または

(i i i) T G F B R 3 ポリペプチド (例 えば、 1 つ、 2 つ、 3 つ、 または それ 以上 の T G F B R 3 ポリペプチド)、

の うち の 1 つ、 2 つ、 または 全 て を 含 む、 項 目 1 ~ 3 の い ず れ か 1 項 に 記 載 の 多 重 特 異 性 分 子。

[項 目 5] 前 記 T G F - ベ ー タ 阻 害 剤 が T G F B R 1 ポリペプチドを含み、任意で前記 T G F - ベ ー タ 阻 害 剤 が、

(i) T G F B R 1 の 細 胞 外 ド メ イ ン、 または、 それ に 実 質 的 に 同 一 で あ る 配 列 (例 えば、 それ に 少 なく とも 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 も し く は 9 5 % 同 一 で あ る 配 列)、

(i i) 配 列 番 号 9 5、 9 6、 9 7、 1 2 0、 1 2 1、 も し く は 1 2 2 の 細 胞 外 ド メ イ ン、 または、 それ と 実 質 的 に 同 一 で あ る 配 列 (例 えば、 それ と 少 なく とも 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 も し く は 9 5 % 同 一 で あ る 配 列)、 または

(i i i) 配 列 番 号 1 0 4 も し く は 1 0 5 の ア ミ ノ 酸 配 列、 または、 それ と 実 質 的 に 同 一 で あ る 配 列 (例 えば、 それ と 少 なく とも 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 も し く は 9 5 % 同 一 で あ る 配 列)、

を 含 む、 項 目 1 ~ 4 の い ず れ か 1 項 に 記 載 の 多 重 特 異 性 分 子。

[項 目 6] 前 記 T G F - ベ ー タ 阻 害 剤 が T G F B R 2 ポリペプチドを含み、任意で前記 T G F - ベ ー タ 阻 害 剤 が、

(i) T G F B R 2 の 細 胞 外 ド メ イ ン、 または、 それ に 実 質 的 に 同 一 で あ る 配 列 (例 えば、 それ に 少 なく とも 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 も し く は 9 5 % 同 一 で あ る 配 列)、

(i i) 配 列 番 号 9 8、 9 9、 1 2 3、 も し く は 1 2 4 の 細 胞 外 ド メ イ ン、 または、 それ と 実 質 的 に 同 一 で あ る 配 列 (例 えば、 それ と 少 なく とも 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 も し く は 9 5 % 同 一 で あ る 配 列)、 または

(i i i) 配 列 番 号 1 0 0、 1 0 1、 1 0 2、 及 び 1 0 3 か ら な る 群 か ら 選 択 さ れ る ア ミ ノ 酸 配 列、 または、 それ と 実 質 的 に 同 一 で あ る 配 列 (例 えば、 それ と 少 なく とも 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 も し く は 9 5 % 同 一 で あ る 配 列)、

を 含 む、 項 目 1 ~ 5 の い ず れ か 1 項 に 記 載 の 多 重 特 異 性 分 子。

[項 目 7] 前 記 T G F - ベ ー タ 阻 害 剤 が T G F B R 3 ポリペプチドを含み、任意で前記 T G F - ベ ー タ 阻 害 剤 が、

(i) T G F B R 3 の 細 胞 外 ド メ イ ン、 または、 それ に 実 質 的 に 同 一 で あ る 配 列 (例 えば、 それ に 少 なく とも 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 も し く は 9 5 % 同 一 で あ る 配 列)、

(i i) 配 列 番 号 1 0 6、 1 0 7、 1 2 5、 も し く は 1 2 6 の 細 胞 外 ド メ イ ン、 または、 それ と 実 質 的 に 同 一 で あ る 配 列 (例 えば、 それ と 少 なく とも 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 も し く は 9 5 % 同 一 で あ る 配 列)、 または

(i i i) 配 列 番 号 1 0 8 の ア ミ ノ 酸 配 列、 または、 それ と 実 質 的 に 同 一 で あ る 配 列 (例 えば、 それ と 少 なく とも 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 も し く は 9 5 % 同 一 で あ る 配 列)、
を 含 む、 項 目 1 ~ 6 の い ず れ か 1 項 に 記 載 の 多 重 特 異 性 分 子。

[項 目 8] 前 記 T G F - ベ ー タ 阻 害 剤 が、 ホ モ 二 量 体 を 形 成 す る 2 つ の T G F - ベ ー タ 受 容 体 ポ リ ペ プ チ ド を 含 む、 任 意 で 前 記 T G F - ベ ー タ 阻 害 剤 が、

(i) ホ モ 二 量 体 を 形 成 す る 2 つ の T G F B R 1 ポリペプチド、

(i i) ホ モ 二 量 体 を 形 成 す る 2 つ の T G F B R 2 ポリペプチド、 または

(i i i) ホ モ 二 量 体 を 形 成 す る 2 つ の T G F B R 3 ポリペプチド、

を 含 む、 項 目 1 ~ 7 の い ず れ か 1 項 に 記 載 の 多 重 特 異 性 分 子。

[項 目 9] 前 記 T G F - ベ ー タ 阻 害 剤 が、 ヘ テ ロ 二 量 体 を 形 成 す る 2 つ の T G F - ベ ー タ 受 容 体 ポ リ ペ プ チ ド を 含 む、 任 意 で 前 記 T G F - ベ ー タ 阻 害 剤 が、

(i) ヘ テ ロ 二 量 体 化 を 形 成 す る T G F B R 1 ポリペプチドと T G F B R 2 ポリペプチド、

(i i) ヘ テ ロ 二 量 体 化 を 形 成 す る T G F B R 1 ポリペプチドと T G F B R 3 ポリペプチド、 または

10

20

30

40

50

(i i i) ヘテロ二量体化を形成する T G F B R 2 ポリペプチドと T G F B R 3 ポリペプチド、

を含む、項目 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子。

[項目 1 0] 前記 T G F - ベータ阻害剤が、第 1 の T G F - ベータ受容体ポリペプチド及び第 2 の T G F - ベータ受容体ポリペプチドを含む、項目 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子。

[項目 1 1] 前記多重特異性分子が、第 1 の F c 領域 (例えば、第 1 の C H 1 - F c 領域) 及び第 2 の F c 領域 (例えば、第 2 の C H 1 - F c 領域) を含み、任意で、

(i) 前記第 1 の T G F - ベータ受容体ポリペプチドが、例えば、リンカーを介して、前記第 1 の F c 領域 (例えば、第 1 の C H 1 - F c 領域) 例えば、前記第 1 の F c 領域 (例 10
えば、第 1 の C H 1 - F c 領域) の C 末端に連結され、

(i i) 前記第 2 の T G F - ベータ受容体ポリペプチドが、例えば、リンカーを介して、前記第 2 の F c 領域 (例えば、第 2 の C H 1 - F c 領域) 例えば、前記第 2 の F c 領域 (例
えば、第 2 の C H 1 - F c 領域) の C 末端に連結され、

任意で、前記第 1 の T G F - ベータ受容体ポリペプチドと前記第 2 の T G F - ベータ受容体ポリペプチドがホモ二量体またはヘテロ二量体、例えば、ホモ二量体を形成し、任意で、前記第 1 または第 2 の T G F - ベータ受容体ポリペプチドが、 T G F B R 1、 T G F B R 2、または T G F B R 3 の細胞外ドメイン、例えば、 T G F B R 2 の細胞外ドメイン
を含み、

任意で、前記多重特異性分子が図 6 A または 6 B の構成を有する、 20

項目 1 0 に記載の多重特異性分子。

[項目 1 2] 前記多重特異性分子が、

(i) 配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列及び配列番号 1 9 3 のアミノ酸配列、

(i i) 配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列及び配列番号 1 9 5 のアミノ酸配列、

(i i i) 配列番号 1 9 4 のアミノ酸配列及び配列番号 1 9 3 のアミノ酸配列、または

(i v) 配列番号 1 9 4 のアミノ酸配列及び配列番号 1 9 5 のアミノ酸配列、

を含む、項目 1 1 に記載の多重特異性分子。

[項目 1 3] 前記多重特異性分子が重鎖定常領域 1 (C H 1) 及び軽鎖定常領域 (C L) を含み、任意で、

(i) 前記第 1 の T G F - ベータ受容体ポリペプチドが、例えば、リンカーを介して、前記 C H 1、例えば、前記 C H 1 の N 末端に連結され、 30

(i i) 前記第 2 の T G F - ベータ受容体ポリペプチドが、例えば、リンカーを介して、前記 C L、例えば前記 C L の N 末端に連結され、

任意で、前記第 1 の T G F - ベータ受容体ポリペプチドと前記第 2 の T G F - ベータ受容体ポリペプチドがホモ二量体またはヘテロ二量体、例えば、ホモ二量体を形成し、任意で、前記第 1 または第 2 の T G F - ベータ受容体ポリペプチドが、 T G F B R 1、 T G F B R 2、または T G F B R 3 の細胞外ドメイン、例えば、 T G F B R 2 の細胞外ドメインを
含み、

