(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2021-510740
(P2021-510740A)
(43)公表日　令和3年4月30日(2021.4.30)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 39/395	***(2006.01)***	A61K	39/395	N	4C085
C07K 16/00	***(2006.01)***	C07K	16/00	ZNA	4H045
A61P 43/00	***(2006.01)***	A61P	43/00	121	
C12N 15/13	*(2006.01)*	C12N	15/13		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 137 頁）

(21)出願番号　特願2020-560585 (P2020-560585)
(86)(22)出願日　平成31年1月24日 (2019.1.24)
(85)翻訳文提出日　令和2年9月14日 (2020.9.14)
(86)国際出願番号　PCT/EP2019/051809
(87)国際公開番号　WO2019/145455
(87)国際公開日　令和1年8月1日 (2019.8.1)
(31)優先権主張番号　PA201800041
(32)優先日　平成30年1月24日 (2018.1.24)
(33)優先権主張国・地域又は機関
デンマーク(DK)

(71)出願人　518192172
ゲンマブ　ビー．ブイ．
オランダ王国　ユトレヒト　３５８４　シーティー　ウプサララーン　１５
(74)代理人　100102978
弁理士　清水　初志
(74)代理人　100102118
弁理士　春名　雅夫
(74)代理人　100160923
弁理士　山口　裕孝
(74)代理人　100119507
弁理士　刑部　俊
(74)代理人　100142929
弁理士　井上　隆一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ポリペプチド変種およびそれらの用途

(57)【要約】
本発明は、2種以上のFc領域含有抗原結合ポリペプチド、例えば抗体を含む併用治療に関し、該ポリペプチドは、それぞれの対応する標的抗原に結合したときに、ポリペプチド間のヘテロオリゴマー化がホモオリゴマー化よりも著しく有利になるようにポリペプチドが改変されている。本発明は、本発明の併用治療における使用に適したポリペプチド、組成物、キット、およびデバイスにも関する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
その必要がある対象に、ヒトIgGの第1Fc領域と第1抗原に結合することができる第1抗原結合領域とを含む第1ポリペプチドを、ヒトIgGの第2Fc領域と第2抗原に結合することができる第2抗原結合領域とを含む第2ポリペプチドと組み合わせて投与する工程を含む、疾患または障害を処置する方法であって、
(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KもしくはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
かつ/または
(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436Q、もしくはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NもしくはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KもしくはY436R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、もしくはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NもしくはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、
かつ/または
(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、
ここでアミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応する、方法。
【請求項２】
(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KもしくはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
かつ/または
(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、

またはその逆であり、
かつ/または
(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である、
請求項1記載の方法。
【請求項３】
(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KもしくはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
かつ
(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436Q、もしくはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NもしくはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KもしくはY436R変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、もしくはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NもしくはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆である、
請求項1記載の方法。
【請求項４】
(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KもしくはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
かつ
(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である、
請求項1記載の方法。
【請求項５】
(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y43

6Q、もしくはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NもしくはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KもしくはY436R変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、もしくはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NもしくはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、

かつ

(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である、

請求項1記載の方法。

【請求項６】

(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KもしくはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

かつ

(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436Q、もしくはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NもしくはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KもしくはY436R変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、もしくはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NもしくはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその

逆であり、
かつ
(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である、
請求項1記載の方法。
【請求項７】
第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドは、選択肢（c）において指定される変異を含まず、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異をさらに含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異をさらに含むか、またはその逆である、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項８】
(i) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、
または
(ii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
または
(iii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、
または
(iv) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、
または
(v) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、
または
(vi) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、
または
(vii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
または
(viii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、
または

(ix) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

または

(x) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xi) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xiii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xiv) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xv) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xvi）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xvii）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xviii）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xix）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xx）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xxi）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xxii）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である、

前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項９】

第1ポリペプチドがヒトIgG1中のE430、E345、S440、T437、もしくはK248に対応するアミノ酸位置の変異をさらに含み、かつ/または第2ポリペプチドがヒトIgG1中のE430、E345、S440、T437、もしくはK248に対応するアミノ酸位置の変異をさらに含むか、またはその

逆であり、
ただし、第1ポリペプチドまたは第2ポリペプチドがK439またはS440に対応するアミノ酸位置に変異を含む場合、該ポリペプチド中の該さらなる変異はS440に対応するアミノ酸位置にはないものとする、
前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項１０】
第1ポリペプチドは、E430G、E345K、E430S、E430F、E430T、E345Q、E345R、E345Y、S440W、およびS440Yからなる群より選択される1つまたは複数の変異を含み、かつ/または第2ポリペプチドは、E430G、E345K、E430S、E430F、E430T、E345Q、E345R、E345Y、S440W、およびS440Yからなる群より選択される1つまたは複数の変異を含み、
かつ/または
第1ポリペプチドはT437R変異およびK248E変異を含み、かつ/または第2ポリペプチドはT437R変異およびK248E変異を含む、
請求項9記載の方法。
【請求項１１】
第1ポリペプチドはE430GおよびE345Kからなる群より選択される一方または両方の変異を含み、かつ/または第2ポリペプチドはE430GおよびE345Kからなる群より選択される一方または両方の変異を含む、請求項10記載の方法。
【請求項１２】
第1ポリペプチドはE430Gを含み、かつ第2ポリペプチドはE430Gを含む、請求項11記載の方法。
【請求項１３】
前記さらなる改変以外は同一であるポリペプチドと比較してFc媒介性エフェクター機能などのエフェクター機能を誘導する能力が変化するように、第1ポリペプチドおよび/または第2ポリペプチドがさらに改変されている、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項１４】
前記さらなる改変以外は同一であるポリペプチドと比較して抗体依存性細胞媒介性細胞傷害を誘導する能力が変化するように、第1ポリペプチドおよび/または第2ポリペプチドがさらに改変されている、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項１５】
前記改変以外は同一であるポリペプチドと比較して補体依存性細胞傷害を誘導する能力が変化するように、第1ポリペプチドおよび/または第2ポリペプチドがさらに改変されている、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項１６】
第1ポリペプチドは完全長抗体などの抗体であり、かつ/または第2ポリペプチドは完全長抗体などの抗体である、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項１７】
第1ポリペプチドはIgG1抗体であり、かつ/または第2ポリペプチドはIgG1抗体である、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項１８】
第1抗体は、ヒト、ヒト化、またはキメラであり、かつ/または第2抗体は、ヒト、ヒト化、またはキメラである、請求項16または請求項17記載の方法。
【請求項１９】
第1抗体は二重特異性であり、かつ/または第2ポリペプチドは二重特異性である、請求項16～18のいずれか一項記載の方法。
【請求項２０】
第1抗原および第2抗原はどちらも細胞表面に露出している分子である、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項２１】
第1抗原および第2抗原は、処置されるべき疾患または障害にとっての標的細胞または標

的組織である細胞または組織において共在する、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項２２】
(a) 第1抗原および第2抗原は、処置されるべき疾患または障害にとっての標的細胞または標的組織ではない細胞または組織において共在しないか、または
(b) 第1抗原および第2抗原は、処置されるべき疾患または障害にとっての標的細胞または標的組織ではない細胞または組織では、共在する程度が、処置されるべき疾患または障害にとっての標的細胞または標的組織である細胞または組織よりも低い、
請求項21記載の方法。
【請求項２３】
第1抗原および第2抗原は同一ではなく、どちらも細胞内デスドメインを含むデス受容体ではない、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項２４】
第1抗原と第2抗原がどちらもデス受容体ではない、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項２５】
第1ポリペプチドと第2ポリペプチドは、1：50～50：1のモル比、例えば1：1のモル比、1：2のモル比、1：3のモル比、1：4のモル比、1：5のモル比、1：6のモル比、1：7のモル比、1：8のモル比、1：9のモル比、1：5のモル比、1：5のモル比、1：5のモル比、1：10のモル比、1：15のモル比、1：20のモル比、1：25のモル比、1：30のモル比、1：35のモル比、1：40のモル比、1：45のモル比、1：50のモル比、50：1のモル比、45：1のモル比、40：1のモル比、35：1のモル比、30：1のモル比、25：1のモル比、20：1のモル比、15：1のモル比、10：1のモル比、9：1のモル比、8：1のモル比、7：1のモル比、6：1のモル比、5：1のモル比、4：1のモル比、3：1のモル比、2：1のモル比で投与される、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項２６】
第1ポリペプチドと第2ポリペプチドが同時に投与される、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項２７】
がんを処置するための、前記請求項のいずれか一項記載の方法。
【請求項２８】
ヒトIgGの第2Fc領域と第2抗原に結合することができる第2抗原結合領域とを含む第2ポリペプチドと組み合わせて医薬として使用するための、ヒトIgGの第1Fc領域と第1抗原に結合することができる第1抗原結合領域とを含む第1ポリペプチドであって、
(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KもしくはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
かつ/または
(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436Q、もしくはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NもしくはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KもしくはY436R変異を含むか、またはその逆であり、
または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、もしくはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438Nもしくは Q438G変異を含むか、またはその逆であり、
かつ/または
(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、
ここでアミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応する、第1ポリペプチド。
【請求項２９】
(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253Kもしくは I253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
かつ/または
(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
かつ/または
(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である、
請求項28記載の第1ポリペプチド。
【請求項３０】
(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253Kもしくは I253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
かつ
(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436Q、もしくはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436Nもしくは Y436

Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KもしくはY436R変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、もしくはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NもしくはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆である、
請求項28記載の第1ポリペプチド。
【請求項３１】
(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KもしくはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
かつ
(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である、
請求項28記載の第1ポリペプチド。
【請求項３２】
(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436Q、もしくはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NもしくはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KもしくはY436R変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、もしくはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NもしくはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
かつ
(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である、
請求項28記載の第1ポリペプチド。

【請求項３３】
(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KもしくはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
かつ
(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436Q、もしくはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NもしくはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KもしくはY436R変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、もしくはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NもしくはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
かつ
(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である、
請求項28記載の第1ポリペプチド。
【請求項３４】
第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドは、選択肢（c）において指定される変異を含まず、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異をさらに含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異をさらに含むか、またはその逆である、請求項28～33のいずれか一項記載の第1ポリペプチド。
【請求項３５】
(i) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、
または
(ii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
または
(iii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか

、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(iv) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(v) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、

または

(vi) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(vii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、

または

(viii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

(ix) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

または

(x) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xi) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xii）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xiii）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xiv）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xv）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xvi）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xvii）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xviii）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xix）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか

、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xx) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xxi) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xxii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ならびに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である、

請求項28～34のいずれか一項記載の第1ポリペプチド。

【請求項３６】

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のE430、E345、S440、T437、もしくはK248に対応するアミノ酸位置の変異をさらに含み、かつ/または第2ポリペプチドはヒトIgG1中のE430、E345、S440、T437、もしくはK248に対応するアミノ酸位置の変異をさらに含むか、またはその逆であり、

ただし、第1ポリペプチドまたは第2ポリペプチドがK439E、K439D、S440K、S440R、またはS440H変異を含む場合、該ポリペプチド中の該さらなる変異は、位置S440にはないものとする、

請求項28～35のいずれか一項記載の第1ポリペプチド。

【請求項３７】

第1ポリペプチドは、E430G、E345K、E430S、E430F、E430T、E345Q、E345R、E345Y、S440W、およびS440Yからなる群より選択される1つまたは複数の変異を含み、かつ/または第2ポリペプチドは、E430G、E345K、E430S、E430F、E430T、E345Q、E345R、E345Y、S440W、およびS440Yからなる群より選択される1つまたは複数の変異を含み、

かつ/または

第1ポリペプチドはT437R変異およびK248E変異を含み、かつ/または第2ポリペプチドはT437R変異およびK248E変異を含む、

請求項36記載の第1ポリペプチド。

【請求項３８】

第1ポリペプチドはE430GおよびE345Kからなる群より選択される一方または両方の変異を含み、かつ/または該ポリペプチドはE430GおよびE345Kからなる群より選択される一方または両方の変異を含む、請求項37記載の第1ポリペプチド。

【請求項３９】

第1ポリペプチドはE430Gを含み、かつ第2ポリペプチドはE430Gを含む、請求項38記載の第1ポリペプチド。

【請求項４０】

前記さらなる改変以外は同一であるポリペプチドと比較してFc媒介性エフェクター機能などのエフェクター機能を誘導する能力が変化するように、第1ポリペプチドおよび/または第2ポリペプチドがさらに改変されている、請求項28～39のいずれか一項記載の第1ポリペプチド。

【請求項４１】

前記さらなる改変以外は同一であるポリペプチドと比較して抗体依存性細胞媒介性細胞傷害を誘導する能力が変化するように、第1ポリペプチドおよび/または第2ポリペプチドがさらに改変されている、請求項28～40のいずれか一項記載の第1ポリペプチド。

【請求項４２】

前記改変以外は同一であるポリペプチドと比較して補体依存性細胞傷害を誘導する能力が変化するように、第1ポリペプチドおよび/または第2ポリペプチドがさらに改変されている、請求項28～41のいずれか一項記載の第1ポリペプチド。

【請求項４３】

第1ポリペプチドは完全長抗体などの抗体であり、かつ/または第2ポリペプチドは完全長抗体などの抗体である、請求項28～42のいずれか一項記載の第1ポリペプチド。

【請求項４４】

第1ポリペプチドはIgG1抗体であり、かつ/または第2ポリペプチドはIgG1抗体である、請求項28～43のいずれか一項記載の第1ポリペプチド。

【請求項４５】

第1抗体は、ヒト、ヒト化、またはキメラであり、かつ/または第2抗体は、ヒト、ヒト化、またはキメラである、請求項43または請求項44記載の第1ポリペプチド。

【請求項４６】

第1抗体は二重特異性であり、かつ/または第2ポリペプチドは二重特異性である、請求項43～45のいずれか一項記載の第1ポリペプチド。

【請求項４７】

第1抗原および第2抗原がどちらも細胞表面に露出している分子である、請求項28～46のいずれか一項記載の第1ポリペプチド。

【請求項４８】

第1抗原および第2抗原は、処置されるべき疾患または障害にとっての標的細胞または標的組織である細胞または組織において共在する、請求項28～47のいずれか一項記載の第1ポリペプチド。

【請求項４９】

(a) 第1抗原および第2抗原は、処置されるべき疾患または障害にとっての標的細胞または標的組織ではない細胞または組織において共在しないか、または

(b) 第1抗原および第2抗原は、処置されるべき疾患または障害にとっての標的細胞または標的組織ではない細胞または組織では、共在する程度が、処置されるべき疾患または障害にとっての標的細胞または標的組織である細胞または組織よりも低い、

請求項48記載の第1ポリペプチド。

【請求項５０】

第1抗原および第2抗原は同一ではなく、どちらも細胞内デスドメインを含むデス受容体ではない、請求項28～49のいずれか一項記載の第1ポリペプチド。

【請求項５１】

第1抗原と第2抗原がどちらもデス受容体ではない、請求項28～50のいずれか一項記載の第1ポリペプチド。

【請求項５２】

第1ポリペプチドと第2ポリペプチドは、1：50～50：1のモル比、例えば1：1のモル比、1：2のモル比、1：3のモル比、1：4のモル比、1：5のモル比、1：6のモル比、1：7のモル比、1：8のモル比、1：9のモル比、1：5のモル比、1：5のモル比、1：5のモル比、1：10のモル比、1：15のモル比、1：20のモル比、1：25のモル比、1：30のモル比、1：35のモル比、1：40のモル比、1：45のモル比、1：50のモル比、50：1のモル比、45：1のモル比

、40：1のモル比、35：1のモル比、30：1のモル比、25：1のモル比、20：1のモル比、15：1のモル比、10：1のモル比、9：1のモル比、8：1のモル比、7：1のモル比、6：1のモル比、5：1のモル比、4：1のモル比、3：1のモル比、2：1のモル比で投与される、請求項28～51のいずれか一項記載の第1ポリペプチド。

【請求項５３】

第1ポリペプチドと第2ポリペプチドが同時に投与される、請求項28～52のいずれか一項記載の第1ポリペプチド。

【請求項５４】

使用ががんを処置するためである、請求項28～53のいずれか一項記載の第1ポリペプチド。

【請求項５５】

請求項1～24のいずれか一項記載の第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドを含む、組成物。

【請求項５６】

請求項1～24のいずれか一項記載の第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドと、薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物であって、第1ポリペプチドと第2ポリペプチドとが、好ましくは、請求項25において指定されるモル比で存在する、薬学的組成物。

【請求項５７】

請求項1～24のいずれか一項記載の第1ポリペプチドを含む第1容器と、請求項1～24のいずれか一項記載の第2ポリペプチドを含む第2容器とを備えた、キット。

【請求項５８】

請求項1～24のいずれか一項記載の第1ポリペプチドを含む第1コンパートメントと、請求項1～24のいずれか一項記載の第2ポリペプチドを含む第2コンパートメントとを備えた、デュアルチャンバーシリンジなどのデバイス。

【請求項５９】

ヒトIgGのFc領域と抗原に結合することができる抗原結合領域とを含むポリペプチドであって、

(a) ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G、I253K、もしくはI253R変異、または

ヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310RもしくはH310D変異

および/または

(b) ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436Q、もしくはY436R変異、または

ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異

および/または

(c) ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異、または

ヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異

を含み、

ここで、アミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応し、

ただし、ポリペプチドがS440K変異を含む場合は、選択肢（a）および（b）において指定される他の変異も少なくとも1つは存在するものとする、

ポリペプチド。

【請求項６０】

(a) ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G、I253K、もしくはI253R変異、または

ヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310RもしくはH310D変異、および

(b) ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436Q、もしくはY436R変異、または

ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異
を含む、請求項59記載のポリペプチド。
【請求項６１】
(a) ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G、I253K、もしくはI253R変異、または
ヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310RもしくはH310D変異、および
(c) ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異、または
ヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異
を含む、請求項59記載のポリペプチド。
【請求項６２】
(b) ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436Q、もしくはY436R変異、または
ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異、および
(c) ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異、または
ヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異
を含む、請求項59記載のポリペプチド。
【請求項６３】
(a) ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G、I253K、もしくはI253R変異、または
ヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310RもしくはH310D変異、および
(b) ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436Q、もしくはY436R変異、または
ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異、および
(c) ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異、または
ヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異
を含む、請求項59記載のポリペプチド。
【請求項６４】
選択肢（c）において指定される変異を含まず、ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異またはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異をさらに含む、請求項59～63のいずれか一項記載のポリペプチド。
【請求項６５】
(i) ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異、および
ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異もしくはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異
を含むか、または
(ii) ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異、および
ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異もしくはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異
を含むか、または
(iii) ヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異、および
ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異もしくはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異
を含むか、または
(iv) ヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異、および

ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異もしくはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異
を含むか、または
(v) ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異、および
ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異もしくはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異
を含むか、または
(vi) ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異、および
ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異もしくはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異
を含むか、または
(vii) ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異、および
ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異もしくはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異
を含むか、または
(viii) ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異、および
ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異もしくはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異
を含むか、または
(ix) ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異、および
ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異もしくはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異
を含むか、または
(x) ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異、および
ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異もしくはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異
を含むか、または
(xi) ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異、および
ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異もしくはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異
を含むか、または
(xii) ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異、および
ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異もしくはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異
を含むか、または
(xiii) ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異、および
ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異もしくはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異
を含むか、または
(xiv) ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異、および
ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異もしくはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異
を含むか、または
(xv) ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異、および
ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異もしくはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異
を含むか、または
(xvi) ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異、および
ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異もしくはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異

