

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成25年6月20日 (2013.6.20)

【公表番号】特表2012-525149(P2012-525149A)

【公表日】平成24年10月22日 (2012.10.22)

【年通号数】公開・登録公報2012-043

【出願番号】特願2012-508610(P2012-508610)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 16/00 (2006.01)

C 0 7 K 16/22 (2006.01)

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

C 0 7 K 16/28 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 16/00

C 0 7 K 16/22

C 0 7 K 16/46

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 1 0 1

C 1 2 P 21/08

C 0 7 K 16/28

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 39/395 V

【手続補正書】

【提出日】平成25年4月26日 (2013.4.26)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【 図 4 】

CH1

IGHG1	ヒト	1	ASTKGPSVFPPLAPSS	STS	GGTAALGCLVKDYFPEPVT	TSWN	GALTS	GVHTFP	PAVLQSS
IGHG2	ヒト	1	ASTKGPSVFPPLAPCS	SR	STSESTAALGCLVKDYFPEPVT	TSWN	GALTS	GVHTFP	PAVLQSS
IGHG3	ヒト	1	ASTKGPSVFPPLAPCS	SR	STSGTAALGCLVKDYFPEPVT	TSWN	GALTS	GVHTFP	PAVLQSS
IGHG4	ヒト	1	ASTKGPSVFPPLAPCS	SR	STSESTAALGCLVKDYFPEPVT	TSWN	GALTS	GVHTFP	PAVLQSS

ヒンジ

IGHG1	ヒト	61	GLYSLSSVTVTPSSSL	GTQTY	ICNV	NH	KPSNT	KVDK	KVE
IGHG2	ヒト	61	GLYSLSSVTVTPSSNE	GTQTY	TNCV	DH	KPSNT	KVDK	TVER
IGHG3	ヒト	61	GLYSLSSVTVTPSSSL	GTQTY	TNCV	NH	KPSNT	KVDK	RVE
IGHG4	ヒト	61	GLYSLSSVTVTPSSSL	GTQTY	TNCV	DH	KPSNT	KVDK	RVES

CH2

IGHG1	ヒト	100	-----	-----	PKSC	DK	TH	TC	PPCP	AP	EL	LG	GPS	VFL	FP	PK	PKDT					
IGHG2	ヒト	101	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----					
IGHG3	ヒト	121	DT	PP	PC	PR	CP	EP	KSC	D	TP	PC	PR	CP	AP	EL	LG	GPS	VFL	FP	PK	PKDT
IGHG4	ヒト	101	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

IGHG1	ヒト	134	LMISRTPEVTCVVVDV	SH	ED	PE	V	KFN	WY	VD	G	VE	VH	NA	K	T	K	P	R	E	E	Q	Y	N	S	T	Y	R	V	S	V	L	T	V	L	H	
IGHG2	ヒト	130	LMISRTPEVTCVVVDV	SH	ED	PE	V	QFN	WY	VD	G	VE	VH	NA	K	T	K	P	R	E	E	Q	F	N	S	T	F	R	V	S	V	L	T	V	H		
IGHG3	ヒト	181	LMISRTPEVTCVVVDV	SH	ED	PE	V	QFN	WY	VD	G	VE	VH	NA	K	T	K	P	R	E	E	Q	Y	N	S	T	F	R	V	S	V	L	T	V	L	H	
IGHG4	ヒト	131	LMISRTPEVTCVVVDV	S	Q	ED	PE	V	QFN	WY	VD	G	VE	VH	NA	K	T	K	P	R	E	E	Q	F	N	S	T	Y	R	V	S	V	L	T	V	L	H

CH3

IGHG1	ヒト	194	QDWLNGKEYKCKVSNK	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	S	R	D	E	L	T	K	N	Q	V	S	L	T	C	L	V	K
IGHG2	ヒト	190	QDWLNGKEYKCKVSNK	G	L	P	A	P	I	E	K	T	I	S	K	T	K	G	Q	P	R	E	P	Q	V	Y	T	L	P	P	S	R	E	E	M	T	K	N	Q	V	S	L	T	C	L	V	K
IGHG3	ヒト	241	QDWLNGKEYKCKVSNK	A	L	P	A	P	I	E	K	T	I	S	K	T	K	G	Q	P	R	E	P	Q	V	Y	T	L	P	P	S	R	E	E	M	T	K	N	Q	V	S	L	T	C	L	V	K
IGHG4	ヒト	191	QDWLNGKEYKCKVSNK	G	L	P	S	S	I	E	K	T	I	S	K	A	K	G	Q	P	R	E	P	Q	V	Y	T	L	P	P	S	Q	E	E	M	T	K	N	Q	V	S	L	T	C	L	V	K