任意で、前記多重特異性分子が図 6 C または 6 D の構成を有する、

項目 1 0 に記載の多重特異性分子。 40

[項目 1 4] 前記多重特異性分子が、

(i) 配列番号 1 9 6 のアミノ酸配列及び配列番号 1 9 8 のアミノ酸配列、

(i i) 配列番号 1 9 6 のアミノ酸配列及び配列番号 1 9 9 のアミノ酸配列、

(i i i) 配列番号 1 9 7 のアミノ酸配列及び配列番号 1 9 8 のアミノ酸配列、または

(i v) 配列番号 1 9 7 のアミノ酸配列及び配列番号 1 9 9 のアミノ酸配列、

を含む、項目 1 3 に記載の多重特異性分子。

[項目 1 5] 抗 C S F 1 R 結合部分 (例えば、抗 C S F 1 R 抗体分子) を含む、項目 1 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子。

[項目 1 6] 抗 C C R 2 結合部分 (例えば、抗 C C R 2 抗体分子) を含む、項目 1 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子。 50

[項目17] 前記腫瘍標的化部分(例えば、腫瘍標的化抗体分子)が、PD-L1、メソセリン、CD47、ガングロシド2(GD2)、前立腺幹細胞抗原(PSCA)、前立腺特異的膜抗原(PMSA)、前立腺特異的抗原(PSA)、癌胎児抗原(CEA)、Ronキナーゼ、c-Met、未熟ラミニン受容体、TAG-72、BING-4、カルシウム依存性塩素チャネル2、サイクリン-B1、9D7、Ep-CAM、EphA3、Her2/neu、テロメラゼ、SAP-1、サバイビン、NY-ESO-1/LAGE-1、PRAME、SSX-2、Melan-A/MART-1、Gp100/pmel17、チロシナーゼ、TRP-1/-2、MC1R、 β -カテニン、BRCA1/2、CDK4、CML66、フィブロネクチン、p53、Ras、TGF- β 受容体、AFP、ETA、MAGE、MUC-1、CA-125、BAGE、GAGE、NY-ESO-1、 β -カテニン、CDK4、CDC27、CD47、アクチニン-4、TRP1/gp75、TRP2、gp100、Melan-A/MART1、ガングリオシド、WT1、EphA3、上皮増殖因子受容体(EGFR)、CD20、MART-2、MART-1、MUC1、MUC2、MUM1、MUM2、MUM3、NA88-1、NPM、OA1、OGT、RCC、RUI1、RUI2、SAGE、TRG、TRP1、TSTA、葉酸受容体アルファ、L1-CAM、CAIX、EGFRvIII、gpA33、GD3、GM2、VEGFR、インテグリン(インテグリンアルファVベータ3、インテグリンアルファ5ベータ1)、炭水化物(Le)、IGF1R、EPhA3、TRAILR1、TRAILR2、またはRANKLに結合する、項目1~16のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

10

20

[項目18] 前記抗CSF1R抗体分子、抗CCR2抗体分子、または腫瘍標的化抗体分子が、独立して、完全抗体(例えば、少なくとも1つ、好ましくは2つの完全重鎖、及び少なくとも1つ、好ましくは2つの完全軽鎖を含む抗体)、または抗原結合フラグメント(例えば、Fab、F(ab')₂、Fv、scFv、単ドメイン抗体、もしくはダイアボディ(dAb))である、項目1~17のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

[項目19] 前記抗CSF1R抗体分子、抗CCR2抗体分子、または腫瘍標的化抗体分子が、IgG1、IgG2、IgG3、もしくはIgG4、またはそれらのフラグメントから選択される重鎖定常領域を含む、項目1~18のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

[項目20] 前記抗CSF1R抗体分子、抗CCR2抗体分子、または腫瘍標的化抗体分子が、カッパもしくはラムダの軽鎖定常領域、またはそれらのフラグメントから選択される軽鎖定常領域を含む、項目1~19のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

30

[項目21] 前記抗CSF1R抗体分子または抗CCR2抗体分子が、カッパ軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含み、前記腫瘍標的化抗体分子が、ラムダ軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含み、項目1~20のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

[項目22] 前記抗CSF1R抗体分子または抗CCR2抗体分子が、ラムダ軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含み、前記腫瘍標的化抗体分子が、カッパ軽鎖定常領域またはそのフラグメントを含み、項目1~20のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

[項目23] 前記抗CSF1R抗体分子または抗CCR2抗体分子と前記腫瘍標的化抗体分子が、共通の軽鎖可変領域を有する、項目1~20のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

40

[項目24] IgG1、IgG2、及びIgG4の重鎖定常領域、より具体的には、ヒトIgG1、IgG2、またはIgG4の重鎖定常領域から選択される重鎖定常領域(例えば、Fc領域)をさらに含む、項目1~23のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

[項目25] 前記重鎖定常領域(例えば、Fc領域)が、抗CSF1R抗体分子、抗CCR2抗体分子、腫瘍標的化抗体分子に結合、例えば共有結合している、項目24に記載の多重特異性分子。

[項目26] 前記重鎖定常領域(例えば、Fc領域)が、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、Fc受容体結合、抗体のグリコシル化、システイン残基の数、エフェクター細胞機能、または補体機能のうちの1つ以上を増加または減少させる1つ以上の変異を含む

50

、項目 2 4 または 2 5 に記載の多重特異性分子。

[項目 2 7] 前記抗 C S F 1 R 抗体分子または抗 C C R 2 抗体分子が、第 1 の重鎖定常領域（例えば、第 1 の F c 領域）を含み、前記腫瘍標的化抗体分子が第 2 の重鎖定常領域（例えば、第 2 の F c 領域）を含み、前記第 1 の重鎖定常領域が、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、前記第 1 の重鎖定常領域と前記第 2 の重鎖定常領域のヘテロ二量体化を増加させる 1 つ以上の変異を含み、及び / または前記第 2 の重鎖定常領域が、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、前記第 2 の重鎖定常領域と前記第 1 の重鎖定常領域のヘテロ二量体化を増加させる 1 つ以上の変異を含む、項目 1 ~ 2 6 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子。

[項目 2 8] 前記第 1 及び前記第 2 の重鎖定常領域（例えば、第 1 及び第 2 の F c 領域）が、対形成した空洞 - 突起（「ノブインホール」）、静電相互作用、または鎖交換のうちの 1 つ以上を含み、それにより、ヘテロ多量体；ホモ多量体を、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、より大きな比率で形成する、項目 2 7 に記載の多重特異性分子。

[項目 2 9] 前記第 1 及び / または第 2 の重鎖定常領域（例えば、第 1 及び / または第 2 の F c 領域、例えば、第 1 及び / または第 2 の I g G 1 F c 領域）が、E u 付番システムに基づいて付番される、3 4 7、3 4 9、3 5 0、3 5 1、3 6 6、3 6 8、3 7 0、3 9 2、3 9 4、3 9 5、3 9 7、3 9 8、3 9 9、4 0 5、4 0 7、または 4 0 9 のうちの 1 つ以上から選択される位置でアミノ酸置換を含む、項目 2 7 または 2 8 に記載の多重特異性分子。

[項目 3 0] 前記第 1 及び / または第 2 の重鎖定常領域（例えば、第 1 及び / または第 2 の F c 領域、例えば、第 1 及び / または第 2 の I g G 1 F c 領域）が、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V、もしくは Y 3 4 9 C（例えば、空洞もしくはホールに対応する）、または T 3 6 6 W もしくは S 3 5 4 C（例えば、突起もしくはノブに対応する）、あるいはそれらの組み合わせ（付番は E u 付番システムに基づく）から選択されるアミノ酸置換を含む、項目 2 7 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子。

[項目 3 1] リンカーをさらに含み、任意で、前記リンカーが、切断可能なリンカー、切断不可能なリンカー、ペプチドリンカー、フレキシブルリンカー、リジッドリンカー、ヘリカルリンカー、または非ヘリカルリンカーから選択され、任意で、前記リンカーが、ペプチドリンカーであり、任意で、前記ペプチドリンカーが、G l y 及び S e r を含む、項目 1 ~ 3 0 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子。

[項目 3 2] 単離された多重特異性分子であって、

(i) C S F 1 R 結合部分（例えば、抗 C S F 1 R 抗体分子）と、

(i i) P D - L 1 結合部分（例えば、抗 P D - L 1 抗体分子）と、

(i i i) T G F - ベータ阻害剤と、

を含む、前記多重特異性分子。

[項目 3 3] 前記 C S F 1 R 結合部分（例えば、抗 C S F 1 R 抗体分子）、及び、前記 P D - L 1 結合部分（例えば、抗 P D - L 1 抗体分子）が、独立して、完全抗体（例えば、少なくとも 1 つ、好ましくは 2 つの完全重鎖、及び少なくとも 1 つ、好ましくは 2 つの完全軽鎖を含む抗体）、または抗原結合フラグメント（例えば、F a b、F (a b ')₂、F v、s c F v、単ドメイン抗体、もしくはダイアボディ (d A b)) である、項目 3 2 に記載の多重特異性分子。

[項目 3 4] 前記 C S F 1 R 結合部分（例えば、抗 C S F 1 R 抗体分子）、及び / または、前記 P D - L 1 結合部分（例えば、抗 P D - L 1 抗体分子）が、カップもしくはラムダの軽鎖定常領域、またはそれらのフラグメントから選択される軽鎖定常領域を含む、項目 3 2 または 3 3 に記載の多重特異性分子。