を含む、
請求項59～64のいずれか一項記載のポリペプチド。
【請求項６６】
前記ポリペプチドが、ヒトIgG1中のE430、E345、S440、T437、またはK248に対応するアミノ酸位置の変異をさらに含み、
ただし、該ポリペプチドが、K439E、K439D、S440K、S440R、またはS440H変異を含む場合、該ポリペプチド中の該さらなる変異は位置S440にはないものとする、
請求項59～65のいずれか一項記載のポリペプチド。
【請求項６７】
E430G、E345K、E430S、E430F、E430T、E345Q、E345R、E345Y、S440W、およびS440Yからなる群より選択される1つまたは複数の変異を含み、かつ/または
T437R変異およびK248E変異を含む、
請求項66記載のポリペプチド。
【請求項６８】
E430GおよびE345Kからなる群より選択される一方または両方の変異を含む、請求項67記載のポリペプチド。
【請求項６９】
E430G変異を含む、請求項68記載のポリペプチド。
【請求項７０】
前記さらなる改変以外は同一であるポリペプチドと比較してFc媒介性エフェクター機能などのエフェクター機能を誘導する能力が変化するようにさらに改変されている、請求項59～69のいずれか一項記載のポリペプチド。
【請求項７１】
前記さらなる改変以外は同一であるポリペプチドと比較して抗体依存性細胞媒介性細胞傷害を誘導する能力が変化するようにさらに改変されている、請求項59～70のいずれか一項記載のポリペプチド。
【請求項７２】
前記さらなる改変以外は同一であるポリペプチドと比較して補体依存性細胞傷害を誘導する能力が変化するようにさらに改変されている、請求項59～71のいずれか一項記載のポリペプチド。
【請求項７３】
完全長抗体などの抗体である、請求項59～72のいずれか一項記載のポリペプチド。
【請求項７４】
IgG1抗体である、請求項59～73のいずれか一項記載のポリペプチド。
【請求項７５】
前記抗体が、ヒト、ヒト化、またはキメラである、請求項73または請求項74記載のポリペプチド。
【請求項７６】
前記抗体が二重特異性である、請求項73～75のいずれか一項記載のポリペプチド。
【請求項７７】
前記抗原が細胞表面に露出している分子である、請求項59～76のいずれか一項記載のポリペプチド。
【請求項７８】
前記抗原はデス受容体ではない、請求項59～77のいずれか一項記載のポリペプチド。
【請求項７９】
請求項59～78のいずれか一項記載のポリペプチドと、薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】

発明の分野

本発明は、2種以上のFc領域含有抗原結合ポリペプチド、例えば抗体を含む併用治療に関し、該ポリペプチドは、それぞれの対応する標的抗原に結合したときに、ポリペプチド間のヘテロオリゴマー化がホモオリゴマー化よりも著しく有利になるようにポリペプチドが改変されている。本発明は、本発明の併用治療における使用に適したポリペプチド、そのようなポリペプチドの使用、組成物、キット、およびデバイスにも関係する。

【背景技術】

【０００２】

発明の背景

抗体は、さまざまな機序によって標的細胞に影響を及ぼすことができる極めて有効な分子である。ある場合には、細胞表面の標的抗原に抗体が結合するだけでも、標的抗原に対して、したがって標的細胞に対して、アンタゴニスト効果またはアゴニスト効果が生じうる。上記に代えて、または上記に加えて、標的細胞に対する抗体の効果は、エフェクター機能、典型的にはFc媒介エフェクター機能、例えば補体依存性細胞傷害（CDC）、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）および抗体依存性細胞媒介性食作用（antibody-dependent cell-mediated phagocytosis）（ADCP）を誘導する抗体の能力によって達成される。

【０００３】

ADCCおよびADCPはIgG Fc領域がエフェクター細胞上のFcγ受容体に結合することによって開始される。WO2012/130831（特許文献1）は、ポリペプチドのFc領域における1つまたは複数のアミノ酸置換の結果として変化したADCC機能を有する、Fc領域含有ポリペプチドを開示している。

【０００４】

CDCは抗体のFc領域へのC1qの結合によって開始される。C1qは軸部（stalk）に取り付けられた6つの球状結合頭部（globular binding head）からなる多量体タンパク質である。個々の球状結合頭部はIgGに対して低いアフィニティーを有し、古典的補体経路をトリガーするには、C1qが、細胞表面上の複数のIgG1分子に結合することによってアビディティーを獲得しなければならない。細胞表面での標的結合時のIgG六量体化が、強い（avid）C1q結合をサポートすることが示されている。この六量体化は分子間での非共有結合的なFc-Fc相互作用によって媒介される。Fc-Fc相互作用は、E345RおよびE430Gを含むCH3ドメイン中の点変異によって強化することができる（例えばWO2013/004842およびWO2014/108198（特許文献2および3）参照）。WO2017/093447（特許文献4）は細胞内デスドメインを含むデス受容体に結合する抗体に向けられている。この出願は、抗体のFc領域中のK439E変異がFc-Fc斥力をもたらし、したがって該変異を有する2つの抗体分子間の弱いFc-Fc相互作用をもたらすことを開示している。この効果は、他方の抗体分子にS440K変異を導入することによって中和することができ、それはFc-Fc相互作用の復活につながる。Diebolder et al.（2014）Science 343：126（非特許文献1）も参照されたい。

【０００５】

抗体治療が非常に有効であることは多いものの、抗体標的抗原は、多くの場合、疾患細胞または疾患組織だけに発現しているわけではなく、他の健常な細胞または組織にも見出される。したがって、抗体治療が標的組織に対する選択性を欠き、非患部組織が抗体処置による影響を受けて毒性が生じる場合もある。

【０００６】

したがって、改良された抗体処置、特に改良された選択性を持つ処置が必要とされている。

【０００７】

したがって、ポリペプチドまたは抗体の選択性を増加させることによって疾患を処置する方法を提供することが、本発明の目的である。単剤活性は有しないが、同じ標的細胞上または同じ標的組織上で一つに結びついた場合にのみ活性を示す第1ポリペプチドと第2ポリペプチドとを提供することによって疾患を処置する方法を提供することが、本発明のさらに別の目的である。したがって、第1抗原に結合することができる第1ポリペプチドと第

2抗原に結合することができる第2ポリペプチドとを投与することによって疾患を処置する方法を提供することが、本発明の目的であり、第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドは、第1抗原または第2抗原のどちらか一方を発現する組織または標的器官には効果を有しないか、またはごくわずかな効果しか有しないが、第1抗原と第2抗原をどちらも発現する組織または標的器官には有効な処置を与える。ヘテロオリゴマー化には有利に働きつつホモオリゴマー化（自己オリゴマー化）を防ぐように改変された第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドを対象に投与することによって疾患を処置する方法を提供することが、本発明のさらなる目的である。そのような処置の方法において使用されうるポリペプチド、すなわち少なくとも1つの自己オリゴマー化阻害性変異を有するポリペプチドを提供することが、本発明の別の目的である。自己オリゴマー化阻害性変異を有する第1ポリペプチドおよび自己オリゴマー化阻害性変異を有する第2ポリペプチドを提供することが、本発明のさらに別の目的であり、第1ポリペプチド中の自己オリゴマー化阻害性変異と第2ポリペプチド中の自己オリゴマー化阻害性変異とが相補的であることにより、標的細胞に結合したときに第1ポリペプチドと第2ポリペプチドとのヘテロオリゴマー化が可能になる。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００８】

【特許文献１】WO2012/130831

【特許文献２】WO2013/004842

【特許文献３】WO2014/108198

【特許文献４】WO2017/093447

【非特許文献】

【０００９】

【非特許文献１】Diebolder et al.（2014）Science 343：126

【発明の概要】

【００１０】

本発明は、所望の標的細胞集団に対する抗体処置の選択性を改良するために使用することができる方法、ポリペプチド、および組成物を提供する。

【００１１】

本発明の方法および使用は、2種の抗体（または抗体様ポリペプチド）による処置に関し、前記2種の抗体は2つの異なる標的抗原に結合し、抗体のFc領域は、前記2種の抗体のヘテロオリゴマー化がホモオリゴマー化よりも著しく有利になるように改変されている。これらの改変の結果として、両方の抗原標的を発現する（2種の抗体の効率のよい（ヘテロ）オリゴマー化を可能にする）細胞では、標的のうちの一方しか発現しない（非効率的な（ホモ）オリゴマー化をもたらす、または（ホモ）オリゴマー化をもたらさない）細胞よりも、多くの抗体オリゴマー化が起こるだろう。オリゴマー化は一般に抗体の効力を強化するので、抗体併用処置は、標的のうちの一方しか発現しない細胞に対する効力よりも、標的を共発現する細胞に対する効力の方が強くなるだろう。このように、本抗体併用処置は、両方の標的抗原を発現する細胞または組織に対して、改良された選択性を有する。したがって、所望の標的細胞集団では共発現するが標的にすべきでない細胞集団では共発現しないか共発現量が少ない2種の抗原を選択することにより、所望の標的細胞集団に対して選択的効果を有するであろう複合的抗体処置（combined antibody treatment）を設計することができる。

【００１２】

増加した効力は、2種の標的抗原が同じ細胞上に共発現する場合に得られるだけでなく、標的細胞が近接している他の状況でも得られるだろうと考えられる。さらにまた、古典的抗体の他に、抗体様ポリペプチドも、それらがFc領域と抗原結合領域とを含む限り、使用することができる。

【００１３】

したがって、第1局面において本発明は、その必要がある対象に、ヒトIgGの第1Fc領域

と第1抗原に結合することができる第1抗原結合領域とを含む第1ポリペプチドを、ヒトIgGの第2Fc領域と第2抗原に結合することができる第2抗原結合領域とを含む第2ポリペプチドと組み合わせて投与する工程を含む、疾患または障害を処置する方法に関し、

(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KまたはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

かつ/または

(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436QまたはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KまたはY436R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438KまたはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、

かつ/または

(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

ここでアミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応する。

【００１４】

本発明の方法の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436K変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438R変異を含むか、またはその逆である。

【００１５】

本発明の一局面において、第1ポリペプチドはヒトIgG3中のF436に対応するアミノ酸位置のF436N、F436K、F436QまたはF436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG3中のF436に対応するアミノ酸位置のF436NまたはF436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG3中のF436に対応するアミノ酸位置のF436KまたはF436R変異を含むか、またはその逆である。

【００１６】

さらなる局面において本発明は、ヒトIgGの第2Fc領域と第2抗原に結合することができる第2抗原結合領域とを含む第2ポリペプチドと組み合わせて医薬として使用するための、ヒトIgGの第1Fc領域と第1抗原に結合することができる第1抗原結合領域とを含む第1ポリペプチドに関し、

(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KまたはI253R

変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
かつ/または
(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436QまたはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KまたはY436R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438KまたはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、
かつ/または
(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、
ここでアミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応する。

【００１７】

さらなる一局面において本発明は、ヒトIgGのFc領域と抗原に結合することができる抗原結合領域とを含むポリペプチドに関し、該ポリペプチドは、
(a) ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G、I253K、もしくはI253R変異、または
ヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310RもしくはH310D変異
および/または
(b) ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436Q、もしくはY436R変異、または
ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異
および/または
(c) ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異、または
ヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異
を含み、
ここで、アミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応し、
ポリペプチドがS440K変異を含む場合は、選択肢（a）および（b）において指定される他の変異も少なくとも1つは存在するものとする。

【００１８】

別の一局面において、本発明は、本明細書記載の1種または複数種の本発明のポリペプチドを含む組成物に関する。

【００１９】

さらなる局面において、本発明は、本明細書記載の1種または複数種の本発明のポリペプチドを含む薬学的組成物に関する。

【００２０】

さらなる一局面において本発明は、本明細書記載の発明における使用に適した第1ポリペプチドを含む第1容器と本明細書記載の発明における使用に適した第2ポリペプチドを含む第2容器とを含むキットに関する。

【００２１】

さらに別の局面において、本発明は、本明細書記載の発明における使用に適した第1ポ

リペプチドを含む第1コンパートメントと本明細書記載の発明における使用に適した第2ポリペプチドを含む第2コンパートメントとを備えたデバイス、例えばデュアルチャンバーシリンジに関する。

【００２２】

本発明のこれらの局面および他の局面、特に本ポリペプチドまたは抗体のさまざまな用途および治療的応用について、以下にさらに詳しく説明する。

【図面の簡単な説明】

【００２３】

【図１】図1は、ヒトIgG1m（a）、IgG1m（f）、IgG2、IgG3およびIgG4 Fcバックボーンのアミノ酸配列アラインメントを、EUベースの（IgG1特異的）ナンバリングスキームで表している（Edelman et al.1969 Proc Natl Acad Sci USA 63,78-85）。

【図２】図2は、表示のI253変異またはH310変異を持つIgG1-Campath-E430G抗体変種を、Fc-Fc相互作用を操作することの効果およびWien 133細胞に対するCDC効力について試験するCDCアッセイの結果を表している。Wien 133細胞を、単独の抗体変種およびI253＋H310変異体ペアの考えうるすべての抗体組合せの濃度系列と共に、5％プール正常ヒト血清（NHS）の存在下でインキュベートした。CDC効力を、TO-PRO-3ヨウ化物陽性細胞のパーセンテージによって決定される50％有効抗体濃度（half maximal effective antibody concentration）（EC50）としてng/mLの単位で表す。限定できない低いEC50値による最大細胞溶解は＜15ng/mLとして示す。

【図３】図3は、表示のY436変異またはQ438変異を持つIgG1-Campath-E430G抗体変種を、Fc-Fc相互作用を操作することの効果およびWien 133細胞に対するCDC効力について試験するCDCアッセイの結果を表している。Wien 133細胞を、単独の抗体変種およびY436＋Q438変異体ペアの考えうるすべての抗体組合せの濃度系列と共に、5％プールNHSの存在下でインキュベートした。CDC効力を、TO-PRO-3ヨウ化物陽性細胞のパーセンテージによって決定される50％有効抗体濃度（EC50）としてng/mLの単位で表す。限定できない低いEC50値による最大細胞溶解は＜15ng/mLとして示す。

【図４】図4は、表示のK439変異またはS440変異を持つIgG1-Campath-E430G抗体変種を、Fc-Fc相互作用を操作することの効果およびWien 133細胞に対するCDC効力について試験するCDCアッセイの結果を表している。Wien 133細胞を、単独の抗体変種およびK439＋S440変異体ペアの考えうるすべての抗体組合せの濃度系列と共に、5％プールNHSの存在下でインキュベートした。CDC効力を、TO-PRO-3ヨウ化物陽性細胞のパーセンテージによって決定される50％有効抗体濃度（EC50）としてng/mLの単位で表す。限定できない低いEC50値による最大細胞溶解は＜15ng/mLとして示す。

【図５】図5は、Fc-Fc阻害性変異I253GおよびH310R（A）、I253KおよびH310D（B）、ならびにI253RおよびH310D（C）がIgG1-Campath-E430GのCDC効力に及ぼす効果を表している。Wien 133細胞を、単独のFc-Fc阻害性変異を含有する表示のIgG1-Campath-E430G抗体変種（単独mAb）およびそれらの組合せ（mAb混合物）の濃度系列と共に、20％プールNHSの存在下でインキュベートした。CDC効力をPI陽性細胞百分率によって決定された溶解百分率として表す。HIV gp120に対するIgG-b12抗体を非結合性対照抗体として使用した。

【図６】図6は、Fc-Fc阻害性変異の組合せがIgG1-Campath-E430GのCDC効力に及ぼす効果を表している。Wien 133細胞を、単独の抗体中に1つまたは2つのFc-Fc阻害変異を含有する表示のIgG1-Campath-E430G抗体変種（単独mAb）およびそれらの組合せ（mAb混合物）の濃度系列と共に、20％プールNHSの存在下でインキュベートした。CDC効力をPI陽性細胞百分率によって決定された溶解百分率として表す。HIV gp120に対するIgG-b12抗体を非結合性対照抗体として使用した。

【図７】図7は自己オリゴマー化阻害性置換を持つ抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H抗体のFcRn結合を表す。（A）pH7.4および（B）pH6.0において40μg/mlの抗体濃度を使った、自己オリゴマー化阻害性置換I253G、I253K、I253R、H310D、H310R、Y436N、Y436K、Q438Nおよび/またはQ438Rを持つ抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439Eおよび抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440Kの抗体変種のヒトFcRnへの結合が示されている。FcRn ELISAは、5μg/mLでコ

ーティングされたヒトFcRnの組換え細胞外ドメイン（FcRnECDHis-B2M-BIO）および抗体希釈系列で行った。結合した抗体の量は、HRPコンジュゲートヤギ抗ヒトIgG1抗体および化学発光基質ABTSで決定した。吸光度は405nmで測定した。

【図８】図8は、Fc-Fc強化変異E430Gおよび自己オリゴマー化阻害性置換を持つIgG1-CAMPATH-1H変種のFcγR結合を表している。ELISAアッセイにおいて試験された、自己オリゴマー化阻害性置換K439E、S440K、Y436K、Y436N、Q438NおよびQ438Rを持つ固定化IgG1-CAMPATH-1H-E430G変種の、（A）FcγRIIAアロタイプ131H、（B）FcγRIIAアロタイプ131R、（C）FcγRIIB、（D）FcγRIIIAアロタイプ158Vおよび（E）FcγRIIIAアロタイプ158Fの二量体型Hisタグ付きビオチン化ECDへの結合。抗体なしの対照（バックグラウンド）およびIgG1-CAMPATH-1H-E430Gへの結合（100％）と比較した20μg/mLの抗体試料についての結合を提示する。検出はストレプトアビジン-ポリHRPおよびABTSを使って行った。

【図９】図9は、自己オリゴマー化阻害性変異を保持する抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E抗体および抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440K抗体の、単剤および併用での、CDC効力を表している。Wien 133細胞を20％NHSの存在下で抗体濃度系列と共にインキュベートした。CDC効力を、（A）非結合性対照抗体IgG1-b12（0％）およびIgG1-CAMPATH-1H-E430G（100％）に正規化したAUC、および（B）40μg/mlの抗体濃度でPI陽性細胞百分率によって決定された溶解百分率として表す。

【図１０】図10は、追加の自己オリゴマー化阻害性変異を保持する抗CD20-IgG1-11B8-E430G-K439E抗体および抗CD20 IgG1-11B8-E430G-S440K抗体の、単剤および併用での、CDC効力を表している。Wien 133細胞を20％NHSの存在下で抗体濃度系列と共にインキュベートした。CDC効力を、非結合性対照抗体IgG1-b12（0％）およびIgG1-CAMPATH-1H-E430G（CAMP-E430G）＋IgG1-11B8-E430Gの混合物（100％）に正規化したAUCとして表す。

【図１１】図11は、自己オリゴマー化阻害性変異を保持する抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E抗体および抗CD20 IgG1-11B8-E430G-S440K抗体の、単剤および併用での、CDC効力を表している。Wien 133細胞を20％NHSの存在下で抗体濃度系列と共にインキュベートした。CDC効力を、非結合性対照抗体IgG1-b12（0％）およびIgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-11B8-E430Gの混合物（100％）に正規化したAUCとして表す。