IGHG1	ヒト	254	GFYP	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
IGHG2	ヒト	250	GFYP	S	D	I	A	V	E	W	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	T	P	P	M	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
IGHG3	ヒト	301	GFYP	S	D	I	A	V	E	W	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	N	T	T	P	P	M	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
IGHG4	ヒト	251	GFYP	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	R	L	T	V	D	K	S	R	W	Q	E	G	N	V	F	S	C	S	V	M	H	E

IGHG1	ヒト	314	ALHNHYTQKSLSLSPGK	SEQ ID NO: 33
IGHG2	ヒト	310	ALHNHYTQKSLSLSPGK	SEQ ID NO: 34
IGHG3	ヒト	361	ALHNHYTQKSLSLSPGK	SEQ ID NO: 35
IGHG4	ヒト	311	ALHNHYTQKSLSLSPGK	SEQ ID NO: 36

【 手続補正 2 】

【 補正対象書類名 】 明細書

【 補正対象項目名 】 配列表

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 配列表 】

2012525149000001.app

【手続補正 3】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

第1および第2の免疫グロブリンCH3ドメイン含有ポリペプチドを含む二重特異性抗体であって、二重特異性抗体が、

(a) 第1の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:33の位置253および292に対応する位置にあるアミノ酸が、グルタミン酸またはアスパラギン酸で置換され、かつ第2の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:33の位置240および282に対応する位置にあるアミノ酸が、リジンで置換された、ヒトIgG1；

(b) 第1の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:34の位置249および288に対応する位置にあるアミノ酸が、グルタミン酸またはアスパラギン酸で置換され、かつ第2の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:34の位置236および278に対応する位置にあるアミノ酸が、リジンで置換された、ヒトIgG2；

(c) 第1の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:35の位置300および339に対応する位置にあるアミノ酸が、グルタミン酸またはアスパラギン酸で置換され、かつ第2の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:35の位置287および329に対応する位置にあるアミノ酸が、リジンで置換された、ヒトIgG3；ならびに

(d) 第1の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:36の位置250および289に対応する位置にあるアミノ酸が、グルタミン酸またはアスパラギン酸で置換され、かつ第2の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:36の位置237および279に対応する位置にあるアミノ酸が、リジンで置換された、ヒトIgG4
からなる群より選択され、

第1および第2の免疫グロブリンCH3ドメイン含有ポリペプチドが優先的にヘテロ二量体として互いに集合し、二重特異性抗体が、アミノ酸配列が同一である第1の免疫グロブリン軽鎖ポリペプチドおよび第2の免疫グロブリン軽鎖ポリペプチドを含む、前記二重特異性抗体。

【請求項 2】

(a) SEQ ID NO:34の位置249および288に対応するアミノ酸置換を含む免疫グロブリンCH3ドメインを含む第1のIgG2重鎖ポリペプチド；

(b) SEQ ID NO:34の位置236および278に対応するアミノ酸置換を含む免疫グロブリンCH3ドメインを含む第2のIgG2重鎖ポリペプチド
を含む二重特異性抗体であって、

第1および第2のIgG2重鎖ポリペプチドが優先的にヘテロ二量体として互いに集合し、かつ二重特異性抗体が、アミノ酸配列が同一である第1の免疫グロブリン軽鎖ポリペプチドおよび第2の免疫グロブリン軽鎖ポリペプチドを含む、前記二重特異性抗体。

【請求項 3】

第1のIgG2重鎖ポリペプチドのSEQ ID NO:34の位置249および288に対応するアミノ酸置換がグルタミン酸またはアスパラギン酸による置換であり、かつ第2のIgG2重鎖ポリペプチドのSEQ ID NO:34の位置236および278に対応するアミノ酸置換がリジンによる置換である、請求項2記載の二重特異性抗体。

【請求項 4】

第1のIgG2重鎖ポリペプチドのSEQ ID NO:34の位置249および288に対応するアミノ酸置換がグルタミン酸による置換であり、かつ第2のIgG2重鎖ポリペプチドのSEQ ID NO:34の位置236および278に対応するアミノ酸置換がリジンによる置換である、請求項2記載の二重特異性抗体。

【請求項 5】

(a) SEQ ID NO:5のCH3ドメインを含む第1のポリペプチド；

(b) SEQ ID NO:9のCH3ドメインを含む第2のポリペプチド

を含む二重特異性抗体であって、

第1および第2のポリペプチドが優先的にヘテロ二量体として互いに集合し、かつ二重特異性抗体が、アミノ酸配列が同一である第1の免疫グロブリン軽鎖ポリペプチドおよび第2の免疫グロブリン軽鎖ポリペプチドを含む、前記二重特異性抗体。