[項目 3 5] (i) 前記 C S F 1 R 結合部分（例えば、抗 C S F 1 R 抗体分子）が、カップ軽鎖定常領域もしくはそのフラグメントを含み、前記 P D - L 1 結合部分（例えば、抗 P D - L 1 抗体分子）が、ラムダ軽鎖定常領域もしくはそのフラグメントを含むか、または

(i i) 前記 C S F 1 R 結合部分（例えば、抗 C S F 1 R 抗体分子）が、ラムダ軽鎖定常

10

20

30

40

50

領域もしくはそのフラグメントを含み、前記PD-L1結合部分（例えば、抗PD-L1抗体分子）が、カップ軽鎖定常領域もしくはそのフラグメントを含む、
項目32～34のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

[項目36] 前記CSF1R結合部分（例えば、抗CSF1R抗体分子）と前記PD-L1結合部分（例えば、抗PD-L1抗体分子）が、共通の軽鎖可変領域を有する、項目32～35のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

[項目37] 前記CSF1R結合部分（例えば、抗CSF1R抗体分子）、及び/または、前記PD-L1結合部分（例えば、抗PD-L1抗体分子）が、IgG1、IgG2、IgG3、もしくはIgG4から選択される重鎖定常領域（例えば、CH1領域及びFc領域）、またはそれらのフラグメントを含む、項目32～36のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

10

[項目38] 前記重鎖定常領域（例えば、Fc領域）が、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、Fc受容体結合、抗体のグリコシル化、システイン残基の数、エフェクター細胞機能、または補体機能のうちの1つ以上を増加または減少させる1つ以上の変異を含む、項目37に記載の多重特異性分子。

[項目39] 前記CSF1R結合部分（例えば、抗CSF1R抗体分子）が第1の重鎖定常領域（例えば、第1のFc領域）を含み、前記PD-L1結合部分（抗PD-L1抗体分子）が第2の重鎖定常領域（例えば、第2のFc領域）を含み、前記第1の重鎖定常領域が、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、前記第1の重鎖定常領域と前記第2の重鎖定常領域のヘテロ二量体化を増加させる1つ以上の変異を含み、及び/または前記第2の重鎖定常領域が、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、前記第2の重鎖定常領域と前記第1の重鎖定常領域のヘテロ二量体化を増加させる1つ以上の変異を含む、項目32～38のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

20

[項目40] 前記第1及び前記第2の重鎖定常領域（例えば、第1及び第2のFc領域）が、対形成した空洞-突起（「ノブインホール」）、静電相互作用、または鎖交換のうちの1つ以上を含み、それにより、ヘテロ多量体：ホモ多量体を、天然に存在する重鎖定常領域と比べて、より大きな比率で形成する、項目39に記載の多重特異性分子。

[項目41] 前記第1及び/または前記第2の重鎖定常領域（例えば、第1及び/または第2のFc領域、例えば、第1及び/または第2のIgG1 Fc領域）が、Eu付番システムに基づいて付番される、347、349、350、351、366、368、370、392、394、395、397、398、399、405、407、または409のうちの1つ以上から選択される位置でアミノ酸置換を含む、項目39または40に記載の多重特異性分子。

30

[項目42] 前記第1及び/または前記第2の重鎖定常領域（例えば、第1及び/または第2のFc領域、例えば、第1及び/または第2のIgG1 Fc領域）が、T366S、L368A、Y407V、もしくはY349C（例えば、空洞もしくはホールに対応する）、またはT366WもしくはS354C（例えば、突起もしくはノブに対応する）、あるいはそれらの組み合わせ（付番はEu付番システムに基づく）から選択されるアミノ酸置換を含む、項目39～41のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

[項目43] 前記TGF-ベータ阻害剤が、

40

(i) TGF-ベータ1、

(ii) TGF-ベータ2、または

(iii) TGF-ベータ3、

のうちの1つ、2つ、または全ての活性を低減し、

任意で、前記TGF-ベータ阻害剤が、

(a) TGF-ベータ1及びTGF-ベータ3、または

(b) TGF-ベータ1、TGF-ベータ2、及びTGF-ベータ3

の活性を低減する、項目32～42のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

[項目44] (i) 前記TGF-ベータ阻害剤が、例えば、リンカーを介して前記CSF1R結合部分（例えば、抗CSF1R抗体分子）または前記PD-L1結合部分（例え

50

ば、抗PD-L1抗体分子)に連結されているか、または
 (ii)前記多重特異性分子が、第1のTGF-ベータ阻害剤及び第2のTGF-ベータ阻害剤を含み、前記第1のTGF-ベータ阻害剤が、例えば、リンカーを介して前記CSF1R結合部分(例えば、抗CSF1R抗体分子)に連結され、前記第2のTGF-ベータ阻害剤が、例えば、リンカーを介して前記PD-L1結合部分(例えば、抗PD-L1抗体分子)に連結されている、

項目32~43のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

[項目45] (i)前記CSF1R結合部分(例えば、抗CSF1R抗体分子)が第1の重鎖ポリペプチド(例えば、第1の重鎖可変領域及び第1の重鎖定常領域(例えば、第1のFc領域)を含む第1の重鎖ポリペプチド)ならびに第1の軽鎖ポリペプチド(例えば、第1の軽鎖可変領域及び第1の軽鎖定常領域を含む第1の軽鎖ポリペプチド)を含み、
 (ii)前記PD-L1結合部分(例えば、抗PD-L1抗体分子)が第2の重鎖ポリペプチド(例えば、第2の重鎖可変領域及び第2の重鎖定常領域(例えば、第2のFc領域)を含む第2の重鎖ポリペプチド)ならびに第2の軽鎖ポリペプチド(例えば、第2の軽鎖可変領域及び第2の軽鎖定常領域を含む第2の軽鎖ポリペプチド)を含み、

10

(a)前記TGF-ベータ阻害剤が、例えば、リンカーを介して前記第1の重鎖ポリペプチド(例えば、前記第1の重鎖ポリペプチドのFc領域、例えば、前記第1の重鎖ポリペプチドのFc領域のC末端)、または前記第2の重鎖ポリペプチド(例えば、前記第2の重鎖ポリペプチドのFc領域、例えば、前記第2の重鎖ポリペプチドのFc領域のC末端)に連結されるか、

20

(b)前記多重特異性分子が、第1のTGF-ベータ阻害剤及び第2のTGF-ベータ阻害剤を含み、前記第1のTGF-ベータ阻害剤が、例えば、リンカーを介して前記第1の重鎖ポリペプチド(例えば、前記第1の重鎖ポリペプチドのFc領域、例えば、前記第1の重鎖ポリペプチドのFc領域のC末端)に連結され、前記第2のTGF-ベータ阻害剤が、例えば、リンカーを介して前記第2の重鎖ポリペプチド(例えば、前記第2の重鎖ポリペプチドのFc領域、例えば、前記第2の重鎖ポリペプチドのFc領域のC末端)に連結されるか、

(c)前記TGF-ベータ阻害剤が、例えば、リンカーを介して前記第1の軽鎖ポリペプチド(例えば、前記第1の軽鎖ポリペプチドの定常領域、例えば、前記第1の軽鎖ポリペプチドの定常領域のC末端)、または前記第2の軽鎖ポリペプチド(例えば、前記第2の軽鎖ポリペプチドの定常領域、例えば、前記第2の軽鎖ポリペプチドの定常領域のC末端)に連結されるか、または

30

(d)前記多重特異性分子が、第1のTGF-ベータ阻害剤及び第2のTGF-ベータ阻害剤を含み、前記第1のTGF-ベータ阻害剤が、例えば、リンカーを介して前記第1の軽鎖ポリペプチド(例えば、前記第1の軽鎖ポリペプチドの定常領域、例えば、前記第1の軽鎖ポリペプチドの定常領域のC末端)に連結され、前記第2のTGF-ベータ阻害剤が、例えば、リンカーを介して前記第2の軽鎖ポリペプチド(例えば、前記第2の軽鎖ポリペプチドの定常領域、例えば、前記第2の軽鎖ポリペプチドの定常領域のC末端)に連結されている、

項目32~44のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

40

[項目46] (i)第1のVL及び第1のCLを含む前記CSF1R結合部分の第1の部分を含む第1のポリペプチド、

(ii)(1)第1のVH、第1のCH1、第1のCH2、及び第1のCH3を含む前記CSF1R結合部分の第2の部分と、任意で(2)第1のTGF-ベータ阻害剤とを含む第2のポリペプチド、

(iii)(1)第2のVH、第2のCH1、第2のCH2、及び第2のCH3を含む前記PD-L1結合部分の第1の部分と、任意で(2)第2のTGF-ベータ阻害剤とを含む第3のポリペプチド、

(iv)第2のVL及び第2のCLを含む前記PD-L1結合部分の第2の部分を含む第4のポリペプチド、

50

を含み、前記多重特異性分子が、前記第1のTGF-ベータ阻害剤または前記第2のTGF-ベータ阻害剤のうちの少なくとも1つを含み、任意で、前記第1及び前記第2のTGF-ベータ阻害剤は、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成する、
項目32～45のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