【図１２】図12は、異なるFc-Fc相互作用強化変異を保持する抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H抗体および抗CD20 IgG1-11B8抗体の変種の、単剤および併用での、CDC効力を表している。（A、B）Wien 133細胞を20％NHSの存在下で抗体濃度系列と共にインキュベートした。CDC効力を、非結合性対照抗体IgG1-b12（0％）およびIgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-11B8-E430Gの混合物（100％）に正規化したAUCとして表す。

【図１３】図13は、追加の自己オリゴマー化阻害性変異を持つ抗CD52 CAMPATH-1H-E430G-K439E＋追加の自己オリゴマー化阻害性変異を持つ抗CD20 11B8-E430G-S440Kの混合された抗体サブクラス変種（IgG1、IgG2およびヒンジ安定化IgG4）によるCDC活性の選択性を表している。Wien 133細胞を抗体濃度系列と共に20％NHSの存在下でインキュベートした。CDC効力をPI陽性細胞百分率の正規化されたAUCとして表す。正規化は非結合性対照抗体IgG1-b12（0％）およびIgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-11B8-E430Gの混合物（100％）に対して行った。

【図１４】図14は、Fc-Fc相互作用強化変異および自己オリゴマー化阻害性変異を持つIgG1-CAMPATH-1HおよびIgG1-11B8変種にFcγR結合阻害性変異G237Aを導入することが、FcγR結合およびCDC活性に及ぼす効果を表している。ELISAアッセイで試験された、自己オリゴマー化阻害性変異K439EまたはS440Kを持つ固定化IgG1-CAMPATH-1HおよびIgG1-11B8変種の、（A）FcγRIIAアロタイプ131H、（B）FcγRIIAアロタイプ131R、（C）FcγRIIB、（D）FcγRIIIAアロタイプ158Fおよび（E）FcγRIIIAアロタイプ158Vの二量体化Hisタグ付きビオチン化ECDへの結合。結合を20μg/mLの抗体試料について波長405nmにおける吸光度として表す。検出はストレプトアビジン-ポリHRPおよびABTSを使って行った。（F、G）Wien 133細胞を抗体濃度系列と共に20％NHSの存在下でインキュベートした。CDC効力をPI陽性細胞百分率の正規化されたAUCとして表す。正規化は非結合性対照抗体IgG1-b12（0％）およびIgG1-CAMPATH-1H-E430G（100％；F）または非結合性対照抗体IgG1-b12（0％）およびIg

G1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-11B8-E430Gの混合物（100％；G）に対して行った。
【図１５】図15は、自己オリゴマー化阻害性変異、FcγR結合阻害性変異G237A、および/またはC1q結合強化変異E333SまたはK326W-E333Sありまたはなしの、抗CD52 CAMPATH-1H-E430G-K439Eおよび抗CD20 11B8-E430G-S440Kの混合された抗体変種によるCDC活性の選択性を表している。Wien 133細胞を抗体濃度系列と共に20％NHSの存在下でインキュベートした。CDC効力をPI陽性細胞百分率の正規化されたAUCとして表す。正規化は非結合性対照抗体IgG1-b12（0％）およびIgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-11B8-E430Gの混合物（100％）に対して行った。
【図１６】図16は、自己オリゴマー化阻害性変異を保持する抗CD37 IgG1-CD37-37-3-E430G抗体変種の、単剤および併用での、CDC効力を表している。Raji細胞を抗体濃度系列と共に20％NHSの存在下でインキュベートした。CDC効力を、非結合性対照抗体IgG1-b12（0％）およびIgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-CD37-37-3-E430G（100％）に正規化したAUCとして表す。
【図１７】図17は、自己オリゴマー化阻害性変異を保持する抗CD37 IgG1-CD37-37-3-E430GおよびIgG1-11B8-E430G抗体変種の、単剤および併用でのCDC効力を表している。Raji細胞を抗体濃度系列と共に20％NHSの存在下でインキュベートした。CDC効力を、非結合性対照抗体IgG1-b12（0％）およびIgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-CD37-37-3-E430G（100％）に正規化したAUCとして表す。
【図１８】図18は、自己オリゴマー化阻害性変異を保持する抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H-E430Gおよび抗CD37 IgG1-CD37-37-3-E430G抗体変種の、単剤および併用での、CDC効力を表している。Raji細胞を抗体濃度系列と共に20％NHSの存在下でインキュベートした。CDC効力を、非結合性対照抗体IgG1-b12（0％）およびIgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-CD37-37-3-E430G（100％）に正規化したAUCとして表す。
【図１９】図19は、自己オリゴマー化阻害性変異を保持するIgG1-DR5-01-G56T-E430GおよびIgG1-DR5-05-E430Gの抗DR5抗体変種の細胞傷害性を表している。精製ヒトC1q（最終濃度2.9μg/mL）の存在下でBxPC-3細胞を抗体濃度系列と共にインキュベートした。細胞傷害性を抗体濃度20μg/mlにおける細胞生存率として表す。生細胞百分率は、次式を使って算出した：％生細胞＝［（抗体試料のルミネセンス-スタウロスポリン試料のルミネセンス）/（抗体なし試料のルミネセンス-スタウロスポリン試料のルミネセンス）］×100％。
【図２０】図20は、自己オリゴマー化阻害性変異を保持する抗CD37 IgG1-7D8-E430G抗体変種の、単剤および併用での、CDC効力を表している。Raji細胞を抗体濃度系列と共に20％NHSの存在下でインキュベートした。CDC効力を、非結合性対照抗体IgG1-b12（0％）およびIgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-7D8-E430G（100％）に正規化したAUCとして表す。
【図２１】図21は、単剤としての、またはさまざまな比で混合された、自己オリゴマー化阻害性変異を保持する抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H-E430Gおよび抗CD20 IgG1-11B8-E430G抗体変種によるCDC効力を表す。Wien 133細胞を抗体濃度系列と共に20％NHSの存在下でインキュベートした。CDC効力を、PI陽性細胞の数から計算された細胞溶解の百分率として表す。（A）単剤IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438NおよびIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436Kならびにそれらの混合物のCDC効力。（B）単剤IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438NおよびIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rならびにそれらの混合物のCDC効力。
【図２２】図22は、自己オリゴマー化阻害性変異を保持する抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H-E430Gおよび非抗原結合性IgG1-b12-E430G抗体変種の、単剤および併用での、CDC効力を表している。Wien 133細胞を抗体濃度系列と共に20％NHSの存在下でインキュベートした。CDC効力を、非結合性対照抗体IgG1-b12（0％）およびIgG1-CAMPATH-1H-E430G（100％）に正規化したAUCとして表す。変異E430Gを変異K439EまたはS440Kのどちらか一方と組み合わせて保持する単剤抗体変種およびそれらの混合物によって誘導される（A）CDCおよび（B）最大細胞溶解。それぞれの単剤対照反応と比較した、相補的変異を保持するIgG1-CAMPATH-1HまたはIgG1-b12抗体変種と混合された、E430G、K439EおよびY436N変異を保持する抗体変種によって誘導される、（C）CDCおよび（D）最大細胞溶解。それぞれの単剤対照反応

と比較した、相補的変異を保持するIgG1-CAMPATH-1HまたはIgG1-b12抗体変種と混合された、E430G、K439EおよびQ438N変異を保持する抗体変種によって誘導される、（E）CDCおよび（F）最大細胞溶解。

【発明を実施するための形態】

【００２４】

発明の詳細な説明

定義

「IgGのFc領域と抗原結合領域とを含むポリペプチド」という用語は、本発明との関連においては、IgGアイソタイプの免疫グロブリンのFc領域と、例えば細胞、細菌またはビリオンなどの上に存在するポリペプチドなどの任意のタイプの分子であることができる抗原に結合することができる結合領域とを含むポリペプチドを指す。免疫グロブリンのFc領域は、典型的には（当業者には公知の）パパインで抗体を消化した後に生じるであろう抗体のフラグメントと定義され、これは免疫グロブリンの2つのCH2-CH3領域と連結領域（connecting region）、例えばヒンジ領域とを含む。したがって「IgGのFc領域」という用語は、本発明との関連においては、免疫グロブリンの連結領域、例えばヒンジ領域、ならびにCH2領域およびCH3領域が存在することを意味する。抗体重鎖の定常ドメインは抗体アイソタイプを規定し、抗体アイソタイプは例えばIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4などであることができる。Fc領域は、Fc受容体と呼ばれる細胞表面受容体および補体系のタンパク質と共に、抗体のエフェクター機能を媒介する。IgGのFcドメインと抗原結合領域とを含むポリペプチドは、キメラ抗体、ヒト化抗体もしくはヒト抗体、または重鎖のみの抗体のような抗体、またはScFv-Fc融合物もしくはFc融合タンパク質でありうる。ポリペプチドはヒト起源に限定されず、例えばマウス、ラット、ウサギまたはカニクイザル起源など、任意の起源を持つことができる。

【００２５】

「免疫グロブリン」または「Ig」という用語は、2対のポリペプチド鎖、すなわち1対の軽い（L）低分子量鎖および1対の重い（H）高分子量鎖からなる、構造的に関連する一群の糖タンパク質を指し、それら4つはすべて潜在的にジスルフィド結合によって相互に連結される。「IgG」とは免疫グロブリンGを指す。免疫グロブリンの構造は詳しく特徴づけられている。例えばFundamental Immunology Ch.7（Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y.（1989））を参照されたい。簡単に述べると、各重鎖は、典型的には、重鎖可変領域（本明細書ではVHと略記する）と重鎖定常領域とで構成される。重鎖定常領域は、典型的には、3つのドメインCH1、CH2、およびCH3で構成される。重鎖は、いわゆる「ヒンジ領域」において、ジスルフィド結合によって相互に連結される。各軽鎖は、典型的には、軽鎖可変領域（本明細書ではVLと略記する）と軽鎖定常領域とで構成される。軽鎖定常領域は、典型的には、1つのドメインCLで構成される。VH領域およびVL領域は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれる保存度の高い領域が散在している、相補性決定領域（CDR）とも呼ばれる超可変性領域（すなわち配列が超可変でありうる、かつ/または構造上明確なループを形成しうる、超可変領域）へとさらに細分しうる。各VHおよびVLは、典型的には、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって以下の順序で配置された3つのCDRと4つのFRとで構成される：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4（Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196,901 917（1987）も参照されたい）。別段の言明があるか、文脈上矛盾する場合を除き、本明細書におけるCDR配列は、DomainGapAlignを使ってIMGTの規則に従って同定される（Lefranc MP., Nucleic Acids Research 1999；27：209-212およびEhrenmann F., Kaas Q. and Lefranc M.-P. Nucleic Acids Res., 38,D301-307（2010）；インターネットhttpアドレスwww.imgt.org/も参照されたい）。別段の言明があるか、文脈上矛盾する場合を除き、本発明におけるアミノ酸位置への言及は、EUナンバリングに従う（Edelman et al., Proc Natl Acad Sci U S A.1969 May；63（1）：78-85、Kabat et al., Sequences of Proteins of immunological interest.5th Edition-1991 NIH Publication No.91-3242）。

【００２６】

本明細書において使用される「位置...に対応するアミノ酸」という用語は、ヒトIgG1重鎖におけるアミノ酸位置番号を指す。他の免疫グロブリンにおける対応するアミノ酸位置は、ヒトIgG1とのアラインメントによって見出しうる。図1にIgG1、IgG2、IgG3およびIgG4配列のアラインメントを示すが、これは、IgG2、IgG3およびIgG4中のどの位置がIgG1中のどの位置に対応するかを示している。したがって、ある配列中のアミノ酸またはセグメントであって、別の配列中のアミノ酸またはセグメント「に対応する」アミノ酸またはセグメントとは、例えばALIGN、ClustalWなどの標準的配列アラインメントプログラムを使ったときに典型的にはデフォルト設定で前記他方のアミノ酸またはセグメントと整列し、ヒトIgG1重鎖に対して少なくとも50％、少なくとも80％、少なくとも90％または少なくとも95％の同一性を有するものである。ある配列または配列中のセグメントをアラインメントし、それにより、本発明に従ってあるアミノ酸位置に対してある配列中の対応する位置を決定する方法は、当技術分野において周知であると考えられる。

【００２７】

本明細書において使用される「ヒンジ領域」という用語は、免疫グロブリン重鎖のヒンジ領域を指すものとする。したがって、例えばヒトIgG1抗体のヒンジ領域は、EUナンバリングではアミノ酸216～230に対応する。

【００２８】

本明細書において使用される「CH2領域」または「CH2ドメイン」という用語は、免疫グロブリン重鎖のCH2領域を指すものとする。したがって、例えばヒトIgG1抗体のCH2領域は、EUナンバリングではアミノ酸231～340に対応する。ただしCH2領域は本明細書に記載する他のアイソタイプのいずれであってもよい。

【００２９】

本明細書において使用される「CH3領域」または「CH3ドメイン」という用語は、免疫グロブリン重鎖のCH3領域を指すものとする。したがって、例えばヒトIgG1抗体のCH3領域は、EUナンバリングではアミノ酸341～447に対応する。ただしCH3領域は本明細書に記載する他のアイソタイプのいずれであってもよい。

【００３０】

「Fc領域」または「Fcドメイン」という用語は、本明細書では相互可換的に使用することができ、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって並べた場合に、少なくともヒンジ領域、CH2ドメインおよびCH3ドメインを含む抗体領域を指す。IgG1抗体のFc領域は、例えばパパインによるIgG1抗体の消化によって生成させることができる。

【００３１】

「抗体」（Ab）という用語は、本発明との関連においては、抗原に特異的に結合することができる、免疫グロブリン分子、免疫グロブリン分子のフラグメント、またはそれらのうちのいずれかの誘導体を指す。本発明において使用される抗体は、免疫グロブリンのFcドメインと抗原結合領域とを含む。抗体は一般にCH2-CH3領域とヒンジ領域などの連結領域、例えば少なくともFcドメインを含有する。免疫グロブリン分子の重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。抗体は、単一特異性または多重特異性抗体、例えば二重特異性抗体または類似の分子であってもよい。「二重特異性抗体」という用語は、少なくとも2つの異なる、典型的にはオーバーラップしていない、エピトープに対する特異性を有する抗体を指す。そのようなエピトープは同じ標的上または異なる標的上に存在しうる。エピトープが異なる標的上に存在する場合、そのような標的は同じ細胞上または異なる細胞もしくは細胞タイプ上に存在しうる。上に示したように、別段の言明があるか、文脈上明らかに矛盾する場合を除き、本明細書における抗体という用語は、Fc領域の少なくとも一部分を含み、抗原に特異的に結合する能力を保っている抗体のフラグメントを包含する。そのようなフラグメントは、酵素的切断、ペプチド合成および組換え発現技法など、任意の公知技法によって提供されうる。抗体の抗原結合機能が完全長抗体のフラグメントによって履行されうることは示されている。「Ab」または「抗体」という用語内に包含される結合性フラグメントの例としては、次に挙げるものがあるが、それらに限定されるわけではない：一価抗体（GenmabによるWO2007059782に記載されて

いる）；重鎖抗体、これは2つの重鎖だけからなり、例えばラクダ科動物などでは天然に存在する（例えばHamers-Casterman（1993）Nature 363：446）；ThioMab（Roche、WO2011069104）；非対称二重特異性抗体様分子である鎖交換エンジニアードドメイン（strand-exchange engineered domain）（SEEDまたはSeed-body）（Merck、WO2007110205）；Triomab（Pharma/Fresenius Biotech、Lindhofer et al.1995 J Immunol 155：219、WO2002020039）；FcΔAdp（Regeneron、WO2010151792）、Azymetric Scaffold（Zymeworks/Merck、WO2012/058768）；mAb-Fv（Xencor、WO2011/028952）、Xmab（Xencor）；二重可変ドメイン免疫グロブリン（Dual variable domain immunoglobulin）（Abbott、DVD-Ig、米国特許第7,612,181号）；二重ドメイン二重ヘッド抗体（Dual domain double head antibody）（Unilever、Sanofi Aventis、WO20100226923）；ジ-ダイアボディ（Di-diabody）（ImClone/Eli Lilly）；ノブズ・イントゥ・ホールス（Knobs-into-holes）抗体フォーマット（Genentech、WO9850431）；DuoBody（Genmab、WO 2011/131746）；二重特異性IgG1およびIgG2（Pfizer/Rinat、WO11143545）；DuetMab（MedImmune、US2014/0348839）；静電ステアリング（Electrostatic steering）抗体フォーマット（Amgen、EP1870459およびWO 2009089004、Chugai,US201000155133、Oncomed、WO2010129304A2）；CrossMAb（Roche、WO2011117329）；LUZ-Y（Genentech）、Biclonic（Merus、WO2013157953）；二重ターゲティングドメイン（Dual Targeting domain）抗体（GSK/Domantis）；ツー・イン・ワン（Two-in-one）抗体または2つの標的を認識する二重作用性Fab（Dual action Fab）（Genentech、NovImmune、Adimab）；架橋Mab（Cross-linked Mab）（Karmanos Cancer Center）；共有結合で融合されたmAb（covalently fused mAb）（AIMM）、CovX-body（CovX/Pfizer）；FynomAb（Covagen/Janssen cilag）；DutaMab（Dutalys/Roche）；iMab（MedImmune）；IgG様二重特異性（IgG-like Bispecific）（ImClone/Eli Lilly、Shen,J.,et al.J Immunol Methods,2007.318（1-2）：p.65-74）；TIG-body、DIG-bodyおよびPIG-body（Pharmabcine）；二重アフィニティーリターゲティング分子（Dual-affinity retargeting molecule）（Fc-DARTまたはig-DART、Macrogenicsによる、WO/2008/157379、WO/2010/080538）；BEAT（Glenmark）；Zybodies（Zyngenia）；共通軽鎖によるアプローチ（Crucell/Merus、US7262028）または共通重鎖によるアプローチ（NovImmuneによるκλBody、WO2012023053）、ならびにFcドメインを含有する抗体フラグメントに融合されたポリペプチド配列を含む融合タンパク質、例えばscFv融合物、例えばZymoGenetics/BMSによるBsAb、Biogen IdecによるHERCULES（US007951918）、Emergent BioSolutions/TrubionおよびZymoGenetics/BMSによるSCORPIONS、Ts2Ab（MedImmune/AZ（Dimasi, N., et al.J Mol Biol, 2009. 393（3）：p.672-92）、Genentech/RochによるscFv融合物、NovartisによるscFv融合物、ImmunomedicsによるscFv融合物、Changzhou Adam Biotech IncによるscFv融合物（CN 102250246）、RocheによるTvAb（WO 2012025525、WO 2012025530）、f-StarによるmAb^2（WO2008/003116）、および二重scFv融合物。また、抗体という用語が、別段の明記がある場合を除き、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体（ヒトモノクローナル抗体など）、抗体混合物（組換えポリクローナル）、例えばSymphogenおよびMerusによって開発された技術（Oligoclonics）によって生成するもの、WO2015/158867に記載の多量体型Fcタンパク質、WO2014/031646に記載の融合タンパク質、ならびにキメラ抗体およびヒト化抗体などの抗体様ポリペプチドも包含することも理解すべきである。生成される抗体は潜在的に任意のアイソタイプであることができる。