【請求項 6】

以下からなる群より選択される抗原に特異的に結合する、請求項1～5のいずれか一項記載の二重特異性抗体：

DLL4、VEGF、VEGFR2、Notch1、Notch2、Notch3、Notch4、Notch(pan)、JAG1、JAG2、DLL(pan)、JAG(pan)、EGFR、ERBB2、ERBB3、ERBB(pan)、c-Met、IGF-1R、PDGFR、Patched、Hedgehogファミリーポリペプチド、Hedgehog(pan)、WNTファミリーポリペプチド、WNT(pan)、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、FZD(pan)、LRP5、LRP6、CD20、IL-6、TNF、IL-23、IL-17、CD80、CD86、CD3、CEA、Muc16、PSMA、PSCA、CD44、c-Kit、DDR1、DDR2、RSP01、RSP02、RSP03、RSP04、RSP0(pan)、BMPファミリーポリペプチド、BMP(pan)、BMPR1a、BMPR1b、およびそれらの組み合わせ。

【請求項 7】

DLL4に特異的に結合する、請求項6記載の二重特異性抗体。

【請求項 8】

VEGFに特異的に結合する、請求項6記載の二重特異性抗体。

【請求項 9】

DLL4およびVEGFに特異的に結合する、請求項6記載の二重特異性抗体。

【請求項 10】

第1の免疫グロブリン抗原結合部位が、21M18抗体と同じ特異性でDLL4に特異的に結合する、請求項1～5のいずれか一項記載の二重特異性抗体。

【請求項 11】

第2の免疫グロブリン抗原結合部位が、VEGFに特異的に結合する、請求項10記載の二重特異性抗体。

【請求項 12】

モノクローナル抗体である、請求項1～11のいずれか一項記載の二重特異性抗体。

【請求項 13】

ヒト化抗体である、請求項1～12のいずれか一項記載の二重特異性抗体。

【請求項 14】

ヒト抗体である、請求項1～12のいずれか一項記載の二重特異性抗体。

【請求項 15】

細胞毒または放射性同位体をさらに含む、請求項1～14のいずれか一項記載の二重特異性抗体。

【請求項 16】

第1および第2の免疫グロブリンCH3ドメイン含有ポリペプチドを含むヘテロ多量体ポリペプチドであって、第1のポリペプチドが免疫グロブリン抗原結合部位を介して標的に結合し、かつ第2のポリペプチドが免疫グロブリン融合タンパク質であり、免疫グロブリンCH3ドメイン含有ポリペプチドが、

(a) 第1の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:33の位置253および292に対応する位置にあるアミノ酸が、グルタミン酸またはアスパラギン酸で置換され、かつ第2の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:33の位置240および282に対応する位置にあるアミノ酸が、リジンで置換された、ヒトIgG1；

(b) 第1の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:34の位置249および288に対応する位置にあるアミノ酸が、グルタミン酸またはアスパラギン酸で置換され、かつ第2の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:34の位置236および278に対応する位置にあるアミノ

酸が、リジンで置換された、ヒトIgG2；

(c) 第1の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:35の位置300および339に対応する位置にあるアミノ酸が、グルタミン酸またはアスパラギン酸で置換され、かつ第2の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:35の位置287および329に対応する位置にあるアミノ酸が、リジンで置換された、ヒトIgG3；ならびに

(d) 第1の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:36の位置250および289に対応する位置にあるアミノ酸が、グルタミン酸またはアスパラギン酸で置換され、かつ第2の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:36の位置237および279に対応する位置にあるアミノ酸が、リジンで置換された、ヒトIgG4

からなる群より選択される、前記ヘテロ多量体ポリペプチド。

【請求項 17】

第1および第2のポリペプチドが、優先的にヘテロ二量体として互いに集合する、請求項16記載のヘテロ多量体ポリペプチド。

【請求項 18】

免疫グロブリン融合タンパク質がイムノアドヘシンである、請求項16または17記載のヘテロ多量体ポリペプチド。

【請求項 19】

以下からなる群より選択される抗原に特異的に結合する、請求項16～18のいずれか一項記載のヘテロ多量体ポリペプチド：

DLL4、VEGF、VEGFR2、Notch1、Notch2、Notch3、Notch4、Notch(pan)、JAG1、JAG2、DLL(pan)、JAG(pan)、EGFR、ERBB2、ERBB3、ERBB(pan)、c-Met、IGF-1R、PDGFR、Patched、Hedgehogファミリーポリペプチド、Hedgehog(pan)、WNTファミリーポリペプチド、WNT(pan)、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、FZD(pan)、LRP5、LRP6、CD20、IL-6、TNF、IL-23、IL-17、CD80、CD86、CD3、CEA、Muc16、PSMA、PSCA、CD44、c-Kit、DDR1、DDR2、RSP01、RSP02、RSP03、RSP04、RSP0(pan)、BMPファミリーポリペプチド、BMP(pan)、BMPR1a、BMPR1b、およびそれらの組み合わせ。

【請求項 20】

以下を含む、VEGFに特異的に結合する抗体：

(a) GYTFTNYWMH (SEQ ID NO:20)を含む重鎖CDR1、SINPSNGGTSYNEKFKR (SEQ ID NO:21)を含む重鎖CDR2、およびHYDYSYAMDY (SEQ ID NO:22)を含む重鎖CDR3；ならびに