[項目47] (i) 第1のVL及び第1のCLを含む前記CSF1R結合部分の第1の部分を含む第1のポリペプチド、

(ii) (1) 第1のVH、第1のCH1、第1のCH2、及び第1のCH3を含む前記CSF1R結合部分の第2の部分と、任意で(2) 第2のVH及び第2のVLを含むPD-L1結合部分(例えば、scFv)とを含む第2のポリペプチド、

(iii) 第1のTGF-ベータ阻害剤、第2のCH1、第2のCH2、及び第2のCH3を含む第3のポリペプチド、

(iv) 第2のTGF-ベータ阻害剤及び第2のCLを含む第4のポリペプチド、
を含み、任意で、前記第1及び前記第2のTGF-ベータ阻害剤が、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成する、

項目32～45のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

[項目48] (i) 第1のVL及び第1のCLを含む前記PD-L1結合部分の第1の部分を含む第1のポリペプチド、

(ii) (1) 第1のVH、第1のCH1、第1のCH2、及び第1のCH3を含む前記PD-L1結合部分の第2の部分と、任意で(2) 第2のVH及び第2のVLを含むCSF1R結合部分(例えば、scFv)とを含む第2のポリペプチド、

(iii) 第1のTGF-ベータ阻害剤、第2のCH1、第2のCH2、及び第2のCH3を含む第3のポリペプチド、

(iv) 第2のTGF-ベータ阻害剤及び第2のCLを含む第4のポリペプチド、
を含み、任意で、前記第1及び前記第2のTGF-ベータ阻害剤が、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成する、

項目32～45のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

[項目49] (i) 第1のTGF-ベータ阻害剤及び第1のCLを含む第1のポリペプチド、

(ii) (1) 第2のTGF-ベータ阻害剤、第1のCH1、第1のCH2、及び第1のCH3と、(2) 第1のVH及び第1のVLを含む前記PD-L1結合部分(例えば、第1のscFv)とを含む第2のポリペプチド、

(iii) (1) 第3のTGF-ベータ阻害剤、第2のCH1、第2のCH2、及び第2のCH3と、(2) 第2のVH及び第2のVLを含む前記CSF1R結合部分(例えば、第2のscFv)とを含む第3のポリペプチド、

(iv) 第4のTGF-ベータ阻害剤及び第2のCLを含む第4のポリペプチド、
を含み、任意で、前記第1及び前記第2のTGF-ベータ阻害剤が、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成し、及び/または前記第3及び前記第4の第3のTGF-ベータ阻害剤が、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成する、

項目32～45のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

[項目50] (i) (1) 第1のTGF-ベータ阻害剤、第1のCH2、及び第1のCH3と、(2) 第1のVH及び第1のVLを含む前記PD-L1結合部分(例えば、第1のscFv)とを含む第1のポリペプチド、

(ii) (1) 第2のTGF-ベータ阻害剤、第2のCH2、及び第2のCH3と、(2) 第2のVH及び第2のVLを含む前記CSF1R結合部分(例えば、第2のscFv)とを含む第2のポリペプチド、

を含む、項目32～45のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

[項目51] 前記TGF-ベータ阻害剤、または前記第1、第2、第3、もしくは第4のTGF-ベータ阻害剤が、TGF-ベータ受容体ポリペプチド(例えば、TGF-ベータ受容体の細胞外ドメイン、もしくは、その機能的バリエーション)を含む、項目32～50のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

10

20

30

40

50

〔項目52〕 前記TGF-ベータ阻害剤、または前記第1、第2、第3、もしくは第4のTGF-ベータ阻害剤が、

(i) TGFBR1ポリペプチド(例えば、1つ、2つ、3つ、またはそれ以上のTGFBR1ポリペプチド)、

(ii) TGFBR2ポリペプチド(例えば、1つ、2つ、3つ、またはそれ以上のTGFBR2ポリペプチド)、または

(iii) TGFBR3ポリペプチド(例えば、1つ、2つ、3つ、またはそれ以上のTGFBR3ポリペプチド)、

のうちの1つ、2つ、または全てを含む、項目32~51のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

10

〔項目53〕 前記TGF-ベータ阻害剤、または前記第1、第2、第3、もしくは第4のTGF-ベータ阻害剤が、TGFBR1ポリペプチドを含み、例えば、前記TGF-ベータ阻害剤が、

(i) TGFBR1の細胞外ドメイン、または、それに実質的に同一である配列(例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)、

(ii) 配列番号95、96、97、120、121、もしくは122の細胞外ドメイン、または、それと実質的に同一である配列(例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)、または

(iii) 配列番号104もしくは105のアミノ酸配列、または、それと実質的に同一である配列(例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)、

20

を含む、項目32~52のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

〔項目54〕 前記TGF-ベータ阻害剤、または前記第1、第2、第3、もしくは第4のTGF-ベータ阻害剤が、TGFBR2ポリペプチドを含み、例えば、前記TGF-ベータ阻害剤が、

(i) TGFBR2の細胞外ドメイン、または、それに実質的に同一である配列(例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)、

(ii) 配列番号98、99、123、もしくは124の細胞外ドメイン、または、それと実質的に同一である配列(例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)、または

(iii) 配列番号100、101、102、及び103からなる群から選択されるアミノ酸配列、または、それと実質的に同一である配列(例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)、

30

を含む、項目32~53のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

〔項目55〕 前記TGF-ベータ阻害剤、または前記第1、第2、第3、もしくは第4のTGF-ベータ阻害剤が、TGFBR3ポリペプチドを含み、例えば、前記TGF-ベータ阻害剤が、

(i) TGFBR3の細胞外ドメイン、または、それに実質的に同一である配列(例えば、それに少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)、

(ii) 配列番号106、107、125、もしくは126の細胞外ドメイン、または、それと実質的に同一である配列(例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)、または

(iii) 配列番号108のアミノ酸配列、または、それと実質的に同一である配列(例えば、それと少なくとも80%、85%、90%、もしくは95%同一である配列)、を含む、項目32~54のいずれか1項に記載の多重特異性分子。

40

〔項目56〕 第1、第2、第3、及び第4の非隣接ポリペプチドを含み、前記第1、第2、第3、及び第4の非隣接ポリペプチドが、

それぞれ配列番号176、138、185、及び147、もしくはそれと実質的に同一(例えば、それと85%~99%同一)な配列、

それぞれ配列番号176、138、186、及び148、もしくはそれと実質的に同一(

50

例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 167、161、172、及び 161、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 168、161、172、及び 161、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 166、161、173、及び 161、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 167、161、173、及び 161、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 168、161、173、及び 161、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 169、141、174、及び 141、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 170、141、174、及び 141、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 171、141、174、及び 141、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 169、141、175、及び 141、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 170、141、175、及び 141、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 171、141、175、及び 141、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 166、161、174、及び 141、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 167、161、174、及び 141、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 168、161、174、及び 141、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 166、161、175、及び 141、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 167、161、175、及び 141、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 168、161、175、及び 141、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 166、141、174、及び 161、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 167、141、174、及び 161、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 168、141、174、及び 161、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 166、141、175、及び 161、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 それぞれ配列番号 167、141、175、及び 161、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 または、それぞれ配列番号 168、141、175、及び 161、もしくはそれと実質的に同一 (例えば、それと 85% ~ 99% 同一) な配列、
 のアミノ酸配列を含む、項目 32 ~ 55 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子。
 「項目 57」 第 1 及び第 2 の非隣接ポリペプチドを含み、前記第 1 及び前記第 2 の非隣接ポリペプチドが、

10

20

30

40

50

それぞれ配列番号 1 4 2 及び 1 4 3、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 8 5 % ~ 9 9 % 同一）な配列、

それぞれ配列番号 1 4 2 及び 1 4 4、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 8 5 % ~ 9 9 % 同一）な配列、

それぞれ配列番号 1 5 7 及び 1 4 3、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 8 5 % ~ 9 9 % 同一）な配列、

それぞれ配列番号 1 5 7 及び 1 4 4、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 8 5 % ~ 9 9 % 同一）な配列、

それぞれ配列番号 1 5 8 及び 1 4 3、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 8 5 % ~ 9 9 % 同一）な配列、

それぞれ配列番号 1 5 8 及び 1 4 4、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 8 5 % ~ 9 9 % 同一）な配列、

それぞれ配列番号 1 6 3 及び 1 4 3、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 8 5 % ~ 9 9 % 同一）な配列、

それぞれ配列番号 1 6 3 及び 1 4 4、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 8 5 % ~ 9 9 % 同一）な配列、

それぞれ配列番号 1 6 4 及び 1 4 3、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 8 5 % ~ 9 9 % 同一）な配列、

それぞれ配列番号 1 6 4 及び 1 4 4、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 8 5 % ~ 9 9 % 同一）な配列、

それぞれ配列番号 1 6 5 及び 1 4 3、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 8 5 % ~ 9 9 % 同一）な配列、

またはそれぞれ配列番号 1 6 5 及び 1 4 4、もしくはそれと実質的に同一（例えば、それと 8 5 % ~ 9 9 % 同一）な配列、

の アミノ酸配列を含む、項目 3 2 ~ 5 5 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子。

[項目 5 8] 項目 1 ~ 5 7 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子をコードする単離された核酸分子。