【００３２】

本明細書において使用される「抗原結合領域」、「抗原結合部位」または「抗原結合ドメイン」という用語は、抗体などのポリペプチドのうち、抗原に結合することができる領域を指す。この結合領域は典型的には抗体のVHドメインとVLドメインによって画定され、それらはさらに、フレームワーク領域（FR）と呼ばれる保存度の高い領域が散在している、相補性決定領域（CDR）とも呼ばれる超可変性領域（すなわち配列が超可変でありうる、かつ/または構造上明確なループを形成しうる、超可変領域）へと細分されうる。抗原は、例えば細胞、細菌またはビリオン上に存在する、ポリペプチドなどの任意の分子であることができる。

【００３３】
「細胞付随抗原（cell-associated antigen）」という用語は、本明細書において使用される場合、循環に可溶ではなく、細胞に付随している抗原を指す。一態様において、細胞付随抗原は細胞表面に位置する抗原、例えば細胞表面上に露出している抗原である。別の一態様において、細胞付随抗原は内在性膜タンパク質である。
【００３４】
「完全長抗体」という用語は、本明細書において使用される場合、該アイソタイプの野生型抗体に通常見出されるものに対応する重鎖および軽鎖の定常ドメインと可変ドメインとをすべて含有する抗体を指す。
【００３５】
本明細書において使用される「ヒト抗体」という用語は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来する可変領域と定常領域とを有する抗体を包含するものとする。本発明のヒト抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列によってコードされていないアミノ酸残基（例えばインビトロでのランダム変異導入もしくは部位特異的変異導入によって導入されるか、インビボでの体細胞変異によって導入される、変異、挿入または欠失）を含みうる。ただし、本明細書において使用される「ヒト抗体」という用語は、マウスなど別の哺乳動物種の生殖細胞系に由来するCDR配列がヒトフレームワーク配列上に移植されている抗体を包含しないものとする。
【００３６】
本明細書において使用される「キメラ抗体」という用語は、両鎖タイプが抗体工学の結果としてキメラである抗体を指す。キメラ鎖は、ヒト起源の定常領域に連結された外来可変ドメイン（非ヒト種に起源を持つか、合成物であるか、ヒトを含む任意の種から工学的に作出されたもの）を含有する鎖である。キメラ鎖の可変ドメインは、全体として分析した場合にヒトよりも非ヒト種に近いV領域アミノ酸配列を有する。
【００３７】
本明細書において使用される「ヒト化抗体」という用語は、両鎖タイプが抗体工学の結果としてヒト化されている抗体を指す。ヒト化鎖は、典型的には、可変ドメインの相補性決定領域（CDR）は外来（ヒト以外の一種に起源を持つか、合成物であるもの）であるが、その鎖の残りの部分はヒト起源を持つ鎖である。ヒト化の評価は結果として生じたアミノ酸配列に基づき、方法そのものに基づくものではないので、移植以外のプロトコールを使用することも可能である。ヒト化鎖の可変ドメインは、全体として分析した場合に他の種よりもヒトに近いV領域アミノ酸配列を有する。
【００３８】
本明細書において使用される「モノクローナル抗体」、「モノクローナルAb」、「モノクローナル抗体組成物」、「mAb」などの用語は、単一分子組成のAb分子の調製物を指す。モノクローナル抗体組成物は、ある特定エピトープに対して単一の結合特異性およびアフィニティーを呈する。したがって「ヒトモノクローナル抗体」という用語は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来する可変領域と定常領域とを有する、単一の結合特異性を呈するAbを指す。ヒトmAbは、ヒト重鎖トランスジーンレパトアおよび軽鎖トランスジーンレパトアを含むゲノムを有するトランスジェニックマウスなどのトランスジェニック非ヒト動物またはトランスクロモソーマル非ヒト動物から得られるB細胞であって、機能的ヒト抗体を生産するように再配列され、不死化細胞に融合されたB細胞を含む、ハイブリドーマによって生成されうる。
【００３９】
本明細書において使用される「アイソタイプ」という用語は、重鎖定常領域遺伝子によってコードされる免疫グロブリンクラス（例えばIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgD、IgA1、IgGA2、IgE、もしくはIgM、またはそれらの任意のアロタイプ、例えばIgG1m（za）およびIgG1m（f））を指す。さらに、各重鎖アイソタイプは、カッパ（κ）軽鎖またはラムダ（λ）軽鎖のどちらか一方と組み合わせることができる。
【００４０】

本明細書において使用される「混合アイソタイプ（mixed isotype）」という用語は、あるアイソタイプの構造的特徴を別のアイソタイプからの類似する領域と組み合わせることでハイブリッドアイソタイプを生成させることによって生成した免疫グロブリンのFc領域を指す。混合アイソタイプは、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgD、IgA1、IgGA2、IgE、またはIgMから選択される2つ以上のアイソタイプで構成された配列を有するFc領域を含みうる。これにより、例えばIgG1/IgG3、IgG1/IgG4、IgG2/IgG3またはIgG2/IgG4などの組合せが生じる。

【００４１】

本明細書において使用される「抗原」、「標的抗原」または「抗原標的」という用語は、ポリペプチドの抗原結合領域が結合するタンパク質などの分子を指す。抗原分子は1つまたは複数のエピトープを含有することができる。

【００４２】

「エピトープ」という用語は、抗体可変ドメインへの特異的結合能を有するタンパク質決定基を意味する。エピトープは通常、アミノ酸、糖側鎖またはそれらの組合せなどといった分子の表面配置からなり、通常は特異的三次元構造特徴および特異的電荷特徴を有する。コンフォメーショナルエピトープと非コンフォメーショナルエピトープは、変性溶媒の存在下では前者への結合が失われるのに対して、後者への結合は失われない点で識別される。エピトープは、結合に直接関与するアミノ酸残基（エピトープの免疫優性構成要素ともいう）と、結合に直接的には関与しない他のアミノ酸残基とを含みうる。

【００４３】

本明細書において使用される「アフィニティー」という用語は、ある分子、例えば抗体の、別の分子、例えば標的または抗原への、単一部位での結合の強さ、例えば抗原に対する抗体の個々の抗原結合部位の一価結合の強さである。

【００４４】

本明細書において使用される「アビディティー」という用語は、2つの構造間の、例えば同時に相互作用する抗体の複数の抗原結合部位と標的との間の、または例えば抗体とC1qの間の、複数の結合部位の複合的強さを指す。2つ以上の結合相互作用が存在する場合、それら2つの構造は、すべての結合部位が解離した場合にのみ解離することになるので、解離速度は個々の結合部位に関する速度より遅くなり、それにより、個々の結合部位の結合の強度（アフィニティー）と比較して、より強い有効総結合強度（アビディティー）を与える。

【００４５】

本発明における「変種」または「ポリペプチド変種」または「抗体変種」とは、参照抗体と比べて1つまたは複数の変異を含むポリペプチド分子または抗体分子である。例示的な参照抗体フォーマットとしては、野生型抗体、例えば野生型IgG1抗体、完全長抗体またはFc含有抗体フラグメント、二重特異性抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体またはそれらの任意の組合せが挙げられるが、それらに限定されるわけではない。例示的な変異として、親アミノ酸配列におけるアミノ酸の欠失、挿入およびアミノ酸の置換が挙げられる。アミノ酸置換では、ネイティブアミノ酸を別の天然アミノ酸または非天然アミノ酸誘導体と交換しうる。アミノ酸置換は保存的または非保存的でありうる。本発明において、保存的置換とは、以下の3つの表のうちの1つまたは複数に表されるアミノ酸クラス内での置換によって定義されうる。

【００４６】

保存的置換のためのアミノ酸残基クラス

酸性残基	Asp (D) および Glu (E)
塩基性残基	Lys (K), Arg (R), および His (H)
親水性非荷電残基	Ser (S), Thr (T), Asn (N), および Gln (Q)
脂肪族非荷電残基	Gly (G), Ala (A), Val (V), Leu (L), および Ile (I)
非極性非荷電残基	Cys (C), Met (M), および Pro (P)
芳香族残基	Phe (F), Tyr (Y), および Trp (W)

代替的な保存的アミノ酸置換クラス

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

アミノ酸残基の代替的な物理的および機能的分類

アルコール基含有残基	S および T
脂肪族残基	I, L, V, および M
シクロアルケニル関連残基	F, H, W, および Y
疎水性残基	A, C, F, G, H, I, L, M, R, T, V, W, および Y
負荷電残基	D および E
極性残基	C, D, E, H, K, N, Q, R, S, および T
正荷電残基	H, K, および R
小さな残基	A, C, D, G, N, P, S, T, および V
非常に小さな残基	A, G, および S
ターン形成に関与する残基	A, C, D, E, G, H, K, N, Q, R, S, P,および T
フレキシブル残基	Q, T, K, S, G, N, D, E, および R

【００４７】

本発明との関連においては、変種中の置換は次のように表示される：

元のアミノ酸-位置-置換アミノ酸。

アミノ酸残基を示すために、コードXaaおよびXを含む3文字コードまたは1文字コードが使用される。したがって「I253G」または「Ile253Gly」という表記は、その変種が、参照抗体における位置253のアミノ酸に対応する変種アミノ酸位置に、グリシンによるイソロイシンの置換を含むことを意味する。

位置そのものが抗体中に存在せず、変種がアミノ酸の挿入を含む場合は、例えば

位置-挿入されたアミノ酸という表記、例えば「253G」が使用される。

【００４８】

そのような表記は、一連の相同ポリペプチドまたは相同抗体の改変との関連において、特に適切である。

【００４９】

同様に置換アミノ酸残基の実体が重要でない場合は、次のとおりとする：

元のアミノ酸-位置、すなわち「I253」。

【００５０】
元のアミノ酸および/または置換アミノ酸が、すべてのアミノ酸ではないが、2つ以上のアミノ酸を含みうる改変、例えば位置253におけるグリシン、リジンまたはアルギニンによるイソロイシンの置換の場合、「Ile253Gly,Lys,Arg」または「I253G,K,R」または「I253G/K/R」または「I253→G,KまたはR」が、本発明との関連においては、相互可換的に使用されうる。
【００５１】
さらにまた、「置換」という用語は、他の19種の天然アミノ酸のいずれか1つへの置換、または非天然アミノ酸など、他のアミノ酸への置換を包含する。例えば、位置345におけるアミノ酸Eの置換には、以下の置換のそれぞれが含まれる：345A、345C、345D、345G、345H、345F、345I、345K、345L、345M、345N、345P、345Q、345R、345S、345T、345V、345W、および345Y。これは、345Xという指定と等価であり、ここでXは任意のアミノ酸を表す。これらの置換は、E345A、E345Cなど、またはE345A,Cなど、またはE345A/C/などと表すこともできる。本明細書において言及するどの位置での類例にも同じことがいえ、ここにはそのような置換のいずれか一つが具体的に包含される。
【００５２】
本明細書において使用する場合、選択肢または態様の間の「および/または」という用語は、考えうるすべての代替および組合せにわたるものとする。例えば「Aおよび/またはBおよび/またはC」は、以下の態様のすべてにわたるものとする：
-A
-B
-C
-AおよびB
-AおよびC
-BおよびC
-AおよびBおよびC。
【００５３】
本明細書において使用される「エフェクター細胞」という用語は、免疫応答の認識相および活性化相ではなく、免疫応答のエフェクター相に関与する免疫細胞を指す。例示的な免疫細胞としては、骨髄系起源またはリンパ系起源の細胞、例えばリンパ球（B細胞および細胞溶解性T細胞（CTL）を含むT細胞など）、キラー細胞、ナチュラルキラー細胞、マクロファージ、単球、好酸球、多形核細胞、例えば好中球、顆粒球、肥満細胞、および好塩基球が挙げられる。一部のエフェクター細胞はFc受容体（FcR）または補体受容体を発現し、特異的免疫機能を実行する。いくつかの態様において、例えばナチュラルキラー細胞などのエフェクター細胞は、ADCCを誘導することができる。例えばFcRを発現する単球、マクロファージ、好中球、樹状細胞およびクッパー細胞は、標的細胞の特異的な殺滅（killing）、および免疫系の他の構成要素への抗原の提示、または抗原を提示する細胞への結合に関与する。いくつかの態様において、ADCCは、標的細胞での活性化C3フラグメントの沈着をもたらす抗体駆動の古典的補体活性化によってさらに強化されうる。C3切断産物は、骨髄性細胞上に発現するCR3などの補体受容体（CR）に対するリガンドである。エフェクター細胞上のCRによる補体フラグメントの認識は、強化されたFc受容体媒介性ADCCを促進しうる。いくつかの態様では、抗体駆動の古典的補体活性化により、標的細胞上にC3フラグメントが生じる。これらのC3切断産物は補体依存性細胞性細胞傷害（complement-dependent cellular cytotoxicity）（CDCC）を直接促進しうる。いくつかの態様において、エフェクター細胞は標的抗原、標的粒子または標的細胞を貪食しうる。エフェクター細胞における特定FcRまたは補体受容体の発現は、サイトカインなどの体液性因子によって調節されうる。例えばFcγRIの発現は、インターフェロンγ（IFNγ）および/またはG-CSFによってアップレギュレートされることが見出されている。この強化された発現は、標的に対するFcγRI担持細胞の細胞傷害活性を増加させる。エフェクター細胞は標的抗原を貪食するか、標的細胞を貪食もしくは溶解することができる。いくつかの態様では、抗

体駆動の古典的補体活性化により、標的細胞上にC3フラグメントが生じる。これらのC3切断産物は、エフェクター細胞による直接的食作用を促進するか、抗体媒介性食作用を強化することによって間接的に促進しうる。

【００５４】

本明細書において使用する「Fc媒介性エフェクター機能」という用語は、ポリペプチドまたは抗体が細胞膜上でその標的、例えば抗原に結合した結果である機能を指すものとし、ここでFcエフェクター機能はポリペプチドまたは抗体のFc領域に起因する。Fcエフェクター機能の例としては、（ｉ）C1q結合、（ｉｉ）補体活性化、（ｉｉｉ）補体依存性細胞傷害（CDC）、（ｉｖ）抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）、（ｖ）Fcガンマ受容体結合、（ｖｉ）抗体依存性細胞食作用（ADCP）、（ｖｉｉ）補体依存性細胞性細胞傷害（CDCC）、（ｖｉｉｉ）補体増強細胞傷害（complement-enhanced cytotoxicity）、（ｉｘ）抗体によって媒介される補体オプソニン化抗体の補体受容体への結合、（ｘ）オプソニン化、および（ｘｉ）（ｉ）～（ｘ）のいずれかの組合せが挙げられる。

【００５５】

本明細書において使用される「ベクター」という用語は、ベクター中にライゲートされた核酸セグメントの転写を誘導することができる核酸分子を指す。ベクターの一タイプは「プラスミド」であり、これは環状二本鎖DNAループの形態にある。別のタイプのベクターはウイルスベクターであり、ここでは核酸セグメントをウイルスゲノム中にライゲートすることができる。

【００５６】

「宿主細胞」という用語は、トランスフェクションなどによって発現ベクターが導入された細胞を指す。このような用語は、その特定対象細胞だけでなく、そのような細胞の子孫も指すものであると、理解すべきである。宿主細胞としては、例えばCHO細胞、HEK-293細胞、PER.C6、NS0細胞、およびリンパ球系細胞、ならびに大腸菌などの原核細胞、ならびに植物細胞および真菌などの他の真核宿主が挙げられる。

【００５７】

本明細書において使用される「オリゴマー」という用語は、少なくとも原理上は無制限な数の単量体からなるポリマーとは異なり、2つ以上ではあるが限られた数の単量体単位（例えば抗体）からなる分子を指す。例示的なオリゴマーは二量体、三量体、四量体、五量体および六量体である。オリゴマー中の単量体単位の数を指定するにはギリシャ語の接頭辞が使用されることが多く、例えばテトラマー（四量体）は4つの単離で構成され、ヘキサマー（六量体）は6つの単位で構成される。

【００５８】

本明細書において使用される「オリゴマー化」という用語は、単量体を限定された重合度に変換するプロセスを指すものとする。ここで、本発明の標的結合領域を含む抗体は、例えば細胞表面などでの標的結合後に、Fc領域の非共有結合的会合によって六量体などのオリゴマーを形成できることが観察される。本願に関して、「自己オリゴマー化」（self-oligomerization）、「オートオリゴマー化」（auto-oligomerization）または「ホモオリゴマー化」という用語は、相互可換的に使用することができ、翻訳後改変は考慮に入れずに同一であるタンパク質配列を有する抗体分子間のオリゴマー化のプロセスを指すものとする。本明細書において使用される「ヘテロオリゴマー化」という用語は、翻訳後改変は考慮に入れずに異なるタンパク質配列を有する抗体分子間のオリゴマー化のプロセスを指すものとする。ヘテロオリゴマー化に参加する異なる抗体は、例えば異なる標的タンパク質、異なる標的糖タンパク質、異なる標的グリカン、または異なる標的糖脂質などといった、異なる抗原に結合しうる。

【００５９】

「自己オリゴマー化阻害性置換」という用語は、免疫グロブリンのFc領域と抗原結合領域とを含むポリペプチド中の置換であって、翻訳後改変は考慮に入れずに同一であるタンパク質配列を有する抗体分子間のオリゴマー化のプロセスを阻害する置換を指すものとする。自己オリゴマー化の阻害は、実施例5および実施例9に記載の方法に従って測定した場

合に、抗体のCDC活性のEC50の増加または最大CDC溶解活性の低減として例証することができる。

【００６０】

本明細書において使用される「クラスター化」という用語は、非共有結合相互作用による抗体、ポリペプチド、抗原または他のタンパク質のオリゴマー化を指すものとする。

【００６１】

本明細書において使用される「共依存性」という用語は、自己オリゴマー化阻害性置換を持つ2つ以上の異なるポリペプチドの同じ細胞上の標的への同時結合に依存する機能的効果を指すものとする。本発明との関連において、CDC活性などの機能的効果は、第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドの同時結合に依存しうる。すなわちその効果は共依存性であるといわれる。したがって、自己オリゴマー化阻害性置換を有する第1ポリペプチドのCDC活性などのエフェクター機能は、自己オリゴマー化阻害性置換を有する第2ポリペプチドの結合に依存し、ここで、該自己オリゴマー化置換が相補的であるならば共依存性エフェクター機能が存在する。

【００６２】

本明細書において使用する場合、2つの抗原に関連して、「共在する（co-located）」またはその文法上の変形は、一つには、2つの抗原が同じ細胞上に同時発現される状況を指すものとそる。抗原は細胞上で既に互いに隣接しているか、または本発明の結合ポリペプチド、例えば抗体のオリゴマー化によって寄せ集められる。さらにまた、「共在する」は、2つの抗原が異なる細胞上に発現しているが、そのような細胞が互いに近接して位置している状況も指すものとする。