(b) QASQDISNYVN (SEQ ID NO:23)を含む軽鎖CDR1、DASNLTQ (SEQ ID NO:24)を含む軽鎖CDR2、およびQQYDDLPP (SEQ ID NO:25)を含む軽鎖CDR3、または、RASQGINNHLAW (SEQ ID NO:26)を含む軽鎖CDR1、AASNLS (SEQ ID NO:27)を含む軽鎖CDR2、およびQQYDNLPL (SEQ ID NO:28)を含む軽鎖CDR3。

【請求項 21】

SEQ ID NO:10の重鎖可変領域配列およびSEQ ID NO:29またはSEQ ID NO:30の軽鎖可変領域配列を含む、請求項20記載の抗体。

【請求項 22】

請求項1～15のいずれか一項記載の二重特異性抗体、請求項16～19のいずれか一項記載のヘテロ多量体ポリペプチド、または請求項20もしくは21記載の抗体をコードする、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 23】

請求項22記載のポリヌクレオチドに高ストリンジェンシー条件下でハイブリダイズする核酸配列を含む、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 24】

請求項22または23記載のポリヌクレオチドを含む、宿主細胞。

【請求項 25】

請求項1～15のいずれか一項記載の二重特異性抗体、請求項16～19のいずれか一項記載のヘテロ多量体ポリペプチド、または請求項20もしくは21記載の抗体を発現する、宿主細胞。

【請求項 26】

請求項1～15のいずれか一項記載の二重特異性抗体、請求項16～19のいずれか一項記載のヘテロ多量体ポリペプチド、または請求項20もしくは21記載の抗体、および薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物。

【請求項 27】

癌の治療のための医薬の製造における、請求項1～15のいずれか一項記載の二重特異性抗体、請求項16～19のいずれか一項記載のヘテロ多量体ポリペプチド、または請求項20もしくは21記載の抗体の使用。

【請求項 28】

前記治療が、少なくとも1つの追加の治療剤を含む、請求項27記載の、二重特異性抗体、ヘテロ多量体ポリペプチド、または抗体の使用。

【請求項 29】

少なくとも1つの追加の治療剤が化学療法剤である、請求項28記載の、二重特異性抗体、ヘテロ多量体ポリペプチド、または抗体の使用。

【請求項 30】

各ポリペプチドのCH3ドメイン内の少なくとも1つのアミノ酸を置換する工程を含む、第1および第2の免疫グロブリンCH3ドメイン含有重鎖ポリペプチドを含む二重特異性抗体を調製する方法であって、

(a) 第1の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:33の位置253および292に対応する位置にあるアミノ酸が、グルタミン酸またはアスパラギン酸で置換され、かつ第2の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:33の位置240および282に対応する位置にあるアミノ酸が、リジンで置換され、

(b) 第1の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:34の位置249および288に対応する位置にあるアミノ酸が、グルタミン酸またはアスパラギン酸で置換され、かつ第2の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:34の位置236および278に対応する位置にあるアミノ酸が、リジンで置換され、

(c) 第1の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:35の位置300および339に対応する位置にあるアミノ酸が、グルタミン酸またはアスパラギン酸で置換され、かつ第2の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:35の位置287および329に対応する位置にあるアミノ酸が、リジンで置換され、かつ

(d) 第1の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:36の位置250および289に対応する位置にあるアミノ酸が、グルタミン酸またはアスパラギン酸で置換され、かつ第2の免疫グロブリンポリペプチドのSEQ ID NO:36の位置237および279に対応する位置にあるアミノ酸が、リジンで置換され、

第1および第2の重鎖ポリペプチドがホモ二量体の集合と比較して優先的にヘテロ二量体として互いに集合し、かつ二重特異性抗体が、アミノ酸配列が同一である第1の免疫グロブリン軽鎖ポリペプチドおよび第2の免疫グロブリン軽鎖ポリペプチドを含む、前記方法

。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0053

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0053】

本発明はまた、本発明のヘテロ多量体ポリペプチドまたは組成物を、これを必要とする患者に投与する工程を含む、障害を治療する方法を提供する。1つの態様において、障害は癌である。別の態様において、前記方法は、第2の治療用化合物を投与する工程をさらに含む。1つの態様において、第2の治療用化合物は、患者におけるヘテロ多量体ポリペプチドの投与によって引き起こされる副作用を治療するために投与される。別の態様におい

て、第2の治療用化合物は抗癌剤である。さらに別の態様において、ヘテロ多量体ポリペプチドおよび第2の治療用化合物は同時にまたは連続して投与される。

[本発明1001]

2つのヒト免疫グロブリンCH3ドメイン含有ポリペプチドを含むヘテロ多量体ポリペプチドを調製する方法であって、以下の工程を含む方法：

ポリペプチドのうちの1つのCH3ドメイン内の、ヒトIgG2の位置236、245、249、278、286、および288からなる群より選択される位置に対応する位置にある少なくとも1つのアミノ酸を別のアミノ酸によって置換し、それによって、ヘテロ多量体形成を促進する工程。