[項目 5 9] 項目 5 8 に記載の核酸分子を含むベクター、例えば発現ベクター。

[項目 6 0] 項目 5 8 に記載の核酸分子、または項目 5 9 に記載のベクターを含む細胞、例えば宿主細胞。

[項目 6 1] 項目 1 ~ 5 7 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子を作製、例えば生成する方法であって、適切な条件下、例えば、遺伝子発現及び/またはヘテロ二量体化に適した条件下で、項目 6 0 に記載の細胞、例えば宿主細胞を培養することを含む、前記方法。

[項目 6 2] 項目 1 ~ 5 7 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子と、医薬的に許容される担体、賦形剤、または安定剤と、を含む、医薬組成物。

[項目 6 3] 対象においてがんを治療する方法であって、項目 1 ~ 5 7 のいずれか 1 項に記載の多重特異性分子を、それを必要とする前記対象に投与することを含み、前記多重特異性分子が、前記がんを治療するのに有効な量で投与される、前記方法。

[項目 6 4] 前記がんが固形腫瘍がんまたは転移性病変であり、任意で前記固形腫瘍がんが、膀胱癌（例えば、膀胱腺癌）、乳癌、結腸直腸癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌もしくは非小細胞肺癌）、皮膚癌（例えば、黒色腫）、卵巣癌、肝臓癌、または脳癌（例えば、神経膠腫）のうちの 1 つ以上である、項目 6 3 に記載の方法。

[項目 6 5] 前記がんが血液癌または転移性病変であり、任意で前記血液癌が、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B 細胞リンパ腫、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、慢性リンパ性白血病、マンツル細胞リンパ腫、辺縁帯 B 細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、有毛細胞白血病、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群（MDS）、多発性骨髄腫、または急性リンパ性白血病のうちの 1 つ以上である、項目 6 3 に記載の方法。

[項目 6 6] 第 2 の治療的処置を投与することをさらに含む、項目 6 3 ~ 6 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

20

30

40

50

[項目67] 前記第2の治療的処置が治療剤(例えば、化学療法剤、生物学的薬剤、ホルモン療法)、放射線、または外科手術を含む、項目66に記載の方法。

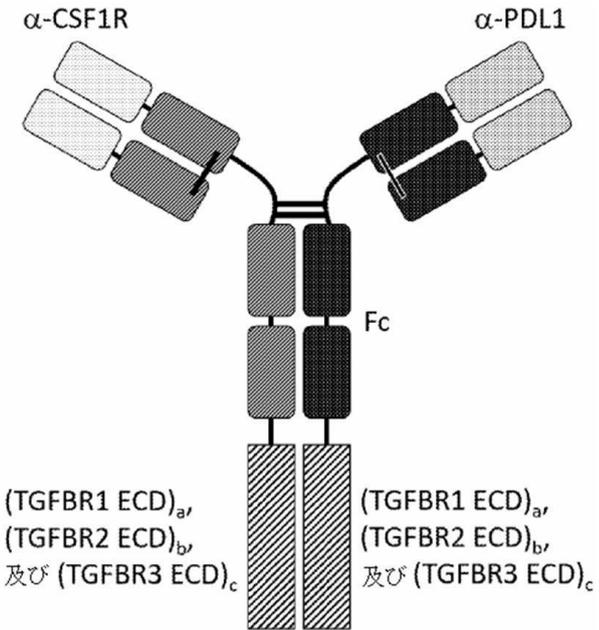
[項目68] 前記治療剤がチェックポイント阻害剤である、項目67に記載の方法。

[項目69] 前記チェックポイント阻害剤が、抗CTLA4抗体、抗PD1抗体(例えば、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、またはビジリズマブ)、抗PD-L1抗体、抗PD-L2抗体、抗TIM3抗体、抗LAG3抗体、抗CD160抗体、抗2B4抗体、抗CD80抗体、抗CD86抗体、抗B7-H3(CD276)抗体、抗B7-H4(VTCN1)抗体、抗HVEM(TNFRSF14またはCD270)抗体、抗BTLA抗体、抗KIR抗体、抗MHCクラスI抗体、抗MHCクラスII抗体、抗GAL9抗体、抗VISTA抗体、抗BTLA抗体、抗TIGIT抗体、抗LAIR1抗体、及び抗A2aR抗体からなる群から選択される、項目68に記載の方法。