【００６３】

本明細書において使用される「補体活性化」という用語は、古典的補体経路の活性化を指し、これは、C1と呼ばれる大きな高分子複合体が表面上の抗体-抗原複合体に結合することによって開始される。C1は、6つのヘテロ三量体サブユニットで構成される認識タンパク質C1qと、セリンプロテアーゼのヘテロ四量体C1r2C1s2とからなる複合体である。C1は、C4のC4aおよびC4bへの切断およびC2のC2aおよびC2bへの切断で始まる一連の切断反応を伴う古典的補体カスケードの初期イベントにおける最初のタンパク質複合体である。C4bは沈着してC2aと一緒に、C3コンバターゼと呼ばれる酵素的に活性なコンバターゼを形成し、それが補体成分C3をC3bおよびC3aに切断して、それがC5コンバターゼを形成する。このC5コンバターゼはC5をC5aとC5bに開裂させる。最後の構成要素は膜上に沈着し、次にそれが、終末補体成分C5b、C6、C7、C8およびC9が膜侵襲複合体（MAC）に集合する補体活性化の最後のイベントをトリガーする。この補体カスケードは小孔の生成をもたらし、それによって、補体依存性細胞傷害（CDC）としても公知の細胞溶解が起こる。補体活性化は、C1q効力（C1q efficacy）またはCDCカイネティクス（CDC kinetics）CDCアッセイ（WO2013/004842、WO2014/108198に記載）を使用するか、またはBeurskens et al April 1,2012 vol.188 no.7 3532-3541に記載のC3bおよびC4bの細胞沈着の方法によって評価することができる。

【００６４】

本明細書において使用される「補体依存性細胞傷害」（「CDC」）という用語は、抗体が細胞またはビリオン上のその標的に結合したときに、MACアセンブリによって作り出される膜中の小孔の結果として起こる細胞またはビリオンの溶解につながる、抗体媒介性補体活性化のプロセスを指すものとする。CDCは、正常ヒト血清を補体源として、実施例2、3、4、5および6に記載するように抗体濃度系列と共に、またはC1q濃度系列において使用する、CDCアッセイなどのインビトロアッセイによって評価することができる。

【００６５】

本明細書において使用される「抗体依存性細胞媒介性細胞傷害」（「ADCC」）という用語は、抗体で被覆された標的細胞または標的ビリオンの、結合した抗体のFc領域を認識するFc受容体を発現する細胞による殺滅の機序を指すものとする。ADCCは、クロム放出ADCCアッセイまたは発光ADCCレポーターバイオアッセイなどのインビトロ法を使って決定する

ことができる。

【００６６】

本明細書において使用される「抗体-薬物コンジュゲート」という用語は、少なくとも1タイプの悪性細胞に対する特異性と、薬物と、薬物を例えば抗体にカップリングするリンカーとを有する抗体またはFc含有ポリペプチドを指す。リンカーは悪性細胞の存在下で切断可能または切断不能であり、抗体-薬物コンジュゲートは悪性細胞を殺す。

【００６７】

本明細書において使用される「抗体-薬物コンジュゲート取込み」という用語は、抗体-薬物コンジュゲートが細胞上の標的に結合した後、細胞膜による取込み/巻込み（engulfment）が起こり、それによって細胞中に引き込まれるプロセスを指す。抗体-薬物コンジュゲート取込みは、WO 2011/157741に記載の「インビトロ殺滅アッセイにおける抗TF ADCによる抗体媒介性内部移行および細胞殺滅」のように評価しうる。

【００６８】

本明細書において使用される「デス受容体」という用語は、DR1、DR2（FASとしても公知である）、DR3、DR4、DR5、DR6、EDARおよびNGFRを含む、細胞内デスドメインを含む腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリー（TNFR-SF）のメンバーを指す。ヒトにおいて、DR1タンパク質はアミノ酸配列UniprotKB/Swissprot P19438をコードする核酸配列によってコードされ、DR2タンパク質はアミノ酸配列UniprotKB/Swissprot P25445をコードする核酸配列によってコードされ、DR3タンパク質はアミノ酸配列UniprotKB/Swissprot Q93038をコードする核酸配列によってコードされ、DR4タンパク質はアミノ酸配列UniprotKB/Swissprot 000220をコードする核酸配列によってコードされ、DR5タンパク質はアミノ酸配列UniprotKB/Swissprot 014763をコードする核酸配列によってコードされ、DR6タンパク質はアミノ酸配列UniprotKB/Swissprot 075509をコードする核酸配列によってコードされ、EDARタンパク質はアミノ酸配列UniprotKB/Swissprot Q9UNE0をコードする核酸配列によってコードされ、NGFRタンパク質はアミノ酸配列UniprotKB/Swissprot P08138をコードする核酸配列によってコードされる。デスドメイン（DD）は、デスドメインスーパーファミリーに属する周知のタンパク質相互作用モジュールである（Park Apoptosis.2011 Mar；16（3）：209-20）。

【００６９】

本発明のさらなる局面および態様

上で説明したように、本発明は、ヘテロオリゴマー化がホモオリゴマー化よりも有利になるようにそれぞれのFc領域が改変されている2種の変種Fc領域含有ポリペプチド、第1変種ポリペプチドと第2変種ポリペプチド、典型的には変種抗体が関わる併用処置に向けられる。すなわち、第1変種分子と第2変種分子との間のオリゴマー化は、第1変種分子と第1変種分子との間でのオリゴマー化または第2変種分子と第2変種分子との間でのオリゴマー化よりも有利になる。これは、本明細書にさらに詳述するように、ヒトIgG1のFc領域中の253、310、436、438、439および/または440に対応する位置の改変を導入することによって達成することができる。

【００７０】

したがって本発明は、その必要がある対象に、ヒトIgGの第1Fc領域と第1抗原に結合することができる第1抗原結合領域とを含む第1ポリペプチドを、ヒトIgGの第2Fc領域と第2抗原に結合することができる第2抗原結合領域とを含む第2ポリペプチドと組み合わせて投与する工程を含む、疾患または障害を処置する方法に関し、

(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KまたはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

かつ/または
(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436QまたはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KまたはY436R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438KまたはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、
かつ/または
(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、
ここでアミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応する。
【００７１】
本発明の一局面において、第1ポリペプチドはヒトIgG3中のF436に対応するアミノ酸位置のF436N、F436K、F436QまたはF436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG3中のF436に対応するアミノ酸位置のF436NまたはF436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG3中のF436に対応するアミノ酸位置のF436KまたはF436R変異を含むか、またはその逆である。
【００７２】
EUナンバリングで位置436におけるアミノ酸は、IgG1とIgG3との間で保存されていない。したがって、IgG1中のアミノ酸位置436はチロシン（Y）であり、一方、IgG3中のアミノ酸位置436はフェニルアラニン（F）である。
【００７３】
本発明の方法の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436QまたはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KまたはY436R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438KまたはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、
ここでアミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応する。
【００７４】
本発明の方法の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436QまたはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ここでアミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応する。

【００７５】
本発明の方法の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436K変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438RまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ここでアミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応する。
【００７６】
上で説明したように、Fc領域はヒトIgG1のものであることができるが、異なるヒトIgG、例えばIgG2、IgG3またはIgG4のものであることもできる。図1に、ヒトIgG2、IgG3およびIgG4中のどの位置がIgG1中のどの位置に対応するかを示す。
【００７７】
本発明において使用されるポリペプチドのFc領域は、抗体のそれのように、2つの重鎖で構成される。Fc領域中の一定の変異が指定された場合に、該変異はFc領域の両方の鎖に存在すると理解されるべきである。
【００７８】
本発明の方法の一態様において、
(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KまたはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
かつ/または
(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
かつ/または
(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である。
【００７９】
本発明の方法の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436K変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438R変異を含むか、またはその逆である。
【００８０】
本発明の方法の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438R変異を含むか、またはその逆である。
【００８１】

本発明の方法の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆である。

【００８２】

本発明の方法の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ436に対応するアミノ酸位置のQ436K変異を含むか、またはその逆である。

【００８３】

本発明の方法の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438R変異を含むか、またはその逆である。

【００８４】

本発明の方法の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆である。

【００８５】

本発明の方法の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆である。

【００８６】

本発明の方法の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のY438N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆である。

【００８７】

本発明の方法の別の一態様において、

(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KまたはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

かつ

(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436QまたはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KまたはY436R変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438KまたはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチ

ドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆である。

【００８８】

本発明の方法の別の一態様において、

(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KまたはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

かつ

(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である。

【００８９】

本発明の方法の別の一態様において、

(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436QまたはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KまたはY436R変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438KまたはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、

かつ

(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である。

【００９０】

本発明の方法の別の一態様において、

(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KまたはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

かつ

(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436QまたはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KまたはY436R変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438KまたはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、

かつ

(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である。

【００９１】

本発明の方法のさらなる一態様において、第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドは選択肢（c）において指定される変異を含まないが、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異をさらに含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異をさらに含むか、またはその逆である。

【００９２】

本発明の方法の別の一態様において、

(i) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

(ii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

または

(iii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(iv) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(v）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、

または

(vi）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(vii）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、

または

(viii）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

(ix）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

または

(x）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xi）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xii）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xiii）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置の

H310D変異を含むか、またはその逆であり、
または
(xiv) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、
または
(xv) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、
または
(xvi) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、
または
(xvii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
または
(xviii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、
または
(xix) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、
または
(xx) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位

置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、
または
(xxi) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、
または
(xxii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である。

【００９３】

本発明の方法の好ましい態様において、
(i) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、
または
(ii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
または
(iii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、
または
(iv) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、
または
(v) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
または
(vi) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
かつ
(vii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である。

【００９４】

本発明の方法の一態様において、
(i) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436K変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438R変異を含むか、またはその逆であり、かつ
(ii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である。

【００９５】
本発明の方法の一態様において、
（ｉ）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、かつ
（ｉｉ）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である。
【００９６】
本発明の方法の一態様において、
（ｉ）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のY438N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、かつ
（ｉｉ）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である。
【００９７】
以下の表は、特異的変異を持つ第1ポリペプチドと第2ポリペプチドとの組合せを記載した本発明の方法の態様の非限定的一覧である。したがって例えば下記表の態様1は、ヒトIgG1中のそれぞれI253およびK439に対応する位置にI253G変異およびK439E変異を含む第1ポリペプチドと、ヒトIgG1中のそれぞれH310およびS440に対応する位置にH310R変異およびS440K変異を含む第2ポリペプチドとの組合せである。本明細書に記載するとおり、態様1～288のすべての第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドは、任意で、オリゴマー化強化変異、例えばE430Gなどといった、さらなる変異を含むことができる。

態様	第1ポリペプチドの変異	第2ポリペプチドの変異
1	I253G K439E	H310R S440K
2	I253G Y436N K439E	H310R Q438R S440K
3	I253G Y436N K439E	H310R Q438K S440K
4	I253G Y436N K439E	H310R Q438H S440K
5	I253G Y436N K439E	H310R Q438G S440K
6	I253G Y436N K439E	H310R Q438N S440K
7	H310R Y436N K439E	I253G Q438R S440K
8	H310R Y436N K439E	I253G Q438K S440K
9	H310R Y436N K439E	I253G Q438H S440K
10	H310R Y436N K439E	I253G Q438G S440K
11	H310R Y436N K439E	I253G Q438N S440K
12	I253G Y436K K439E	H310R Q438R S440K
13	I253G Y436K K439E	H310R Q438K S440K
14	I253G Y436K K439E	H310R Q438H S440K
15	I253G Y436K K439E	H310R Q438G S440K
16	I253G Y436K K439E	H310R Q438N S440K
17	H310R Y436K K439E	I253G Q438R S440K
18	H310R Y436K K439E	I253G Q438K S440K
19	H310R Y436K K439E	I253G Q438H S440K
20	H310R Y436K K439E	I253G Q438G S440K
21	H310R Y436K K439E	I253G Q438N S440K
22	I253G Y436Q K439E	H310R Q438R S440K
23	I253G Y436Q K439E	H310R Q438K S440K
24	I253G Y436Q K439E	H310R Q438H S440K
25	I253G Y436Q K439E	H310R Q438G S440K
26	I253G Y436Q K439E	H310R Q438N S440K
27	H310R Y436Q K439E	I253G Q438R S440K
28	H310R Y436Q K439E	I253G Q438K S440K
29	H310R Y436Q K439E	I253G Q438H S440K
30	H310R Y436Q K439E	I253G Q438G S440K
31	H310R Y436Q K439E	I253G Q438N S440K
32	I253G Y436R K439E	H310R Q438R S440K

33	I253G Y436R K439E	H310R Q438K S440K
34	I253G Y436R K439E	H310R Q438H S440K
35	I253G Y436R K439E	H310R Q438G S440K
36	I253G Y436R K439E	H310R Q438N S440K
37	H310R Y436R K439E	I253G Q438R S440K
38	H310R Y436R K439E	I253G Q438K S440K
39	H310R Y436R K439E	I253G Q438H S440K
40	H310R Y436R K439E	I253G Q438G S440K
41	H310R Y436R K439E	I253G Q438N S440K
42	I253G S440K	H310R K439E
43	I253G Y436N S440K	H310R Q438R K439E
44	I253G Y436N S440K	H310R Q438K K439E
45	I253G Y436N S440K	H310R Q438H K439E
46	I253G Y436N S440K	H310R Q438G K439E
47	I253G Y436N S440K	H310R Q438N K439E
48	H310R Y436N S440K	I253G Q438R K439E
49	H310R Y436N S440K	I253G Q438K K439E
50	H310R Y436N S440K	I253G Q438H K439E
51	H310R Y436N S440K	I253G Q438G K439E
52	H310R Y436N S440K	I253G Q438N K439E
53	I253G Y436K S440K	H310R Q438R K439E
54	I253G Y436K S440K	H310R Q438K K439E
55	I253G Y436K S440K	H310R Q438H K439E
56	I253G Y436K S440K	H310R Q438G K439E
57	I253G Y436K S440K	H310R Q438N K439E
58	H310R Y436K S440K	I253G Q438R K439E
59	H310R Y436K S440K	I253G Q438K K439E
60	H310R Y436K S440K	I253G Q438H K439E
61	H310R Y436K S440K	I253G Q438G K439E
62	H310R Y436K S440K	I253G Q438N K439E
63	I253G Y436Q S440K	H310R Q438R K439E
64	I253G Y436Q S440K	H310R Q438K K439E
65	I253G Y436Q S440K	H310R Q438H K439E
66	I253G Y436Q S440K	H310R Q438G K439E

67	I253G Y436Q S440K	H310R Q438N K439E
68	H310R Y436Q S440K	I253G Q438R K439E
69	H310R Y436Q S440K	I253G Q438K K439E
70	H310R Y436Q S440K	I253G Q438H K439E
71	H310R Y436Q S440K	I253G Q438G K439E
72	H310R Y436Q S440K	I253G Q438N K439E
73	I253G Y436R S440K	H310R Q438R K439E
74	I253G Y436R S440K	H310R Q438K K439E
75	I253G Y436R S440K	H310R Q438H K439E
76	I253G Y436R S440K	H310R Q438G K439E
77	I253G Y436R S440K	H310R Q438N K439E
78	H310R Y436R S440K	I253G Q438R K439E
79	H310R Y436R S440K	I253G Q438K K439E
80	H310R Y436R S440K	I253G Q438H K439E
81	H310R Y436R S440K	I253G Q438G K439E
82	H310R Y436R S440K	I253G Q438N K439E
83	I253R K439E	H310D S440K
84	I253R Y436N K439E	H310D Q438R S440K
85	I253R Y436N K439E	H310D Q438K S440K
86	I253R Y436N K439E	H310D Q438H S440K
87	I253R Y436N K439E	H310D Q438G S440K
88	I253R Y436N K439E	H310D Q438N S440K
89	H310D Y436N K439E	I253R Q438R S440K
90	H310D Y436N K439E	I253R Q438K S440K
91	H310D Y436N K439E	I253R Q438H S440K
92	H310D Y436N K439E	I253R Q438G S440K
93	H310D Y436N K439E	I253R Q438N S440K
94	I253R Y436K K439E	H310D Q438R S440K
95	I253R Y436K K439E	H310D Q438K S440K
96	I253R Y436K K439E	H310D Q438H S440K
97	I253R Y436K K439E	H310D Q438G S440K
98	I253R Y436K K439E	H310D Q438N S440K
99	H310D Y436K K439E	I253R Q438R S440K
100	H310D Y436K K439E	I253R Q438K S440K

101	H310D Y436K K439E	I253R Q438H S440K
102	H310D Y436K K439E	I253R Q438G S440K
103	H310D Y436K K439E	I253R Q438N S440K
104	I253R Y436Q K439E	H310D Q438R S440K
105	I253R Y436Q K439E	H310D Q438K S440K
106	I253R Y436Q K439E	H310D Q438H S440K
107	I253R Y436Q K439E	H310D Q438G S440K
108	I253R Y436Q K439E	H310D Q438N S440K
109	H310D Y436Q K439E	I253R Q438R S440K
110	H310D Y436Q K439E	I253R Q438K S440K
111	H310D Y436Q K439E	I253R Q438H S440K
112	H310D Y436Q K439E	I253R Q438G S440K
113	H310D Y436Q K439E	I253R Q438N S440K
114	I253R Y436R K439E	H310D Q438R S440K
115	I253R Y436R K439E	H310D Q438K S440K
116	I253R Y436R K439E	H310D Q438H S440K
117	I253R Y436R K439E	H310D Q438G S440K
118	I253R Y436R K439E	H310D Q438N S440K
119	H310D Y436R K439E	I253R Q438R S440K
120	H310D Y436R K439E	I253R Q438K S440K
121	H310D Y436R K439E	I253R Q438H S440K
122	H310D Y436R K439E	I253R Q438G S440K
123	H310D Y436R K439E	I253R Q438N S440K
124	I253R S440K	H310D K439E
125	I253R Y436N S440K	H310D Q438R K439E
126	I253R Y436N S440K	H310D Q438K K439E
127	I253R Y436N S440K	H310D Q438H K439E
128	I253R Y436N S440K	H310D Q438G K439E
129	I253R Y436N S440K	H310D Q438N K439E
130	H310D Y436N S440K	I253R Q438R K439E
131	H310D Y436N S440K	I253R Q438K K439E
132	H310D Y436N S440K	I253R Q438H K439E
133	H310D Y436N S440K	I253R Q438G K439E
134	H310D Y436N S440K	I253R Q438N K439E

135	I253R Y436K S440K	H310D Q438R K439E
136	I253R Y436K S440K	H310D Q438K K439E
137	I253R Y436K S440K	H310D Q438H K439E
138	I253R Y436K S440K	H310D Q438G K439E
139	I253R Y436K S440K	H310D Q438N K439E
140	H310D Y436K S440K	I253R Q438R K439E
141	H310D Y436K S440K	I253R Q438K K439E
142	H310D Y436K S440K	I253R Q438H K439E
143	H310D Y436K S440K	I253R Q438G K439E
144	H310D Y436K S440K	I253R Q438N K439E
145	I253R Y436Q S440K	H310D Q438R K439E
146	I253R Y436Q S440K	H310D Q438K K439E
147	I253R Y436Q S440K	H310D Q438H K439E
148	I253R Y436Q S440K	H310D Q438G K439E
149	I253R Y436Q S440K	H310D Q438N K439E
150	H310D Y436Q S440K	I253R Q438R K439E
151	H310D Y436Q S440K	I253R Q438K K439E
152	H310D Y436Q S440K	I253R Q438H K439E
153	H310D Y436Q S440K	I253R Q438G K439E
154	H310D Y436Q S440K	I253R Q438N K439E
155	I253R Y436R S440K	H310D Q438R K439E
156	I253R Y436R S440K	H310D Q438K K439E
157	I253R Y436R S440K	H310D Q438H K439E
158	I253R Y436R S440K	H310D Q438G K439E
159	I253R Y436R S440K	H310D Q438N K439E
160	H310D Y436R S440K	I253R Q438R K439E
161	H310D Y436R S440K	I253R Q438K K439E
162	H310D Y436R S440K	I253R Q438H K439E
163	H310D Y436R S440K	I253R Q438G K439E
164	H310D Y436R S440K	I253R Q438N K439E
165	I253K K439E	H310D S440K
166	I253K Y436N K439E	H310D Q438R S440K
167	I253K Y436N K439E	H310D Q438K S440K
168	I253K Y436N K439E	H310D Q438H S440K