[本発明1002]

2つのヒト免疫グロブリンCH3ドメイン含有ポリペプチドを含むヘテロ多量体ポリペプチドを調製する方法であって、以下の工程を含む方法：

各ポリペプチドのCH3ドメインの中にある少なくとも1つの荷電アミノ酸残基を反対の電荷のアミノ酸によって置換する工程。

[本発明1003]

置換アミノ酸の対がヘテロ多量体ポリペプチドにおいてイオン対を形成する、本発明1002の方法。

[本発明1004]

2つのヒト免疫グロブリンCH3ドメイン含有ポリペプチドを含むヘテロ多量体ポリペプチドを調製する方法であって、以下の工程を含む方法：

ポリペプチドのうちの1つのCH3ドメインの中にある少なくとも1つの親水性アミノ酸残基を別のアミノ酸によって置換する工程。

[本発明1005]

親水性アミノ酸残基が疎水性残基によって置換される、本発明1004の方法。

[本発明1006]

ヒドロキシル側鎖を有するアミノ酸が、ヒドロキシル側鎖を有さないアミノ酸によって置換される、本発明1004の方法。

[本発明1007]

ポリペプチドのうちの1つのCH3ドメイン内にある少なくとも1つの親水性アミノ酸残基を、別のアミノ酸を有するポリペプチドのうちの1つにある、2つのポリペプチドの境界面にある別のアミノ酸によって置換する工程をさらに含む、本発明1001または1002の方法。

[本発明1008]

置換アミノ酸が2つのポリペプチドの境界面にある別のアミノ酸と相互作用する、本発明1001～1007のいずれかの方法。

[本発明1009]

置換されるアミノ酸が表1に列挙されているか、または表1に列挙したアミノ酸に対応する位置にあるアミノ酸である、本発明1001～1008のいずれかの方法。

[本発明1010]

両ポリペプチドのヒト免疫グロブリンCH3ドメインが、IgG CH3ドメイン、IgA CH3ドメイン、およびIgD CH3ドメインからなる群より選択される、本発明1001～1009のいずれかの方法。

[本発明1011]

免疫グロブリンCH3ドメインがIgG2 CH3ドメインである、本発明1010の方法。

[本発明1012]

第1のCH3ドメイン含有ポリペプチドが、第1の免疫グロブリン軽鎖ポリペプチドに特異的に結合する第1の免疫グロブリン重鎖ポリペプチドを含み、第2のCH3ドメイン含有ポリペプチドが、第2の免疫グロブリン軽鎖ポリペプチドに特異的に結合する第2の免疫グロブリン重鎖ポリペプチドを含む、本発明1001～1011のいずれかの方法。

[本発明1013]

第1の免疫グロブリン軽鎖ポリペプチドおよび第2の免疫グロブリン軽鎖ポリペプチドのアミノ酸配列が同一である、本発明1012の方法。

[本発明1014]

免疫グロブリン軽鎖ポリペプチドが免疫グロブリン重鎖ポリペプチドと連結している、
本発明1012の方法。

[本発明1015]

1つのCH3ドメインの中の、ヒトIgG2の位置249および位置288に対応する位置にあるアミノ酸を置換する工程を含む、本発明1001～1014のいずれかの方法。

[本発明1016]

位置249および288のアミノ酸がグルタミン酸と交換される、本発明1015の方法。

[本発明1017]

位置249および288のアミノ酸がアスパラギン酸と交換される、本発明1015の方法。

[本発明1018]

1つのCH3ドメインの中の、ヒトIgG2の位置249、位置286、および位置288に対応する位置にあるアミノ酸を置換する工程を含む、本発明1001～1014のいずれかの方法。

[本発明1019]

位置249および288のアミノ酸がグルタミン酸と交換され、位置286のアミノ酸がフェニルアラニンと交換される、本発明1018の方法。

[本発明1020]

第2のCH3ドメインの中の、ヒトIgG2の位置236および位置278に対応する位置にあるアミノ酸を置換する工程をさらに含む、本発明1013～1019のいずれかの方法。

[本発明1021]

位置236のアミノ酸がリジンと交換され、位置278のアミノ酸がリジンと交換される、本発明1020の方法。

[本発明1022]

1つのCH3ドメインの中の、ヒトIgG2の位置236および位置278に対応する位置にあるアミノ酸を置換する工程を含む、本発明1001～1014のいずれかの方法。

[本発明1023]

位置236のアミノ酸がリジンと交換され、位置278のアミノ酸がリジンと交換される、本発明1022の方法。

[本発明1024]

ヘテロ多量体ポリペプチドが一価である、本発明1001～1023のいずれかの方法。

[本発明1025]

一価ヘテロ多量体ポリペプチドが検出可能な標識またはエピトープを含む、本発明1024の方法。

[本発明1026]