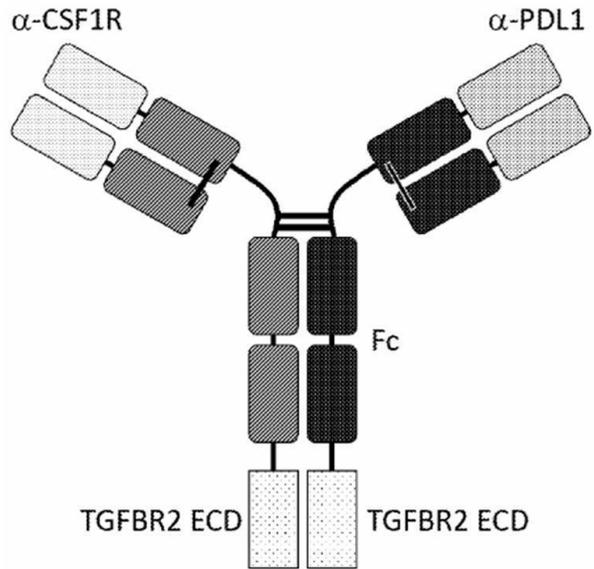
10

【図面】

【図1A】



【図1B】



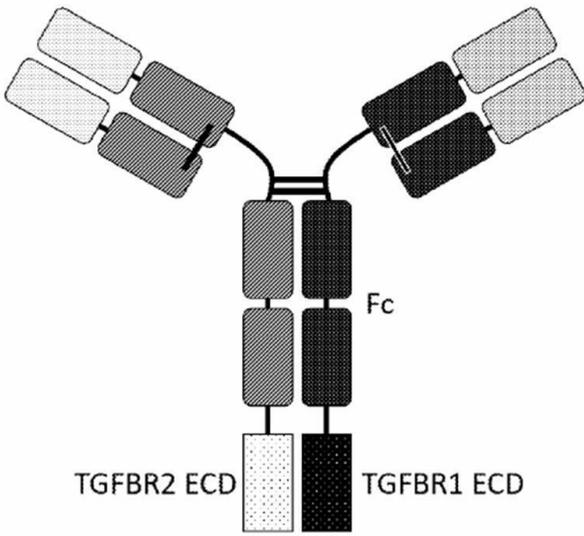
20

30

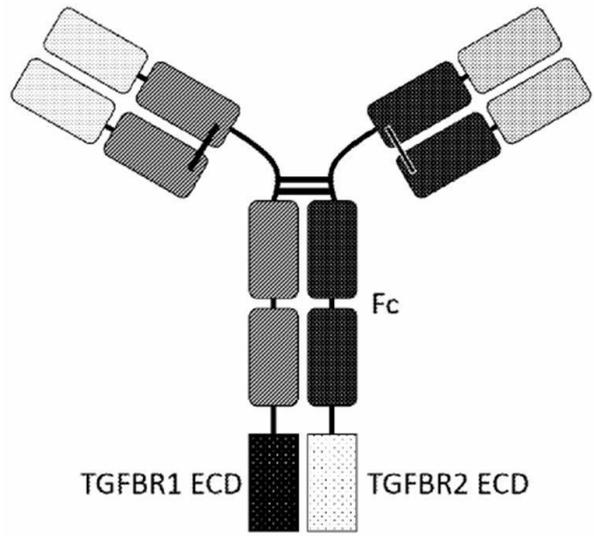
40

50

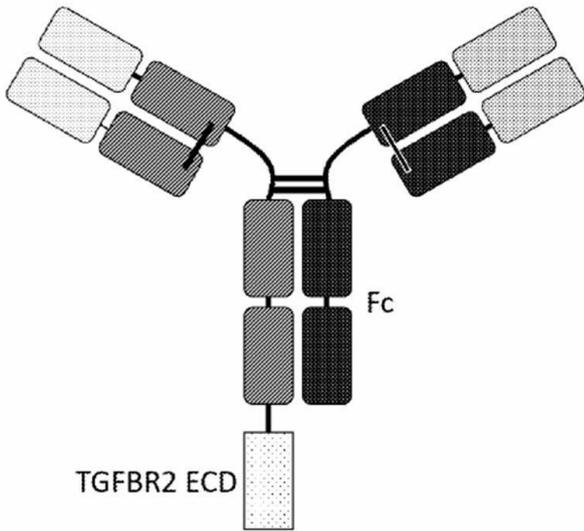
【 1 C】
α-CSF1R



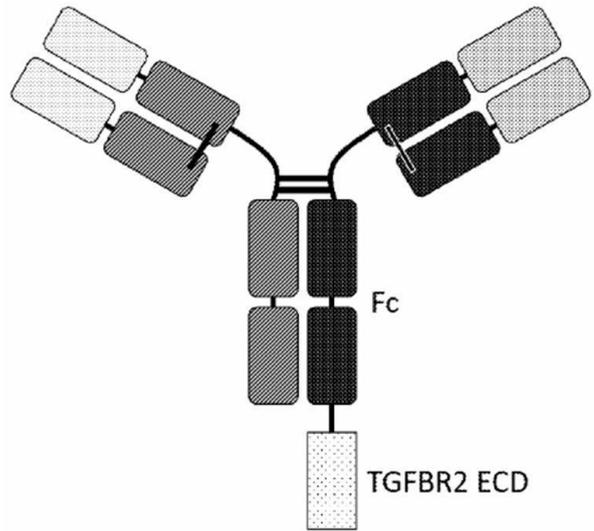
【 1 D】
α-CSF1R



【 1 E】
α-CSF1R



【 1 F】
α-CSF1R



10

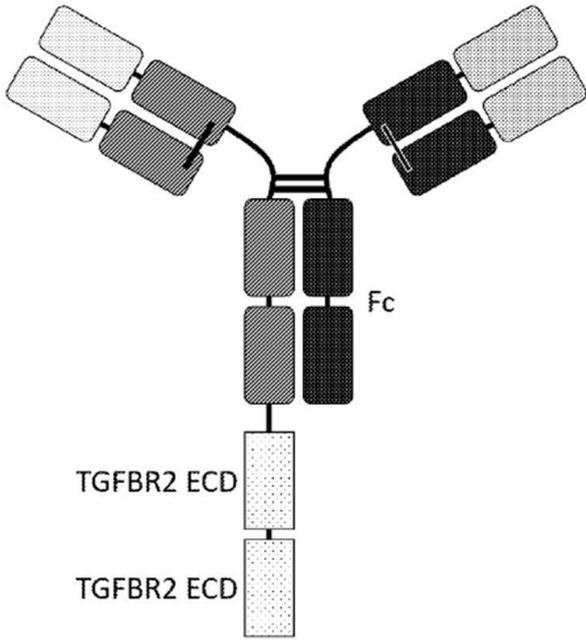
20

30

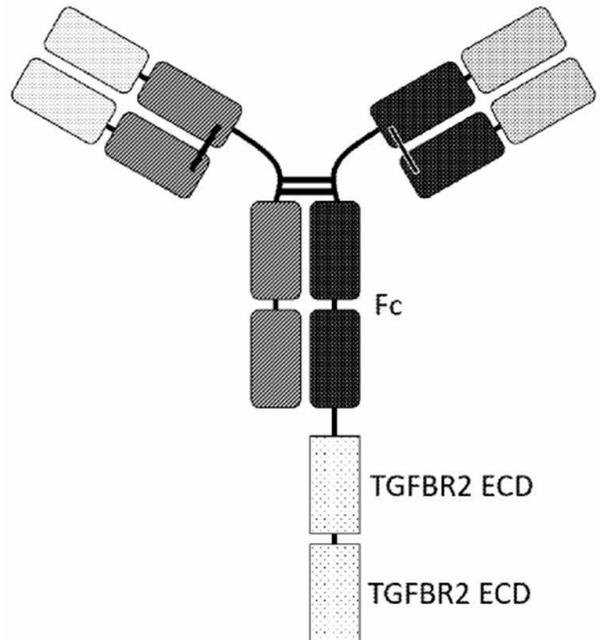
40

50

【 1 G】
α-CSF1R



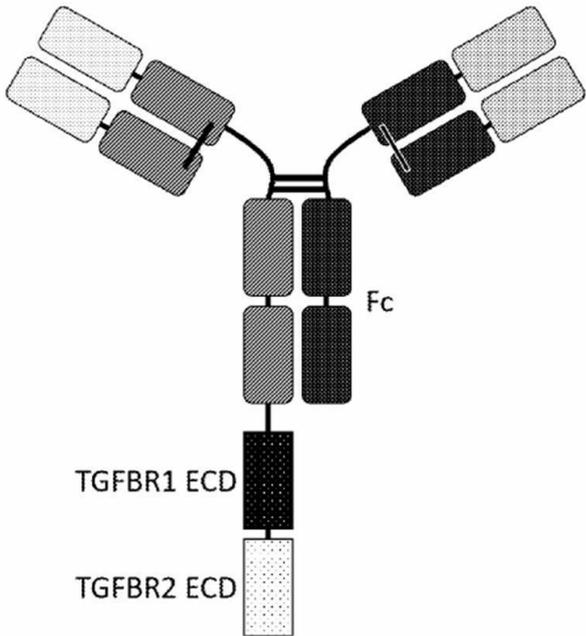
【 1 H】
α-CSF1R



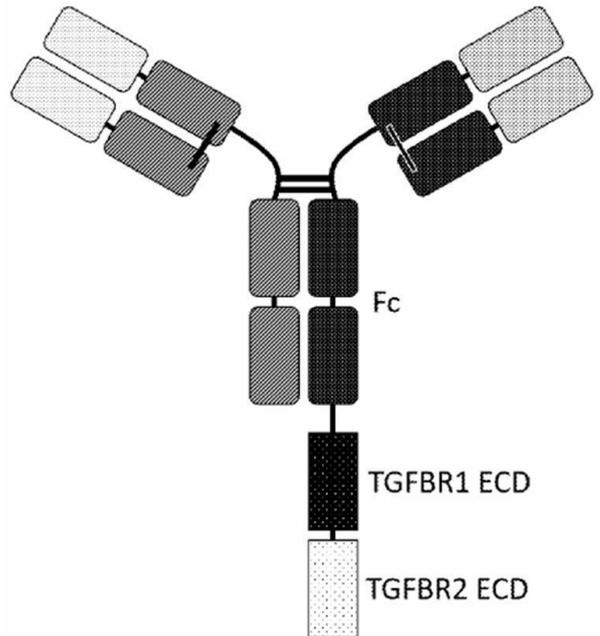
10

20

【 1 I】
α-CSF1R



【 1 J】
α-CSF1R

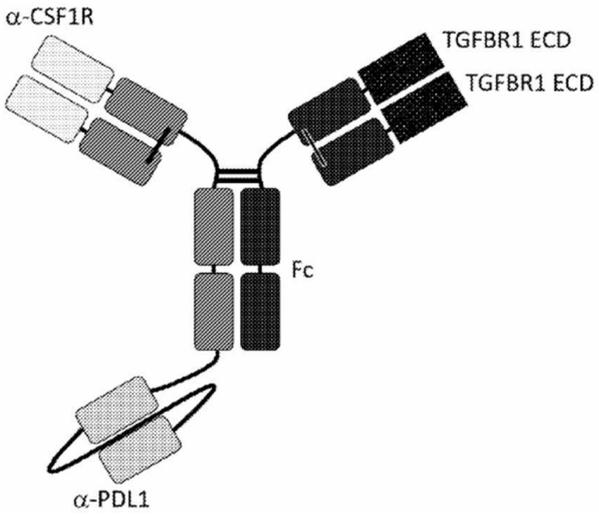


30

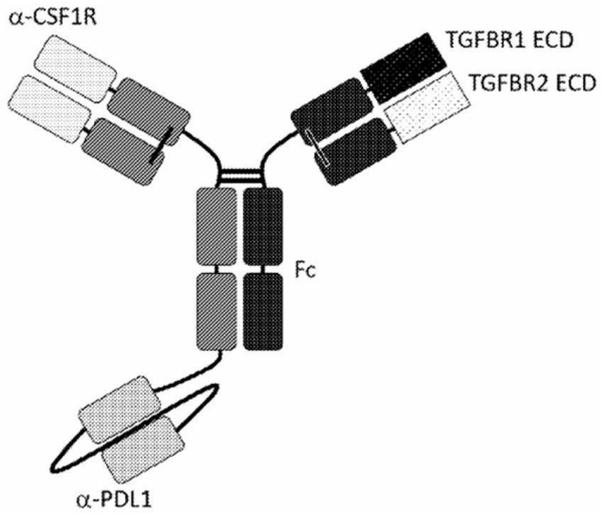
40

50

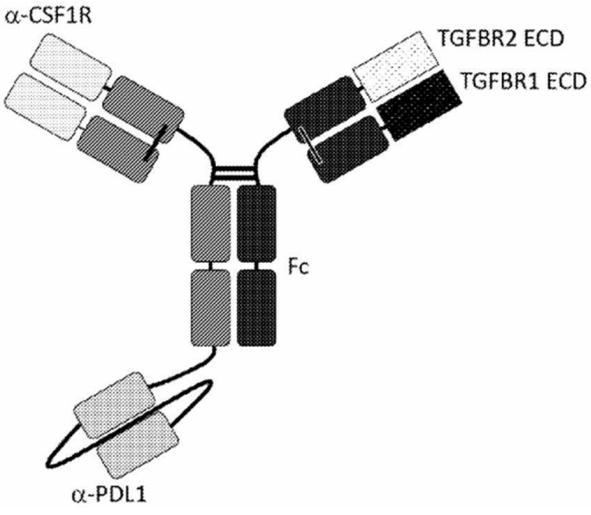
【 2 A】



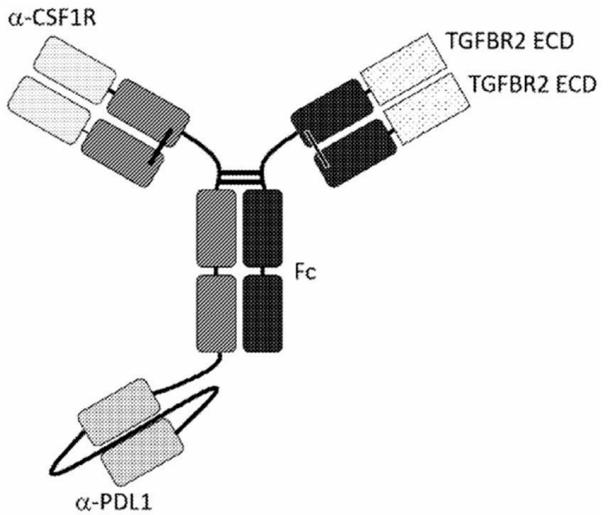
【 2 B】



【 2 C】



【 2 D】



10

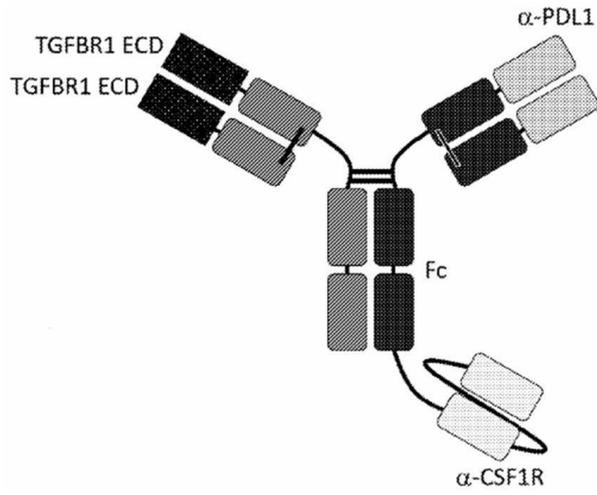
20

30

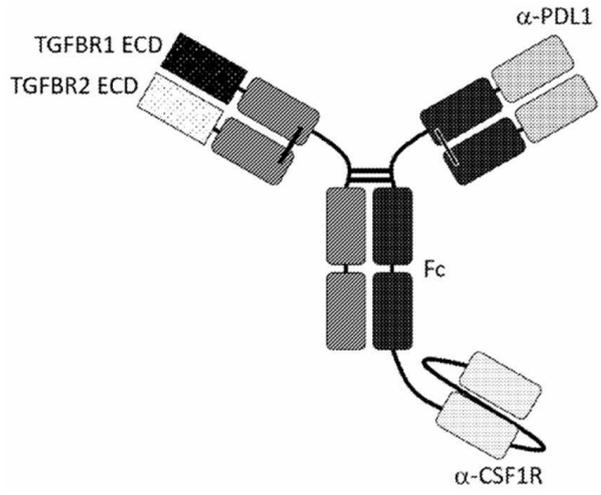
40

50

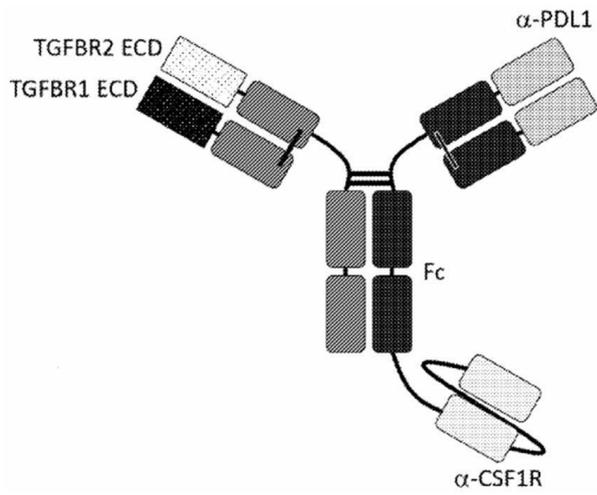
【 図 3 A 】



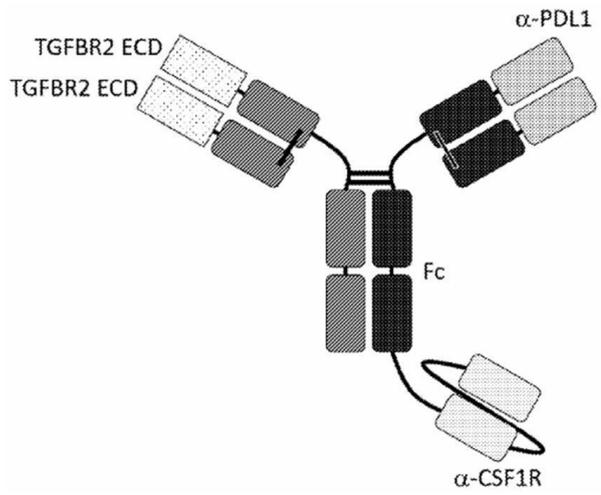
【 図 3 B 】



【 図 3 C 】



【 図 3 D 】



10

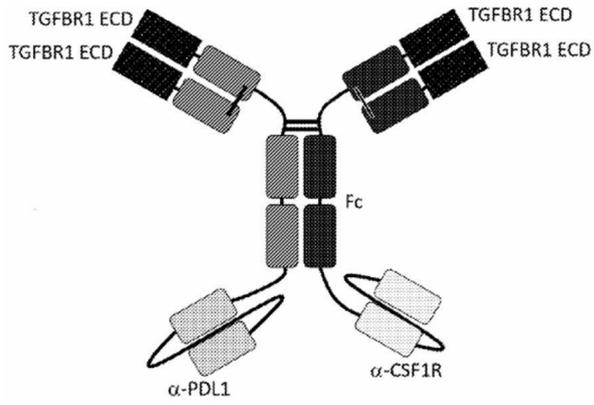
20

30

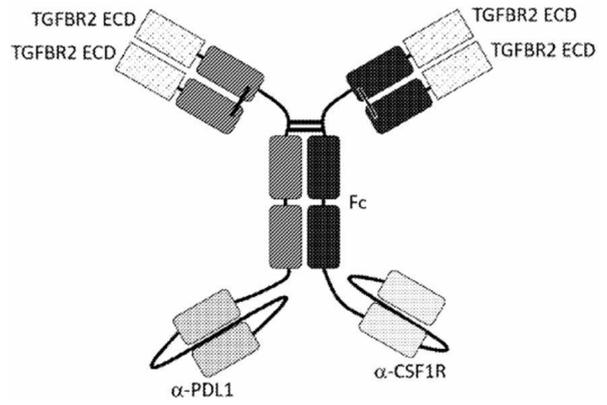
40

50

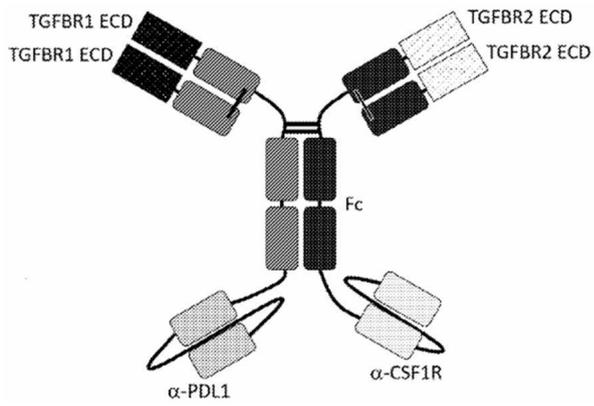
【 図 4 A 】