169	I253K Y436N K439E	H310D Q438G S440K
170	I253K Y436N K439E	H310D Q438N S440K
171	H310D Y436N K439E	I253K Q438R S440K
172	H310D Y436N K439E	I253K Q438K S440K
173	H310D Y436N K439E	I253K Q438H S440K
174	H310D Y436N K439E	I253K Q438G S440K
175	H310D Y436N K439E	I253K Q438N S440K
176	I253K Y436K K439E	H310D Q438R S440K
177	I253K Y436K K439E	H310D Q438K S440K
178	I253K Y436K K439E	H310D Q438H S440K
179	I253K Y436K K439E	H310D Q438G S440K
180	I253K Y436K K439E	H310D Q438N S440K
181	H310D Y436K K439E	I253K Q438R S440K
182	H310D Y436K K439E	I253K Q438K S440K
183	H310D Y436K K439E	I253K Q438H S440K
184	H310D Y436K K439E	I253K Q438G S440K
185	H310D Y436K K439E	I253K Q438N S440K
186	I253K Y436Q K439E	H310D Q438R S440K
187	I253K Y436Q K439E	H310D Q438K S440K
188	I253K Y436Q K439E	H310D Q438H S440K
189	I253K Y436Q K439E	H310D Q438G S440K
190	I253K Y436Q K439E	H310D Q438N S440K
191	H310D Y436Q K439E	I253K Q438R S440K
192	H310D Y436Q K439E	I253K Q438K S440K
193	H310D Y436Q K439E	I253K Q438H S440K
194	H310D Y436Q K439E	I253K Q438G S440K
195	H310D Y436Q K439E	I253K Q438N S440K
196	I253K Y436R K439E	H310D Q438R S440K
197	I253K Y436R K439E	H310D Q438K S440K
198	I253K Y436R K439E	H310D Q438H S440K
199	I253K Y436R K439E	H310D Q438G S440K
200	I253K Y436R K439E	H310D Q438N S440K
201	H310D Y436R K439E	I253K Q438R S440K
202	H310D Y436R K439E	I253K Q438K S440K

203	H310D Y436R K439E	I253K Q438H S440K
204	H310D Y436R K439E	I253K Q438G S440K
205	H310D Y436R K439E	I253K Q438N S440K
206	I253K S440K	H310D K439E
207	I253K Y436N S440K	H310D Q438R K439E
208	I253K Y436N S440K	H310D Q438K K439E
209	I253K Y436N S440K	H310D Q438H K439E
210	I253K Y436N S440K	H310D Q438G K439E
211	I253K Y436N S440K	H310D Q438N K439E
212	H310D Y436N S440K	I253K Q438R K439E
213	H310D Y436N S440K	I253K Q438K K439E
214	H310D Y436N S440K	I253K Q438H K439E
215	H310D Y436N S440K	I253K Q438G K439E
216	H310D Y436N S440K	I253K Q438N K439E
217	I253K Y436K S440K	H310D Q438R K439E
218	I253K Y436K S440K	H310D Q438K K439E
219	I253K Y436K S440K	H310D Q438H K439E
220	I253K Y436K S440K	H310D Q438G K439E
221	I253K Y436K S440K	H310D Q438N K439E
222	H310D Y436K S440K	I253K Q438R K439E
223	H310D Y436K S440K	I253K Q438K K439E
224	H310D Y436K S440K	I253K Q438H K439E
225	H310D Y436K S440K	I253K Q438G K439E
226	H310D Y436K S440K	I253K Q438N K439E
227	I253K Y436Q S440K	H310D Q438R K439E
228	I253K Y436Q S440K	H310D Q438K K439E
229	I253K Y436Q S440K	H310D Q438H K439E
230	I253K Y436Q S440K	H310D Q438G K439E
231	I253K Y436Q S440K	H310D Q438N K439E
232	H310D Y436Q S440K	I253K Q438R K439E
233	H310D Y436Q S440K	I253K Q438K K439E
234	H310D Y436Q S440K	I253K Q438H K439E
235	H310D Y436Q S440K	I253K Q438G K439E
236	H310D Y436Q S440K	I253K Q438N K439E

237	I253K Y436R S440K	H310D Q438R K439E
238	I253K Y436R S440K	H310D Q438K K439E
239	I253K Y436R S440K	H310D Q438H K439E
240	I253K Y436R S440K	H310D Q438G K439E
241	I253K Y436R S440K	H310D Q438N K439E
242	H310D Y436R S440K	I253K Q438R K439E
243	H310D Y436R S440K	I253K Q438K K439E
244	H310D Y436R S440K	I253K Q438H K439E
245	H310D Y436R S440K	I253K Q438G K439E
246	H310D Y436R S440K	I253K Q438N K439E
247	Y436N K439E	Q438R S440K
248	Y436N K439E	Q438K S440K
249	Y436N K439E	Q438H S440K
250	Y436N K439E	Q438G S440K
251	Y436N K439E	Q438N S440K
252	Y436K K439E	Q438R S440K
253	Y436K K439E	Q438K S440K
254	Y436K K439E	Q438H S440K
255	Y436K K439E	Q438G S440K
256	Y436K K439E	Q438N S440K
257	Y436Q K439E	Q438R S440K
258	Y436Q K439E	Q438K S440K
259	Y436Q K439E	Q438H S440K
260	Y436Q K439E	Q438G S440K
261	Y436Q K439E	Q438N S440K
262	Y436R K439E	Q438R S440K
263	Y436R K439E	Q438K S440K
264	Y436R K439E	Q438H S440K
265	Y436R K439E	Q438G S440K
266	Y436R K439E	Q438N S440K
267	Y436N S440K	Q438R K439E
268	Y436N S440K	Q438K K439E
269	Y436N S440K	Q438H K439E
270	Y436N S440K	Q438G K439E

271	Y436N S440K	Q438N K439E
272	Y436K S440K	Q438R K439E
273	Y436K S440K	Q438K K439E
274	Y436K S440K	Q438H K439E
275	Y436K S440K	Q438G K439E
276	Y436K S440K	Q438N K439E
277	Y436Q S440K	Q438R K439E
278	Y436Q S440K	Q438K K439E
279	Y436Q S440K	Q438H K439E
280	Y436Q S440K	Q438G K439E
281	Y436Q S440K	Q438N K439E
282	Y436R S440K	Q438R K439E
283	Y436R S440K	Q438K K439E
284	Y436R S440K	Q438H K439E
285	Y436R S440K	Q438G K439E
286	Y436R S440K	Q438N K439E
287	Q438N S440K	Q438R K439E
288	Q438R S440K	Q438N K439E

【００９８】

任意のさらなる改変

いくつかの態様では、本発明において使用される一方または両方のポリペプチドが、六量体化などのオリゴマー化を強化するさらなる変異を含む。そのような変異は例えばWO2013/004842およびWO2014/108198に記載されている。そのようなさらなる変異を含めることにより、ヘテロ六量体などのヘテロオリゴマーを形成する第1ポリペプチドと第2ポリペプチドの傾向が、より一層強化されるだろう。ポリペプチド間のFc-Fc相互作用を強化し、それによってオリゴマー形成を強化するアミノ酸変異の例は、E430G、E345K、E430S、E430F、E430T、E345Q、E345R、E345Y、S440W、S440Y、T437RおよびK248Eである。したがってそのような変異は六量体形成などのオリゴマー形成を促進または強化し、それらをFc-Fc相互作用強化変異、六量体化強化変異または自己オリゴマー化強化変異と記載することもできる。

【００９９】

したがっていくつかの態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のE430、E345、S440、T437またはK248に対応するアミノ酸位置の変異をさらに含み、かつ/または第2ポリペプチドはヒトIgG1中のE430、E345、S440、T437またはK248に対応するアミノ酸位置の変異をさらに含むか、またはその逆である。ただし、第1ポリペプチドまたは第2ポリペプチドがK439E、K439D、S440K、S440RまたはS440H変異を含む場合、該ポリペプチド中の該さらなる変異は、位置S440にはないものとする。

【０１００】

これらの対応の一部において、第1ポリペプチド中の該さらなる変異は、E430G、E345K、E430S、E430F、E430T、E345Q、E345R、E345Y、S440WおよびS440Yからなる群より選択される。

【０１０１】

これらの対応の一部において、第2ポリペプチド中の該さらなる変異は、E430G、E345K、E430S、E430F、E430T、E345Q、E345R、E345Y、S440WおよびS440Yからなる群より選択される。

【０１０２】
これらの対応の一部において、第1ポリペプチド中の該さらなる変異はE430G、E345K、E430S、E430F、E430T、E345Q、E345R、E345Y、S440WおよびS440Yからなる群より選択され、かつ第2ポリペプチド中の該さらなる変異はE430G、E345K、E430S、E430F、E430T、E345Q、E345R、E345Y、S440WおよびS440Yからなる群より選択され、
かつ/または
第1ポリペプチドはT437R変異およびK248E変異を含み、かつ/または第2ポリペプチドはT437R変異およびK248E変異を含む。
【０１０３】
いくつかの態様において、第1ポリペプチド中の該さらなる変異はE430G、E345KおよびE345Rからなる群より選択され、かつ第2ポリペプチド中の該さらなる変異はE430G、E345KおよびE345Kからなる群より選択される。さらなる変異は、第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドのための群から独立して選択されうる。
【０１０４】
いくつかの態様において、第1ポリペプチド中の該さらなる変異はE430GおよびE345Kからなる群より選択され、かつ第2ポリペプチド中の該さらなる変異はE430GおよびE345Kからなる群より選択される。好ましい一態様において、第1ポリペプチド中の該さらなる変異はE430Gであり、第2ポリペプチド中の該さらなる変異はE430Gである。一態様において、第1ポリペプチド中の該さらなる変異はE345Kであり、第2ポリペプチド中の該さらなる変異はE345Kである。一態様において、第1ポリペプチド中の該さらなる変異はE345Rであり、第2ポリペプチド中の該さらなる変異はE345Rである。
【０１０５】
一態様において、第1ポリペプチドはT437R変異およびK248E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはT437R変異およびK248E変異を含む。
【０１０６】
本発明の一態様において、第1ポリペプチドはE430G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはE430G変異を含む。
【０１０７】
本発明の別の一態様において、
(i) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、
または
(ii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
または
(iii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、
または
(iv) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、
または
(v) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
または
(vi) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み

、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
かつ
(vii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、
かつ
(viii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK430またはE345に対応するアミノ酸位置のE430G、E345KまたはE345R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のK430またはE345に対応するアミノ酸位置のE430G、E345KまたはE345R変異を含むか、またはその逆である。

【０１０８】
E430G、E345KまたはE345R変異は、第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドについて、独立して選択されうる。したがって第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドは、E430G、E345KまたはE345Rからなる群より選択される同じ変異または異なる変異を有する。

【０１０９】
本発明の別の一態様において、
(i) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436K変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438R変異を含むか、またはその逆であり、かつ
(ii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、かつ
(iii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK430またはE345に対応するアミノ酸位置のE430GまたはE345K変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のK430またはE345に対応するアミノ酸位置のE430GまたはE345R変異を含むか、またはその逆である。

【０１１０】
本発明の別の一態様において、
(i) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436K変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438R変異を含むか、またはその逆であり、かつ
(ii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、かつ
(iii) 第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドはヒトIgG1中のK430に対応するアミノ酸位置のE430G変異を含む。

【０１１１】
本発明の別の一態様において、第1ポリペプチドはY436N、K439EおよびE430G変異を含み、アミノ酸位置はヒトIgG1中のそれぞれY436、K439およびE430に対応し、かつ第2ポリペプチドはQ438R、S440KおよびE430G変異を含み、アミノ酸位置はヒトIgG1中のQ438、S440およびE430に対応するか、またはその逆である。

【０１１２】
本発明の別の一態様において、第1ポリペプチドはY436K、K439EおよびE430G変異を含み、アミノ酸位置はヒトIgG1中のそれぞれY436、K439およびE430に対応し、かつ第2ポリペプチドはQ438N、S440KおよびE430G変異を含み、アミノ酸位置はヒトIgG1中のQ438、S440およびE430に対応するか、またはその逆である。

【０１１３】
本発明の別の一態様において、第1ポリペプチドはY436K、K439EおよびE430G変異を含み、アミノ酸位置はヒトIgG1中のそれぞれY436、K439およびE430に対応し、かつ第2ポリペプチドはQ438R、S440KおよびE430G変異を含み、アミノ酸位置はヒトIgG1中のQ438、S440およびE430に対応するか、またはその逆である。

【０１１４】
いくつかの態様では、本発明において使用される一方または両方のポリペプチドが、エフェクター機能、例えばCDCまたはADCCなどのFc媒介性エフェクター機能を誘導または媒介するポリペプチドの能力を変化させるさらなる変異を含む。そのような能力の変化は、エフェクター機能を誘導する能力の増加、またはエフェクター機能を誘導する能力の減少であることができる。いくつかの態様において、本発明で使用される一方または両方のポリペプチドは、Fcガンマ受容体に結合するポリペプチドの能力を変化させるさらなる変異を含む。エフェクター機能を誘導する抗体の能力および/またはFcガンマ受容体に結合する抗体の能力を変化させる変異は当技術分野において記載されている。そのようなさらなる変異を含めることにより、エフェクター機能を誘導する第1変種ポリペプチドおよび第2変種ポリペプチドの傾向が増加または減少し、よって所与の状況において望まれるものに応じて調整されうる。例えばヘテロオリゴマーの効力をより一層増進するために、CDCを誘導するポリペプチドの能力を増加させる変異を導入することが望ましい場合がある。他のいくつかの状況では、例えば、CDCを誘導する能力を低減する変異を導入することによって、ホモオリゴマーの毒性をさらに低減することが優先事項になりうる。
【０１１５】
したがって本発明のいくつかの態様では、該さらなる改変以外は同一であるポリペプチドと比較してFc媒介性エフェクター機能などのエフェクター機能を誘導する能力が変化するように、第1ポリペプチドおよび/または第2ポリペプチドがさらに改変されている。
【０１１６】
いくつかの態様では、該さらなる改変以外は同一であるポリペプチドと比較して抗体依存性細胞媒介性細胞傷害を誘導する能力が変化するように、第1ポリペプチドおよび/または第2ポリペプチドがさらに改変されている。
【０１１７】
別の態様では、該改変以外は同一であるポリペプチドと比較して補体依存性細胞傷害を誘導する能力が変化するように、第1ポリペプチドおよび/または第2ポリペプチドがさらに改変されている。
【０１１８】
ポリペプチドのフォーマット
上述のように、本発明の方法の好ましい一態様において、第1ポリペプチドは抗体である。本発明の別の好ましい一態様において、第2ポリペプチドは抗体である。より好ましい一態様において、第1ポリペプチドは抗体であり、かつ第2ポリペプチドは抗体である。
【０１１９】
さらなる一態様において、第1ポリペプチドは完全長抗体であり、かつ/または第2ポリペプチドは完全長抗体である。
【０１２０】
Fc領域または抗体は、任意のIgGアイソタイプ、例えばIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4のものであってよい。本発明の一態様において、ポリペプチドまたは抗体は、ヒトIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4アイソタイプであるFc領域を有する。本発明の一態様において、Fc領域は混合アイソタイプ、例えばIgG1/IgG2、IgG1/IgG3、IgG1/IgG4、IgG2/IgG3、IgG2/IgG4およびIgG3/IgG4からなる群より選択される混合アイソタイプである。混合アイソタイプでは、Fc領域が2つ以上のアイソタイプからのアミノ酸配列で構成される。
【０１２１】
好ましい態様において、第1ポリペプチドはIgG1抗体であり、かつ/または第2ポリペプチドはIgG1抗体である。
【０１２２】
本発明の一態様において、第1ポリペプチドおよび/または第2ポリペプチドは、SEQ ID NO：22、23、24、25、31、32および33に記載の配列を含む第1Fc領域および/または第2Fc領域を含み、該配列には少なくとも1つの本発明の変異が導入されている。第1Fc領域および第2Fc領域は、SEQ ID NO：22、23、24、25、31、32および33に記載の配列から独立して

選択されうる。したがって第1Fc領域および第2Fc領域は同じ親配列のものまたは異なる親配列のものでありうる。

【０１２３】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドおよび/または第2ポリペプチドは、SEQ ID NO：22、23、24および25に記載の配列を含む第1Fc領域および/または第2Fc領域を含み、該配列には少なくとも1つの本発明の変異が導入されている。

【０１２４】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドは、SEQ ID NO：22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32および33からなる群より選択される配列を含む第1Fc領域を含み、該配列には少なくとも1つの本発明の変異が導入されている。本発明の一態様において、第2ポリペプチドは、SEQ ID NO：22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32および33からなる群より選択される配列を含む第2Fc領域を含み、該配列には少なくとも1つの本発明の変異が導入されている。

【０１２５】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドは、SEQ ID NO：22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32および33からなる群より選択される配列を含む第1Fc領域を含み、少なくとも2つの本発明の変異または少なくとも3つの本発明の変異が導入されている。本発明の一態様において、第2ポリペプチドは、SEQ ID NO：22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32および33からなる群より選択される配列を含む第2Fc領域を含み、少なくとも2つの本発明の変異または少なくとも3つの本発明の変異が導入されている。

【０１２６】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドは、SEQ ID NO：63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、74、75、76、77、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110からなる群より選択される配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドは、SEQ ID NO：63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、74、75、76、77、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110からなる群より選択される配列を含む第2Fc領域を含む。

【０１２７】

本発明の一態様において、

(i) 第1ポリペプチドは、74、76、79および81からなる群より選択される配列を含む第1Fc領域を含み、かつ

(ii) 第2ポリペプチドは、75、77、80および82からなる群より選択される配列を含む第2Fc領域を含むか、またはその逆であり、

第1Fc領域および第2Fc領域は、多くて5個、例えば多くて4個、例えば多くて3個、例えば多くて2個、例えば多くて1個のさらなる変異を有する。

【０１２８】

本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：63に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：64に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：65に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：66に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：67に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：68に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：69に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：70に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：71に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：72に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：74に記載

の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：75に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：76に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：77に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：79に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：80に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：81に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：82に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：83に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：84に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：85に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：86に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：87に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：88に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：89に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：90に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：91に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：92に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：93に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：94に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：95に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：96に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：97に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：98に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：99に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：100に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：101に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：102に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：103に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：104に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：105に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：106に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：107に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：108に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：109に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：110に記載の配列を含む第1Fc領域を含む。