ヘテロ多量体ポリペプチドが二価である、本発明1001～1023のいずれかの方法。

[本発明1027]

第1のポリペプチドがその免疫グロブリン抗原結合ドメインを介して標的分子に結合し、第2のポリペプチドがイムノアドヘシンである、本発明1001～1023または1026のいずれかの方法。

[本発明1028]

第1のポリペプチドおよび第2のポリペプチドがホモ二量体の集合と比較して優先的にヘテロ二量体として互いに集合する、本発明1001～1027のいずれかの方法。

[本発明1029]

第1のポリペプチドおよび第2のポリペプチドが集合して二重特異性抗体を形成する、本発明1001～1023および1026～1028のいずれかの方法。

[本発明1030]

二重特異性抗体が2種類の抗原に特異的に結合する、本発明1029の方法。

[本発明1031]

二重特異性抗体が、同じ抗原上にある2種類のエピトープに結合する、本発明1029の方法。

[本発明1032]

ヘテロ多量体ポリペプチドが、以下からなる群より選択される抗原に特異的に結合する、本発明1001～1031のいずれかの方法：

DLL4、VEGF、VEGFR2、Notch1、Notch2、Notch3、Notch4、Notch(pan)、JAG1、JAG2、DLL(pan)、JAG(pan)、EGFR、ERBB2、ERBB3、ERBB(pan)、c-Met、IGF-1R、PDGFR、Patched、Hedgehogファミリーポリペプチド、Hedgehog(pan)、WNTファミリーポリペプチド、WNT(pan)、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、FZD(pan)、LRP5、LRP6、CD20、IL-6、TNF、IL-23、IL-17、CD80、CD86、CD3、CEA、Muc16、PSMA、PSCA、CD44、c-Kit、DDR1、DDR2、RSP01、RSP02、RSP03、RSP04、RSP0(pan)、BMPファミリーポリペプチド、BMP(pan)、BMPR1a、BMPR1b、およびそれらの組み合わせ。

[本発明1033]

ヘテロ多量体ポリペプチドが、DLL4およびVEGFに特異的に結合する二重特異性抗体である、本発明1030の方法。

[本発明1034]

ヘテロ多量体ポリペプチドがVEGFに特異的に結合し、SEQ ID NO:17またはSEQ ID NO:18を含む、本発明1032の方法。

[本発明1035]

ヘテロ多量体ポリペプチドがDLL4に特異的に結合し、SEQ ID NO:19を含む、本発明1032の方法。

[本発明1036]

軽鎖ポリペプチドのアミノ酸配列が同一である、本発明1033の方法。

[本発明1037]

軽鎖ポリペプチドが重鎖ポリペプチドと連結している、本発明1033の方法。

[本発明1038]

1つのCH3ドメインの中の、ヒトIgG2の位置249および位置288に対応する位置にあるアミノ酸を置換する工程を含む、本発明1030～1033のいずれかの方法。

[本発明1039]

位置249および288のアミノ酸がグルタミン酸と交換される、本発明1038の方法。

[本発明1040]

位置249および288のアミノ酸がアスパラギン酸と交換される、本発明1038の方法。

[本発明1041]

第2のCH3ドメインの中の、ヒトIgG2の位置236および位置278に対応する位置にあるアミノ酸を置換する工程をさらに含む、本発明1033～1040のいずれかの方法。

[本発明1042]

位置236のアミノ酸がリジンと交換され、位置278のアミノ酸がリジンと交換される、本発明1041の方法。

[本発明1043]

1つのCH3ドメインの中の、ヒトIgG2の位置236および位置278に対応する位置にあるアミノ酸を置換する工程を含む、本発明1033～1042のいずれかの方法。

[本発明1044]

位置236のアミノ酸がリジンと交換され、位置278のアミノ酸がリジンと交換される、本発明1043の方法。

[本発明1045]

ヘテロ多量体ポリペプチドが、SEQ ID NO:11の重鎖配列およびSEQ ID NO:13またはSEQ ID NO:15の軽鎖配列を含むVEGF結合配列を含む、本発明1033の方法。

[本発明1046]

軽鎖が重鎖に連結している、本発明1045の方法。

[本発明1047]

ヘテロ多量体ポリペプチドが、SEQ ID NO:19を含むDLL4結合配列を含む、本発明1033の方法。

[本発明1048]

ヘテロ多量体ポリペプチドが、SEQ ID NO:11の重鎖配列およびSEQ ID NO:13またはSEQ ID NO:15の軽鎖配列;ならびにSEQ ID NO:19を含むDLL4結合配列を含む、本発明1045～1047のいずれかの方法。

[本発明1049]

以下を含む、VEGFに特異的に結合する抗体:

(a)

GYTFTNYWMH (SEQ ID NO:20)

を含む重鎖CDR1、

SINPSNGGTSYNEKFKR (SEQ ID NO:21)