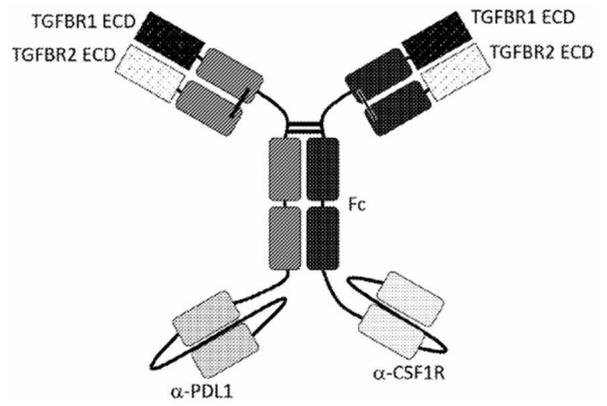
【 図 4 B 】



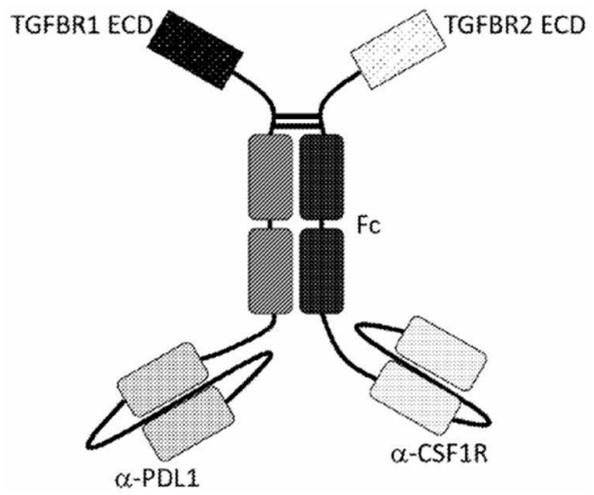
【 図 4 C 】



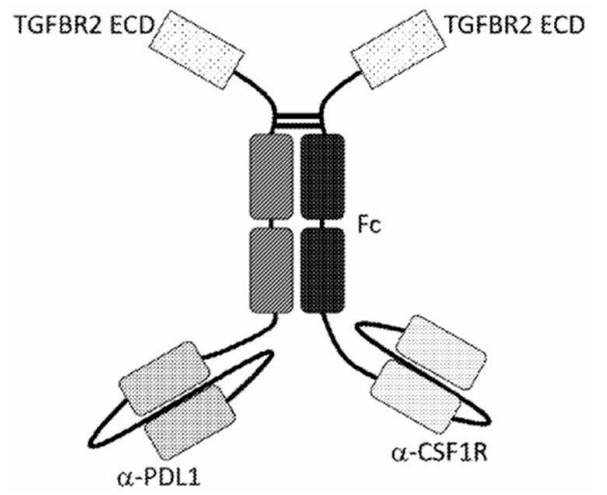
【 図 4 D 】



【 図 5 A 】



【 図 5 B 】



10

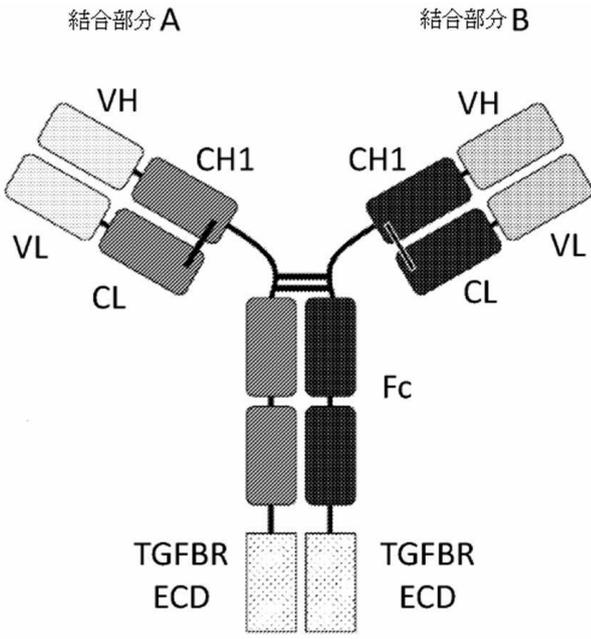
20

30

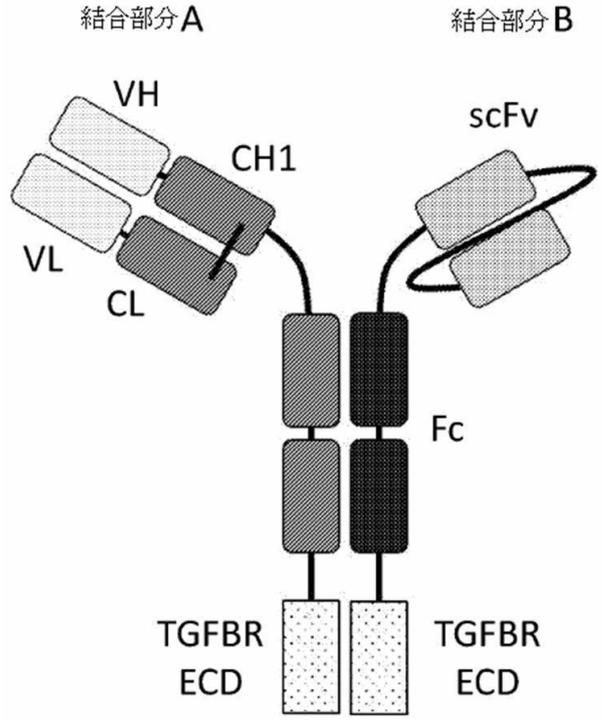
40

50

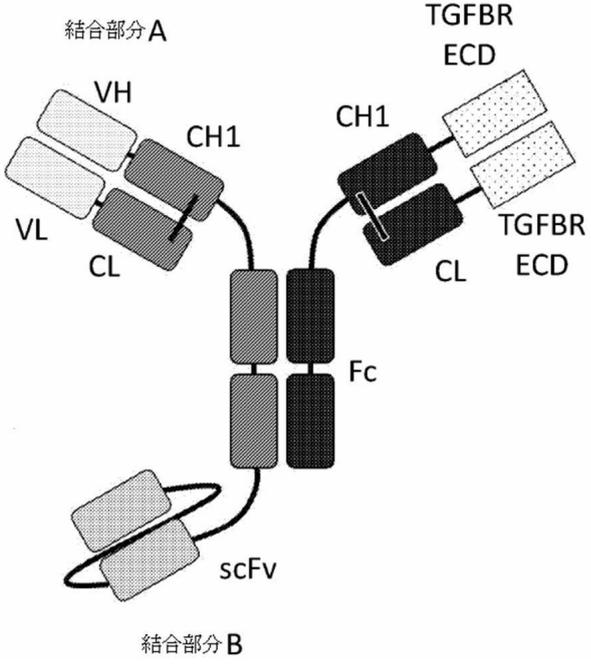
【図 6 A】



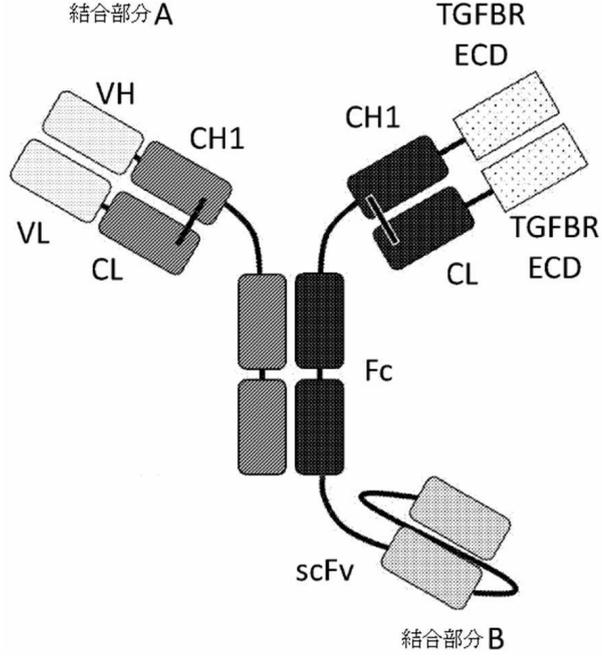
【図 6 B】



【図 6 C】



【図 6 D】



10

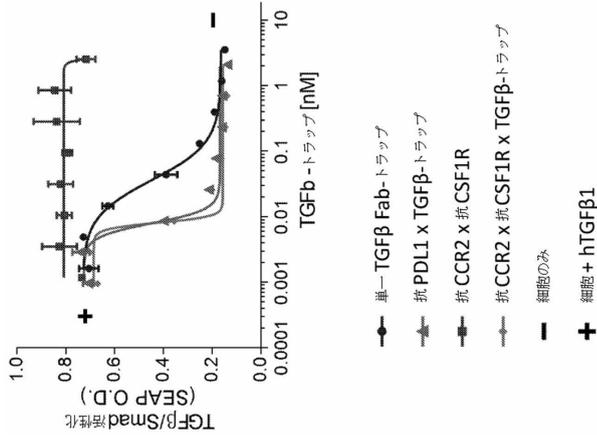
20

30

40

50

【図 7】



【配列表】

0007348899000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

		F I			
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08		
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15		
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19		
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21		
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10		
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	
A 6 1 K	38/17 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	U	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	38/17		
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00		
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 P	35/04 (2006.01)	A 6 1 P	35/02		