【０１２９】

本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：63に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：64に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：65に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：66に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：67に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：68に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：69に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：70に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。

本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：71に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：72に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：74に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：75に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：76に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：77に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：79に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：80に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：81に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：82に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：83に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：84に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：85に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：86に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：87に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：88に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：89に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：90に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：91に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：92に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：93に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：94に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：95に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：96に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：97に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：98に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：99に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：100に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：101に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：102に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：103に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：104に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：105に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：106に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：107に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：108に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：109に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：110に記載の配列を含む第2Fc領域を含む。

【０１３０】

上述のように、本発明のいくつかの態様では、ポリペプチドまたは抗体のエフェクター機能または他の特性を誘導/媒介するポリペプチドまたは抗体の能力を変化させるさらなる変異を、Fc領域に導入しうる。そのような他の特性は血漿クリアランスであってもよく、そのような改変に関連する変異は当業者には周知である。

【０１３１】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：22、23、24、25、31、32およ

び33からなる群より選択される配列を含む第1Fc領域を含み、多くて10個の変異が導入されている。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：22、23、24、25、31、32および33からなる群より選択される配列を含む第2Fc領域を含み、多くて10個の変異が導入されている。該配列に導入される前記多くて10個の変異は本発明に従って導入されるアミノ酸変異を含みうる。

【０１３２】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：22に記載の配列を含む第1Fc領域を含み、多くて10個の変異が導入されている。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：23に記載の配列を含む第1Fc領域を含み、多くて10個の変異が導入されている。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：24に記載の配列を含む第1Fc領域を含み、多くて10個の変異が導入されている。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：25に記載の配列を含む第1Fc領域を含み、多くて10個の変異が導入されている。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：31に記載の配列を含む第1Fc領域を含み、多くて10個の変異が導入されている。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：32に記載の配列を含む第1Fc領域を含み、多くて10個の変異が導入されている。本発明の一態様において、第1ポリペプチドはSEQ ID NO：32に記載の配列を含む第1Fc領域を含み、多くて10個の変異が導入されている。

【０１３３】

本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：22に記載の配列を含む第2Fc領域を含み、多くて10個の変異が導入されている。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：23に記載の配列を含む第2Fc領域を含み、多くて10個の変異が導入されている。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：24に記載の配列を含む第2Fc領域を含み、多くて10個の変異が導入されている。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：25に記載の配列を含む第2Fc領域を含み、多くて10個の変異が導入されている。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：31に記載の配列を含む第2Fc領域を含み、多くて10個の変異が導入されている。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：32に記載の配列を含む第2Fc領域を含み、多くて10個の変異が導入されている。本発明の一態様において、第2ポリペプチドはSEQ ID NO：32に記載の配列を含む第2Fc領域を含み、多くて10個の変異が導入されている。

【０１３４】

本発明の一態様では、多くて10個の変異、例えば多くて9個の変異、例えば多くて8個の変異、例えば多くて7個の変異、例えば多くて6個の変異、例えば多くて5個の変異、例えば多くて4個の変異、または例えば多くて3個の変異が導入されている。

【０１３５】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドはSEQ ID NO：22、23、24、25、31、32および33からなる群より選択される配列を含む第1Fc領域および第2Fc領域を含み、多くて10個の変異、例えば多くて9個の変異、例えば多くて8個の変異、例えば多くて7個の変異、例えば多くて6個の変異、例えば多くて5個の変異、例えば多くて4個の変異、または例えば多くて3個の変異が導入されている。

【０１３６】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドはSEQ ID NO：22に記載の配列を含む第1Fc領域および第2Fc領域を含み、多くて10個の変異、例えば多くて9個の変異、例えば多くて8個の変異、例えば多くて7個の変異、例えば多くて6個の変異、例えば多くて5個の変異、例えば多くて4個の変異、または例えば多くて3個の変異が導入されている。

【０１３７】

さらなる態様において、第1抗体はヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体であり、かつ/または第2抗体はヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体である。

【０１３８】

本発明のポリペプチドは、天然の、例えばヒトFcドメインを有する抗体などのポリペプ

チドに限定されず、本発明の変異以外の変異、例えばグリコシル化に影響を及ぼす変異、または抗体が二重特異性抗体であることを可能にする変異などを有するポリペプチドであってもよい。「天然の抗体」という用語は、天然には存在しない遺伝的に導入された変異を一切含まない任意の抗体を意味する。したがって、天然に存在する改変を含む抗体、例えば異なるアロタイプは、本発明の意味では「天然の抗体」であると理解され、それゆえに親抗体であると理解することができる。そのような抗体は、本発明による1つまたは複数の変異のためのテンプレートとして役立ち、それにより、本発明の変種抗体を提供しうる。

【０１３９】

本発明において使用されるポリペプチドまたは抗体は指定された変異を有するが、ポリペプチドまたは抗体に追加の機能を導入するための追加の変異も有しうる。一態様において、Fc領域は、多くて10個の変異、例えば9個の変異、例えば8個の変異、例えば7個の変異、例えば6個の変異、例えば5個の変異、例えば4個の変異、例えば3個の変異、または例えば2個の変異を含む。追加の変異は、Fc-Fc相互作用に関与しない位置およびFcエフェクター機能に関与しない位置におけるFc領域のバリエーションも可能にする。さらに、前述のように、追加の変異は対立遺伝子のバリエーションによるものであってもよい。

【０１４０】

したがって本発明の一態様において、ポリペプチドまたは抗体は、IgG1m（f）、IgG1m（a）、IgG1m（z）、IgG1m（x）アロタイプまたは混合アロタイプであるFc領域を有する。

【０１４１】

本発明において使用されるポリペプチドまたは抗体は、単一特異性または多重特異性、例えば二重特異性であってよい。したがって一態様において、第1抗体は二重特異性であり、かつ/または第2ポリペプチドは二重特異性である。

【０１４２】

標的抗原、標的細胞および処置される疾患

上で説明したように、本発明は、所望の標的細胞集団に対する抗体処置の選択性を改良するために使用することができる方法を提供する。

【０１４３】

本発明の方法は、第1抗原結合ポリペプチドおよび第2抗原結合ポリペプチドによる処置に関し、前記2種の抗体は2つの異なる標的抗原（第1抗原および第2抗原）に結合し、抗体のFc領域は、前記2種の抗体のヘテロオリゴマー化がホモオリゴマー化よりも著しく有利になるように改変されている。これらの改変の結果として、両方の抗原標的を発現する（2種の抗体の効率のよい（ヘテロ）オリゴマー化を可能にする）細胞では、標的のうちの一方しか発現しない（非効率的な（ホモ）オリゴマー化をもたらす、または（ホモ）オリゴマー化をもたらさない）細胞よりも、多くの抗体オリゴマー化が起こるだろう。オリゴマー化は一般に抗体の効力を強化するので、抗体併用処置は、標的のうちの一方しか発現しない細胞に対する効力よりも、標的を共発現する細胞に対する効力の方が強くなるだろう。このように、本抗体併用処置は、両方の標的抗原を発現する細胞または組織に対して、改良された選択性を有する。したがって、所望の標的細胞集団では共発現するが標的にすべきでない細胞集団では共発現しないか共発現量が少ない2種の抗原を選択することにより、所望の標的細胞集団に対して選択的効果を有するであろう複合的抗体処置を設計することができる。

【０１４４】

したがって、本発明の方法の好ましい一態様において、第1抗原および第2抗原は、どちらも細胞表面に露出している分子およびリガンドである。シグナル伝達経路を活性化、阻害、調整および/または調節する標的抗原は本発明の標的として特に適しうる。

【０１４５】

以下のタンパク質クラスも、本発明の第1ポリペプチドおよび/または第2ポリペプチドにとっての抗原-結合標的として特に適しうる：腫瘍壊死受容体（tumor necrosis recept

or）スーパーファミリー、GPIアンカータンパク質、造血因子受容体ファミリー、サイトカイン受容体ファミリー、セリン/スレオニンキナーゼ受容体ファミリー、ヒドロラーゼおよびレギュレーター（Hydrolases and regulator）スーパーファミリー、ホルモン受容体ファミリー、B7ファミリー関連タンパク質、免疫グロブリンスーパーファミリー、インターロイキン受容体ファミリー、インテグリン、Ig様細胞接着分子ファミリー、受容体型タンパク質チロシンホスファターゼ、C型レクチン、テトラスパニン、膜貫通4ドメイン（Membrane spanning 4-domains）、インターロイキン受容体、活性化白血球免疫グロブリン様受容体（Activating leukocyte immunoglobulin like receptor）、C-Cモチーフケモカイン受容体、Gタンパク質共役受容体、Toll様受容体、受容体チロシンキナーゼ。本発明の一態様において、第1抗原結合領域および第2抗原結合領域は、同じタンパク質クラスからの標的抗原に結合することができる。本発明の一態様において、第1抗原結合領域および第2抗原結合領域は、異なるタンパク質クラスからの標的抗原に結合することができる。

【０１４６】

本発明の一態様において、第1抗原結合領域はGPIアンカータンパク質のタンパク質クラスからの標的抗原に結合することができ、第2抗原結合領域はテトラスパニンのタンパク質クラスからの標的抗原に結合することができる。本発明の一態様において、第1抗原結合領域はテトラスパニンのタンパク質クラスからの標的抗原に結合することができ、第2抗原結合領域はGPIアンカータンパク質のタンパク質クラスからの標的抗原に結合することができる。

【０１４７】

本発明の一態様において、第1抗原結合領域はGPIアンカータンパク質のタンパク質クラスからの標的抗原に結合することができ、第2抗原結合領域は膜貫通4ドメインのタンパク質クラスからの標的抗原に結合することができる。本発明の一態様において、第1抗原結合領域は膜貫通4ドメインのタンパク質クラスからの標的抗原に結合することができ、第2抗原結合領域はGPIアンカータンパク質のタンパク質クラスからの標的抗原に結合することができる。

【０１４８】

本発明の一態様において、第1抗原結合領域は膜貫通4ドメインのタンパク質クラスからの標的抗原に結合することができ、第2抗原結合領域はテトラスパニンのタンパク質クラスからの標的抗原に結合することができる。

【０１４９】

CD20は膜貫通4ドメインのタンパク質クラスの一例である。実施例に膜貫通4ドメインのタンパク質クラスに関する本発明の使用を例示する。

【０１５０】

CD37はテトラスパニンのタンパク質クラスの一例である。実施例にテトラスパニンのタンパク質クラスに関する本発明の使用を例示する。

【０１５１】

本発明の一態様において、第1抗原結合領域は腫瘍壊死受容体スーパーファミリーのタンパク質クラスからの標的抗原に結合することができ、第2抗原結合領域は腫瘍壊死受容体スーパーファミリーのタンパク質クラスからの標的抗原に結合することができる。

【０１５２】

本発明の一態様において、第1抗原結合領域は腫瘍壊死受容体スーパーファミリーのタンパク質クラスからの標的抗原に結合することができ、第2抗原結合領域は免疫グロブリンスーパーファミリーのタンパク質クラスからの標的抗原に結合することができる。

【０１５３】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドおよび/または第2ポリペプチドは第1抗原結合領域および/または第2抗原結合領域を含み、抗原結合領域は腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリー（TNFR-SF）、Gタンパク質共役受容体（GPCR）スーパーファミリー、膜貫通4ドメインまたは膜テトラスパニンのメンバーに結合する。

【０１５４】
FAS、DR4、DR5、TNFR1、DR6、DR3、EDARおよびNGFRなど、いくつかのTNFRSFはアポトーシスに関与し、細胞内デスドメインを含有する。DcR1、DcR2、DcR3、OPG、TROY、XEDAR、LTbR、HVEM、TWEAKR、CD120b、OX40、CD40、CD27、CD30、4-1BB、RANK、TACI、BLySR、BCMA、GITR、RELTなど、他のTNFRSFは、増殖、生存および分化などといった他のシグナル伝達経路に関与する。TNF受容体は哺乳動物では多種多様な組織において、とりわけ白血球において発現する。
【０１５５】
DR5はTNFRSF受容体クラスの一例である。実施例19にTNFRSF受容体クラスに関する本発明の使用を例示する。
【０１５６】
本発明の一態様において、第1抗原結合領域および/または第2抗原結合領域は、FAS、DR4、DR5、TNFR1、DR6、DR3、EDAR、NGFR、OX40、CD40、CD30、CD27、4-1BB、RANK、TACI、BLySR、BCMA、RELTおよびGITRからなる群より選択されるTNFR-SFのメンバーに結合する。
【０１５７】
本発明の一態様において、第1抗原結合領域はDR5に結合する。本発明の一態様において、第2抗原結合領域はDR5に結合する。
【０１５８】
本発明の一態様において、第1抗原結合領域および/または第2抗原結合領域は、細胞内デスドメインを含まないTNFR-SFのメンバーに結合する。本発明の一態様において、TNFR-SFはOX40、CD40、CD30、CD27、4-1BB、RANK、TACI、BLySR、BCMA、RELTおよびGITRの群から選択される。本発明の一態様において、TNFR-SFは、FAS、DR4、DR4、TNFR1、DR6、DR3、EDARおよびNGFRの群から選択される。
【０１５９】
本発明のポリペプチドは任意の標的に結合しうる。対象となりうるそのような本発明の標的または抗原の例は、TNFR1、FAS、DR3、DR4、DR5、DR6、NGFR、EDAR、DcR1、DcR2、DcR3、OPG、TROY、XEDAR、LTbR、HVEM、TWEAKR、CD120b、OX40、CD40、CD27、CD30、4-1BB、RANK、TACI、BLySR、BCMA、GITR、RELTである。
【０１６０】
本発明の一態様において、第1抗原結合領域はCAMPATH-1に結合する。本発明の一態様において、第2抗原結合領域はCAMPATH-1に結合する。
【０１６１】
本発明の一態様において、第1抗原結合領域はCD20に結合する。本発明の一態様において、第2抗原結合領域はCD20に結合する。
【０１６２】
本発明の一態様において、第1抗原結合領域はCD37に結合する。本発明の一態様において、第2抗原結合領域はCD37に結合する。
【０１６３】
本発明の一態様において、第1抗原結合領域はCAMPATH-1に結合し、かつ第2抗原結合領域はCD20に結合するか、またはその逆である。
【０１６４】
本発明の一態様において、第1抗原結合領域はCD37に結合し、かつ第2抗原結合領域はCD20に結合するか、またはその逆である。
【０１６５】
本発明の方法の好ましい一態様において、第1抗原および第2抗原は、処置されるべき疾患または障害にとっての標的細胞または標的組織である細胞または組織において共在する。好ましい処置されるべき疾患はがんである。
【０１６６】
さらに好ましい一態様において、
(a) 第1抗原および第2抗原は、処置されるべき疾患または障害にとっての標的細胞また

は標的組織ではない細胞または組織において共在しないか、または
(b) 第1抗原および第2抗原は、処置されるべき疾患または障害にとっての標的細胞または標的組織ではない細胞または組織では、共在する程度が、処置されるべき疾患または障害にとっての標的細胞または標的組織である細胞または組織よりも低い。

【０１６７】

本発明の方法の一態様において、第1抗原および第2抗原は同一ではなく、どちらもが細胞内デスドメインを含むデス受容体であることはない。別の一態様において、第1抗原と第2抗原はどちらもデス受容体ではない。

【０１６８】

増加した効力は、2種の標的抗原が同じ細胞上に共発現する場合に得られるだけでなく、標的細胞が近接している他の状況でも得られるだろうと考えられる。

【０１６９】

投薬量、投与様式および併用療法

本発明は、疾患または障害を処置する方法を提供し、本方法は、その必要がある対象に本明細書記載のポリペプチドを投与する工程を含む。一態様において、対象はヒトである。本発明の方法では有効量のポリペプチドが投与される。

【０１７０】

「処置」または「処置する」とは、症状または疾患状態を軽減し、改善し、停止しまたは根絶する（治癒させる）目的で、有効量の、本発明の治療的に活性なポリペプチドを投与することを指す。

【０１７１】

「有効量」または「治療有効量」とは、所望の治療結果を達成するのに、必要な投薬量および期間で、有効な量を指す。抗体などのポリペプチドの治療有効量は、個体の病期、年齢、性別および体重、ならびに個体において所望の応答を引き出す抗体の能力などといった因子に応じて変動しうる。また、治療有効量とは、抗体または抗体部分の治療上有益な効果が抗体または抗体部分のいかなる毒性効果または有害効果をも凌ぐ量である。

【０１７２】

好ましくは、第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドは、一定の時間間隔内で、例えば5日以内、2日以内、1日以内、12時間以内、6時間以内、2時間以内、1時間以内に逐次的に投与されるか、または同時に投与される。一方のポリペプチドを他方のポリペプチドよりも頻繁に投与してもよい。

【０１７３】

投与は任意の適切な経路で実行してよいが、典型的には非経口投与、例えば静脈内、筋肉内または皮下投与であるだろう。

【０１７４】

抗体などのポリペプチドに関する有効投薬量および投薬レジメンは処置されるべき疾患または状態に依存し、当業者によって決定されうる。本発明の抗体の治療有効量の例示的な非限定的範囲は、約0.1～100mg/kg、例えば約0.1～50mg/kg、例えば約0.1～20mg/kg、例えば約0.1～10mg/kg、例えば約0.5、約0.3、約1、約3、約5または約8mg/kgである。

【０１７５】

本発明において投与されるときの第1ポリペプチドと第2ポリペプチドのモル比は、それらが結合する標的抗原と、標的細胞集団に対するそれらの選択性の程度に応じて変動しうる。本発明の方法の一態様において、第1ポリペプチドと第2ポリペプチドは、1：50～50：1のモル比、例えば1：1のモル比、1：2のモル比、1：3のモル比、1：4のモル比、1：5のモル比、1：6のモル比、1：7のモル比、1：8のモル比、1：9のモル比、1：10のモル比、1：15のモル比、1：20のモル比、1：25のモル比、1：30のモル比、1：35のモル比、1：40のモル比、1：45のモル比、1：50のモル比、50：1のモル比、45：1のモル比、40：1のモル比、35：1のモル比、30：1のモル比、25：1のモル比、20：1のモル比、15：1のモル比、10：1のモル比、9：1のモル比、8：1のモル比、7：1のモル比、6：1のモル比、5：1のモル比、4：1のモル比、3：1のモル比、2：1のモル比、または等モル比で投与される。