を含む重鎖CDR2、および

HYYDNSYAMDY (SEQ ID NO:22)

を含む重鎖CDR3;ならびに/または

(b)

QASQDISNYVN (SEQ ID NO:23)

を含む軽鎖CDR1、DASNLQT (SEQ ID NO:24)を含む軽鎖CDR2、およびQQYDDLPP (SEQ ID NO:25)を含む軽鎖CDR3。

[本発明1050]

以下を含む、VEGFに特異的に結合する抗体:

(a)

GYTFTNYWMH (SEQ ID NO:20)

を含む重鎖CDR1、

SINPSNGGTSYNEKFKR (SEQ ID NO:21)

を含む重鎖CDR2、および

HYYDNSYAMDY (SEQ ID NO:22)

を含む重鎖CDR3;ならびに/または

(b)

RASQGINNHLAW (SEQ ID NO:26)

を含む軽鎖CDR1、AASNLHS (SEQ ID NO:27)を含む軽鎖CDR2、およびQQYDNLPL (SEQ ID NO:28)を含む軽鎖CDR3。

[本発明1051]

ヒトVEGFのアンタゴニストである、本発明1049または1050の抗体。

[本発明1052]

抗体断片である、本発明1049または1050の抗体。

[本発明1053]

モノクローナル抗体である、本発明1049または1050の抗体。

[本発明1054]

ヒト化抗体である、本発明1049または1050の抗体。

[本発明1055]

腫瘍成長を阻害する、本発明1049または1050の抗体。

[本発明1056]

約100nM以下の K_D でヒトVEGFに結合する、本発明1049～1056のいずれかの抗体。

[本発明1057]

本発明1001～1048のいずれかの方法によって調製された、ヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1058]

本発明1001～1048のいずれかの方法によって調製されたヘテロ多量体ポリペプチドの特徴を有する、ヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1059]

一価である、本発明1057または本発明1058のヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1060]

二価である、本発明1057または本発明1058のヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1061]

二重特異性抗体である、本発明1057、1058、または1060のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1062]

CH3ドメインが、ヒトIgG2の位置249および288に対応する位置にグルタミン酸を含有する、免疫グロブリンCH3ドメインを含むポリペプチド。

[本発明1063]

CH3ドメインが、ヒトIgG2の位置249および288に対応する位置にグルタミン酸、ならびにヒトIgG2の位置286に対応する位置にフェニルアラニンを含有する、免疫グロブリンCH3ドメインを含むポリペプチド。

[本発明1064]

CH3ドメインが、ヒトIgG2の位置236および278に対応する位置にリジンを含有する、免疫グロブリンCH3ドメインを含むポリペプチド。

[本発明1065]

免疫グロブリンCH3ドメインがIgG CH3ドメインである、本発明1062～1064のいずれかのポリペプチド。

[本発明1066]

(i)本発明1062または1063のポリペプチドおよび(ii)本発明1064のポリペプチドを両方とも含む、ヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1067]

第1のCH3ドメイン含有ポリペプチドおよび/または第2のCH3ドメイン含有ポリペプチドが免疫グロブリンCH2ドメインをさらに含む、本発明1057～1061または1066のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1068]

SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:4、またはSEQ ID NO:5のアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

[本発明1069]

SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:6、またはSEQ ID NO:7のアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

[本発明1070]

SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:8、またはSEQ ID NO:9のアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

[本発明1071]

SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、およびSEQ ID NO:7からなる群より選択される第1のアミノ酸配列、ならびにSEQ ID NO:3、SEQ ID NO:8、およびSEQ ID NO:9からなる群より選択される第2のアミノ酸配列を両方とも含む、ヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1072]

本発明1062～1065または1068～1070のいずれかのポリペプチドを含む、ヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1073]

ヘテロ二量体である、本発明1057～1061、1066、1067、1071、または1072のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1074]

二重特異性抗体である、本発明1066、1067、1071、または1072のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1075]

一価抗体である、本発明1066、1067、1071、または1072のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1076]

以下からなる群より選択される抗原に特異的に結合する、本発明1057～1061、1066、1067、または1071～1075のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド：

DLL4、VEGF、VEGFR2、Notch1、Notch2、Notch3、Notch4、Notch(pan)、JAG1、JAG2、DLL(pan)、JAG(pan)、EGFR、ERBB2、ERBB3、ERBB(pan)、c-Met、IGF-1R、PDGFR、Patched、Hedgehogファミリーポリペプチド、Hedgehog(pan)、WNTファミリーポリペプチド、WNT(pan)、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、FZD(pan)、LRP5、LRP6、CD20、IL-6、TNF、IL-23、IL-17、CD80、CD86、CD3、CEA、Muc16、PSMA、PSCA、CD44、c-Kit、DDR1、DDR2、RSP01、RSP02、RSP03、RSP04、RSP0(pan)、BMPファミリーポリペプチド、BMP(pan)、BMPR1a、BMPR1b、およびそれらの組み合わせ。