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/04		
		A 6 1 P	43/00	1 2 1	

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 9 , ケンブリッジ , メモリアル ドライブ 8 4 0 ,
4 ティーエイチ フロア , エルスター セラピューティクス , インコーポレイテッド 気付
(72)発明者 ヴァシュ , ブライアン エドワード

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 9 , ケンブリッジ , メモリアル ドライブ 8 4 0 ,
4 ティーエイチ フロア , エルスター セラピューティクス , インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 マイオッコ , ステファニー ジェイ .

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 9 , ケンブリッジ , メモリアル ドライブ 8 4 0 ,
4 ティーエイチ フロア , エルスター セラピューティクス , インコーポレイテッド 気付

審査官 平林 由利子

(56)参考文献

特表 2 0 1 3 - 5 2 1 3 1 1 (J P , A)
特表 2 0 1 7 - 5 0 6 2 1 7 (J P , A)
特表 2 0 1 6 - 5 3 1 1 5 0 (J P , A)
特表 2 0 1 7 - 5 3 3 9 1 2 (J P , A)
国際公開第 2 0 1 7 / 0 9 1 4 2 9 (W O , A 1)
国際公開第 2 0 1 6 / 1 7 3 6 0 5 (W O , A 1)
米国特許出願公開第 2 0 1 7 / 0 2 7 5 3 5 3 (U S , A 1)
国際公開第 2 0 1 7 / 1 6 5 4 6 4 (W O , A 1)
Adv Drug Deliv Rev., 2017, 114:206-221

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0
C 0 7 K 1 / 0 0 - 1 9 / 0 0
C 1 2 P 1 / 0 0 - 4 1 / 0 0
C 1 2 N 1 / 0 0 - 7 / 0 8
A 6 1 K 3 9 / 0 0 - 3 9 / 4 4
A 6 1 K 3 8 / 0 0 - 3 8 / 5 8
A 6 1 K 4 5 / 0 0 - 4 5 / 0 8
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)