[本発明1077]

SEQ ID NO:11の重鎖配列およびSEQ ID NO:13またはSEQ ID NO:15の軽鎖配列を含むVEGF結合配列を含む、本発明1076のヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1078]

SEQ ID NO:11の重鎖配列およびSEQ ID NO:13の軽鎖配列を含むVEGF結合配列を含む、本発明1076のヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1079]

SEQ ID NO:11の重鎖配列およびSEQ ID NO:15の軽鎖配列を含むVEGF結合配列を含む、本発明1076のヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1080]

SEQ ID NO:19を含むDLL4結合配列を含む、本発明1076のヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1081]

DLL4およびVEGFに結合する二重特異性抗体である、本発明1076のヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1082]

軽鎖ポリペプチドのアミノ酸配列が同一である、本発明1077～1081のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1083]

軽鎖ポリペプチドが重鎖ポリペプチドと連結している、本発明1077～1082のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1084]

1つのCH3ドメインの中の、ヒトIgG2の位置249および位置288に対応する位置にあるアミノ酸を置換する工程を含む、本発明1077～1083のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1085]

位置249および288のアミノ酸がグルタミン酸と交換される、本発明1084のヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1086]

位置249および288のアミノ酸がアスパラギン酸と交換される、本発明1084のヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1087]

第2のCH3ドメインの中の、ヒトIgG2の位置236および位置278に対応する位置にあるアミノ酸を置換する工程をさらに含む、本発明1077～1084のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1088]

位置236のアミノ酸がリジンと交換され、位置278のアミノ酸がリジンと交換される、本発明1087のヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1089]

1つのCH3ドメインの中の、ヒトIgG2の位置236および位置278に対応する位置にあるアミノ酸を置換する工程を含む、本発明1077～1088のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1090]

位置236のアミノ酸がリジンと交換され、位置278のアミノ酸がリジンと交換される、本発明1089のヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1091]

SEQ ID NO:17~19からなる群より選択される配列を含む、本発明1081~1083のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1092]

SEQ ID NO:11の重鎖配列およびSEQ ID NO:13またはSEQ ID NO:15の軽鎖配列を含むVEGF結合配列;ならびにSEQ ID NO:19を含むDLL4結合配列を含む、本発明1081~1083のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1093]

SEQ ID NO:11の重鎖配列およびSEQ ID NO:13の軽鎖配列を含むVEGF結合配列;ならびにSEQ ID NO:19を含むDLL4結合配列を含む、本発明1081~1083のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1094]

SEQ ID NO:11の重鎖配列およびSEQ ID NO:15の軽鎖配列を含むVEGF結合配列;ならびにSEQ ID NO:19を含むDLL4結合配列を含む、本発明1081~1083のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1095]

第1のCH3ドメイン含有ポリペプチドおよび/または第2のCH3ドメイン含有ポリペプチドが単鎖Fvをさらに含む、本発明1057~1061、1066、1067、または1071~1094のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1096]

ポリペプチドが細胞毒または放射性同位体をさらに含む、本発明1057~1061、1066、1067、または1071~1095のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド。

[本発明1097]

本発明1049~1096のいずれかの抗体またはポリペプチドをコードする、単離されたポリヌクレオチド。

[本発明1098]

本発明1098のポリヌクレオチドに高ストリンジェンシー条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドを含む、単離されたポリヌクレオチド。

[本発明1099]

本発明1097または1098の核酸を含む、宿主細胞。

[本発明1100]

ポリペプチドを発現させる条件下で本発明1099の宿主細胞を培養する工程を含む、ヘテロ多量体ポリペプチドを作製する方法。

[本発明1101]

本発明1050~1054、1059、1060、または1064~1081のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチドおよび薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物。

[本発明1102]

本発明1057~1061、1066、1067、もしくは1071~1095のいずれかのヘテロ多量体ポリペプチド、または本発明1101の組成物を、これを必要とする患者に投与する工程を含む、障害を治療する方法。

[本発明1103]

障害が癌である、本発明1102の方法。

[本発明1104]

第2の治療用化合物を投与する工程をさらに含む、本発明1102または1103の方法。

[本発明1105]

患者におけるヘテロ多量体ポリペプチドの投与によって引き起こされる副作用を治療するために、第2の治療用化合物が用いられる、本発明1104の方法。

[本発明1106]

第2の治療用化合物が抗癌剤である、本発明1104または1105の方法。

[本発明1107]

ヘテロ多量体ポリペプチドおよび第2の治療用化合物が同時にまたは連続して投与される、本発明1104～1106のいずれかの方法。

[本発明1108]

SEQ ID NO:10、29、および30からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

[本発明1109]

抗体である、本発明1108の単離されたポリペプチド配列。

[本発明1110]

SEQ ID NO:12、14、および16からなる群より選択されるポリヌクレオチドに高ストリンジェンシー条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドを含む、単離されたポリヌクレオチド。