【０１７６】
好ましい一態様において、第1ポリペプチドと第2ポリペプチドは、1：50～50：1のモル比、例えば1：1のモル比、1：2のモル比、1：3のモル比、1：4のモル比、1：5のモル比、1：6のモル比、1：7のモル比、1：8のモル比、1：9のモル比、1：5のモル比、1：5のモル比、1：5のモル比、1：10のモル比、1：15のモル比、1：20のモル比、1：25のモル比、1：30のモル比、1：35のモル比、1：40のモル比、1：45のモル比、1：50のモル比、50：1のモル比、45：1のモル比、40：1のモル比、35：1のモル比、30：1のモル比、25：1のモル比、20：1のモル比、15：1のモル比、10：1のモル比、9：1のモル比、8：1のモル比、7：1のモル比、6：1のモル比、5：1のモル比、4：1のモル比、3：1のモル比、2：1のモル比で投与される。
【０１７７】
本発明の一態様において、第1ポリペプチドと第2ポリペプチドは、約1：50～50：1のモル比、例えば約1：40～40：1のモル比、例えば約1：30～30：1のモル比、例えば約1：20～20：1のモル比、例えば約1：10～10：1のモル比、例えば約1：9～9：1のモル比、例えば約1：5～5：1のモル比で投与される。
【０１７８】
本発明のポリペプチドまたは抗体は、併用治療として、すなわち処置される疾患または状態に関連する他の治療剤と組み合わせて、投与してもよい。したがって一態様において、抗体含有医薬は、1種または複数種のさらなる治療剤、例えば細胞毒性剤、化学療法剤または抗血管新生剤と併用するための医薬である。そのような併用投与は同時、個別または逐次的であることができる。
【０１７９】
さらなる一態様において、本発明は、がんなどの疾患を処置または防止するための方法を提供し、本方法は、、その必要がある対象に、治療有効量の本発明の変種または薬学的組成物を放射線治療および/または外科手術と組み合わせて投与する工程を含む。
【０１８０】
本発明の一態様において、本明細書に開示する任意の局面または態様による方法は、追加の治療作用物質をさらに投与する工程に関する。本発明の一態様において、追加の治療作用物質は、化学療法剤（パクリタキセル、テモゾロミド、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、イリノテカン、ドキソルビシン、ゲムシタビン、5-フルオロウラシル、ペメトレキセドを含むが、それらに限定されるわけではない）、キナーゼ阻害剤（ソラフェニブ、スニチニブまたはエベロリムスを含むが、それらに限定されるわけではない）、アポトーシス調整剤（組換えヒトTRAILまたはビリナパントを含むが、それらに限定されるわけではない）、RAS阻害剤、プロテアソーム阻害剤（ボルテゾミブを含むが、それに限定されるわけではない）、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤（ボリノスタットを含むが、それに限定されるわけではない）、機能性食品、サイトカイン（IFN-γを含むが、それに限定されるわけではない）、抗体または抗体ミメティック（抗EGFR、抗IGF-1R、抗VEGF、抗CD20、抗CD38、抗HER2、抗PD-1、抗PD-L1、抗CTLA4、抗CD40、抗CD137、抗GITR抗体および抗体ミメティックを含むが、それらに限定されるわけではない）、抗体-薬物コンジュゲートからなる群より選択される1つまたは複数の抗がん作用物質である。
【０１８１】
ポリペプチド
上で説明したように、さらなる一局面において本発明は、組み合わせることでホモオリゴマー化よりヘテロオリゴマー化が有利になるように、適切な「カウンターパート（counterpart）」ポリペプチドと組み合わせて、本発明の方法において使用することができるポリペプチドに関する。
【０１８２】
したがって、本発明は、ヒトIgGのFc領域と抗原に結合することができる抗原結合領域とを含むポリペプチドに関し、
(a) ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G、I253K、もしくはI253R変異、

または
ヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310RもしくはH310D変異
および/または
(b) ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436Q、もしくはY436R変異、または
ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異
および/または
(c) ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異、または
ヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異
を含み、ここでアミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応し、ポリペプチドがS440K変異を含む場合は、選択肢(a)および(b)において指定される他の変異も少なくとも1つは存在するものとする。

【０１８３】

一態様において、ポリペプチドは、
(a) ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G、I253K、もしくはI253R変異、または
ヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310RもしくはH310D変異、および
(b) ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436Q、もしくはY436R変異、または
ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異
を含む。

【０１８４】

別の一態様において、ポリペプチドは、
(a) ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G、I253K、もしくはI253R変異、または
ヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310RもしくはH310D変異、
および
(c) ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異、または
ヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異
を含む。

【０１８５】

別の一態様において、ポリペプチドは、
(b) ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436Q、もしくはY436R変異、または
ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異、
および
(c) ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異、または
ヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異
を含む。

【０１８６】

別の一態様において、ポリペプチドは、
(a) ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G、I253K、もしくはI253R変異、または
ヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310RもしくはH310D変異、

および
（b）ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436Q、もしくはY436R変異、または
ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438G、もしくはQ438N変異、
および
（c）ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異、または
ヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異
を含む。

【０１８７】
別の一態様において、ポリペプチドは、選択肢（c）において指定される変異を含まず、ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異またはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異をさらに含む。

【０１８８】
別の態様において、
（i）ポリペプチドは、ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異と、ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異もしくはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異とを含むか、または
（ii）ポリペプチドは、ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異と、ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異もしくはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異とを含むか、または
（iii）ポリペプチドは、ヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異と、ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異もしくはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異とを含むか、または
（iv）ポリペプチドは、ヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異と、ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異もしくはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異とを含むか、または
（v）ポリペプチドは、ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異と、ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異もしくはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異とを含むか、または
（vi）ポリペプチドは、ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異と、ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異もしくはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異とを含むか、または
（vii）ポリペプチドは、ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異と、ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異もしくはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異とを含むか、または
（viii）ポリペプチドは、ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異と、ヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異もしくはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異とを含むか、または
（ix）ポリペプチドは、ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異と、ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異もしくはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異とを含むか、または
（x）ポリペプチドは、ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異と、ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異もしくはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異とを含むか、または
（xi）ポリペプチドは、ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異と、ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異もしくはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異とを含むか、または
（xii）ポリペプチドは、ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異と、ヒ

トIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異もしくはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異とを含むか、または
(xiii) ポリペプチドは、ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異と、ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異もしくはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異とを含むか、または
(xiv) ポリペプチドは、ヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異と、ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異もしくはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異とを含むか、または
(xv) ポリペプチドは、ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異と、ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異もしくはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異とを含むか、または
(xvi) ポリペプチドは、ヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異と、ヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異もしくはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異とを含む。

【０１８９】
さらなる一態様において、ポリペプチドは、ヒトIgG1中のE430、E345、S440、T437またはK248に対応するアミノ酸位置の変異をさらに含む。ただし、ポリペプチドがK439E、K439D、S440K、S440RまたはS440H変異を含む場合、ポリペプチド中の該さらなる変異は位置S440にはないものとする。

【０１９０】
別の一態様において、ポリペプチドは、E430G、E345K、E430S、E430F、E430T、E345Q、E345R、E345Y、S440WおよびS440Yからなる群より選択される1つまたは複数の変異を含み、かつ/またはポリペプチドはT437R変異およびK248E変異を含む。

【０１９１】
別の一態様において、ポリペプチドは、E430GおよびE345Kからなる群より選択される一方または両方の変異を含む。

【０１９２】
別の一態様において、ポリペプチドはE430G変異を含む。

【０１９３】
別の一態様では、該さらなる改変以外は同一であるポリペプチドと比較してFc媒介性エフェクター機能などのエフェクター機能を誘導する能力が変化するように、ポリペプチドがさらに改変されている。

【０１９４】
そのような一態様では、該さらなる改変以外は同一であるポリペプチドと比較して抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）を誘導する能力が変化するように、ポリペプチドがさらに改変されている。ADCCを誘導するポリペプチドまたは抗体の能力を変化させるアミノ酸変異の一例はG237Aである。G237A変異は、Fcガンマ受容体に結合するポリペプチドの能力を減少させ、それによってADCCを誘導するポリペプチドの能力を減少させるだろう。ADCCを誘導する能力が減少しているポリペプチドは、ポリペプチドによって誘導されるエフェクター機能の制御を強化することが関心事である場合、例えば抗体が結合する標的が遍在的に発現する場合には、特に興味深いだろう。したがって本発明の一態様では、さらなるG237A変異を導入することによってポリペプチドを改変した。

【０１９５】
一態様において、ポリペプチドはG237A変異を含む。

【０１９６】
別のそのような一態様では、該さらなる改変以外は同一であるポリペプチドと比較して補体依存性細胞傷害（CDC）を誘導する能力が変化するように、ポリペプチドがさらに改変されている。

【０１９７】
CDCを誘導するポリペプチドまたは抗体の能力を変化させるアミノ酸変異の例はE430G、

E345K、E430S、E430F、E430T、E345Q、E345R、E345Y、S440W、S440Y T437R、K248E、E333SおよびK326Wである。特異的細胞タイプまたは特異的組織の根絶または枯渇が関心事である場合には、CDCを誘導する能力が増加しているポリペプチドは、特に興味深いだろう。したがって本発明の一態様では、E430G、E345K、E430S、E430F、E430T、E345Q、E345R、E345Y、S440W、S440Y T437R、K248E、E333SおよびK326Wからなる群からの1つまたは複数のアミノ酸変異を導入することによって、ポリペプチドを改変した。

【０１９８】

一態様において、ポリペプチドはE333S変異および/またはK326W変異を含む。

【０１９９】

一態様において、ポリペプチドはE333Sを含む。

【０２００】

一態様において、ポリペプチドはE333S変異およびK326W変異を含む。

【０２０１】

一態様において、ポリペプチドは完全長抗体などの抗体である。一態様において、ポリペプチドはIgG1抗体である。一態様において、抗体はヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体である。一態様において、抗体は二重特異性である。

【０２０２】

本発明のポリペプチドの一態様において、抗原は細胞表面に露出している分子である。一態様において、抗原はデス受容体ではない。

【０２０３】

本発明はさらに、本明細書に記載する発明のポリペプチドと薬学的に許容される担体とを含む薬学的組成物に関係する。

【０２０４】

本発明のさらなる局面および態様

上述のように、さらなる局面において本発明は、ヒトIgGの第2Fc領域と第2抗原に結合することができる第2抗原結合領域とを含む第2ポリペプチドと組み合わせて医薬として使用するための、ヒトIgGの第1Fc領域と第1抗原に結合することができる第1抗原結合領域とを含む第1ポリペプチドに関し、

(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KまたはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

かつ/または

(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436QまたはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KまたはY436R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438KまたはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、

かつ/または

(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応す

るアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、
ここでアミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応する。
【０２０５】
一態様において、
(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KまたはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
かつ/または
(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
かつ/または
(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である。
【０２０６】
別の態様において、
(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KまたはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
かつ
(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436QまたはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KまたはY436R変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、
または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438KまたはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆である。

【０２０７】

別の態様において、

(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KまたはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

かつ

(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である。

【０２０８】

別の態様において、

(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436QまたはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KまたはY436R変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438KまたはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、

かつ

(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である。

【０２０９】

別の態様において、

(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KまたはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

かつ

(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436QまたはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KまたはY436R変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438KまたはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、ここで好ましくは、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、

かつ

(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である。

【０２１０】

さらなる一態様において、第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドは選択肢（c）において指定される変異を含まず、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異をさらに含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異をさらに含むか、またはその逆である。

【０２１１】

さらなる一態様において、

(i) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

(ii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

または

(iii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(iv) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか

、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(v) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、

または

(vi) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(vii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、

または

(viii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

(ix) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

または

(x) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xi) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xiii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xiv) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xv) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xvi) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xvii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xviii) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xix) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xx）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xxi）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436K変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

または

(xxii）第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、さらに第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439E変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆である。

【０２１２】

さらなる一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のE430、E345、S440、T437またはK248に対応するアミノ酸位置の変異をさらに含み、かつ/または第2ポリペプチドはヒトIgG1中のE430、E345、S440、T437またはK248に対応するアミノ酸位置の変異をさらに含むか、またはその逆である。

ただし、第1ポリペプチドまたは第2ポリペプチドがK439E、K439D、S440K、S440RまたはS440H変異を含む場合、該ポリペプチド中の該さらなる変異は、位置S440にはないものとする。

【０２１３】

これのさらなる一態様において、第1ポリペプチドは、E430G、E345K、E430S、E430F、E430T、E345Q、E345R、E345Y、S440WおよびS440Yからなる群より選択される1つまたは複数の変異を含み、かつ/または第2ポリペプチドは、E430G、E345K、E430S、E430F、E430T、E345Q、E345R、E345Y、S440WおよびS440Yからなる群より選択される1つまたは複数の変異を含み、

かつ/または

第1ポリペプチドはT437R変異およびK248E変異を含み、かつ/または第2ポリペプチドはT437R変異およびK248E変異を含む。

【０２１４】

これのさらなる一態様において、第1ポリペプチドはE430GおよびE345Kからなる群より選択される一方または両方の変異を含み、かつ/または該ポリペプチドはE430GおよびE345Kからなる群より選択される一方または両方の変異を含む。

【０２１５】

これのさらに別の態様において、第1ポリペプチドはE430Gを含み、かつ第2ポリペプチドはE430Gを含む。

【０２１６】

別の一態様では、該さらなる改変以外は同一であるポリペプチドと比較してFc媒介性エフェクター機能などのエフェクター機能を誘導する能力が変化するように、第1ポリペプチドおよび/または第2ポリペプチドがさらに改変されている。

【０２１７】

一態様では、該さらなる改変以外は同一であるポリペプチドと比較して抗体依存性細胞媒介性細胞傷害を誘導する能力が変化するように、第1ポリペプチドおよび/または第2ポリペプチドがさらに改変されている。

【０２１８】

別の一態様では、該改変以外は同一であるポリペプチドと比較して補体依存性細胞傷害を誘導する能力が変化するように、第1ポリペプチドおよび/または第2ポリペプチドがさらに改変されている。

【０２１９】

一態様において、第1ポリペプチドは完全長抗体などの抗体であり、かつ/または第2ポリペプチドは完全長抗体などの抗体である。

【０２２０】

一態様において、第1ポリペプチドはIgG1抗体であり、かつ/または第2ポリペプチドはIgG1抗体である。

【０２２１】

一態様において、第1抗体はヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体であり、かつ/または第2抗体はヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体である。

【０２２２】

一態様において、第1抗体は二重特異性であり、かつ/または第2ポリペプチドは二重特異性である。

【０２２３】

一態様において、第1抗原および第2抗原はどちらも細胞表面に露出している分子である。

【０２２４】

一態様において、第1抗原および第2抗原は、処置されるべき疾患または障害にとっての標的細胞または標的組織である細胞または組織において共在する。

【０２２５】

さらなる一態様において、

(a) 第1抗原および第2抗原は、処置されるべき疾患または障害にとっての標的細胞または標的組織ではない細胞または組織において共在しないか、または

(b) 第1抗原および第2抗原は、処置されるべき疾患または障害にとっての標的細胞または標的組織ではない細胞または組織では、共在する程度が、処置されるべき疾患または障害にとっての標的細胞または標的組織である細胞または組織よりも低い。

【０２２６】

一態様において、第1抗原および第2抗原は同一ではなく、どちらもが細胞内デスドメインを含むデス受容体であることはない。さらなる一態様において、第1抗原と第2抗原はどちらもデス受容体ではない。

【０２２７】

一態様において、第1ポリペプチドと第2ポリペプチドは、1：50～50：1のモル比、例えば1：1のモル比、1：2のモル比、1：3のモル比、1：4のモル比、1：5のモル比、1：6のモル比、1：7のモル比、1：8のモル比、1：9のモル比、1：5のモル比、1：5のモル比、1：5のモル比、1：10のモル比、1：15のモル比、1：20のモル比、1：25のモル比、1：30のモル比、1：35のモル比、1：40のモル比、1：45のモル比、1：50のモル比、50：1のモル比、45：1のモル比、40：1のモル比、35：1のモル比、30：1のモル比、25：1のモル比、20：1のモル比、15：1のモル比、10：1のモル比、9：1のモル比、8：1のモル比、7：1のモル比、6：1のモル比、5：1のモル比、4：1のモル比、3：1のモル比、2：1のモル比で投与される。

【０２２８】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドと第2ポリペプチドは、約1：50～50：1のモル比、例えば約1：40～40：1のモル比、例えば約1：30～30：1のモル比、例えば約1：20～20：1のモル比、例えば約1：10～10：1のモル比、例えば約1：9～9：1のモル比、例えば約1：5～5：1のモル比で投与される。

【０２２９】

一態様において、第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドは同時に投与される。

【０２３０】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドは同時に投与される。

【０２３１】

一態様において、使用は、がんを処置するための使用である。

【０２３２】

さらに別の局面において本発明は、がん処置用の医薬を製造するための、ヒトIgGの第2Fc領域と第2抗原に結合することができる第2抗原結合領域とを含む第2ポリペプチドと組み合わされた、ヒトIgGの第1Fc領域と第1抗原に結合することができる第1抗原結合領域とを含む第1ポリペプチドの使用に関し、

(a) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KまたはI253R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、

かつ/または

(b) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436QまたはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KまたはY436R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438KまたはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、

かつ/または

(c) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、

ここでアミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応する。

【０２３３】

組成物

上述のように、本発明の方法のいくつかの態様において、第1ポリペプチドと第2ポリペプチドは個別に投与される。しかし別の態様では、それらのポリペプチドを一つの薬学的組成物に製剤化してもよい。

【０２３４】

主要な一局面において、本発明は、本明細書記載の第1ポリペプチドと第2ポリペプチドとを含む組成物に関する。

【０２３５】

したがって、本発明は、ヒトIgGの第2Fc領域と第2抗原に結合することができる第2抗原結合領域とを含む第2ポリペプチドと組み合わされた、ヒトIgGの第1Fc領域と第1抗原に結合することができる第1抗原結合領域とを含む第1ポリペプチドを含む組成物に関し、

(d) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253G変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310R変異を含むか、またはその逆であり、

または

第1ポリペプチドはヒトIgG1中のI253に対応するアミノ酸位置のI253KまたはI253R

変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のH310に対応するアミノ酸位置のH310D変異を含むか、またはその逆であり、
かつ/または
(e) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436QまたはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KまたはY436R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438KまたはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、
かつ/または
(f) 第1ポリペプチドはヒトIgG1中のK439に対応するアミノ酸位置のK439F、K439I、K439Y、K439T、K439V、K439W変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のS440に対応するアミノ酸位置のS440K変異を含むか、またはその逆であり、
ここでアミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応する。

【０２３６】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436QまたはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436Q変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436KまたはY436R変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438KまたはQ438H変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438NまたはQ438G変異を含むか、またはその逆であり、
ここでアミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応する。

【０２３７】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436N、Y436K、Y436QまたはY436R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R、Q438K、Q438H、Q438GまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、ここでアミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応する。

【０２３８】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のY436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436K変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438RまたはQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
または
第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438N変異を含むか、またはその逆であり、
ここでアミノ酸位置はEUナンバリングによるヒトIgG1に対応する。

【０２３９】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ436に対応するアミノ酸位置のY436NまたはY436K変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応する

アミノ酸位置のQ438NまたはQ438R変異を含むか、またはその逆である。

【０２４０】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドはヒトIgG1中のQ436に対応するアミノ酸位置のY436N変異を含み、かつ第2ポリペプチドはヒトIgG1中のQ438に対応するアミノ酸位置のQ438R変異を含むか、またはその逆である。

【０２４１】

したがって、さらなる主要局面において、本発明は、本明細書記載の第1ポリペプチドおよび第2ポリペプチドと薬学的に許容される担体とを含む薬学的組成物に関する。

【０２４２】

一態様において、第1ポリペプチドと第2ポリペプチドは、1：50～50：1のモル比、例えば1：1のモル比、1：2のモル比、1：3のモル比、1：4のモル比、1：5のモル比、1：6のモル比、1：7のモル比、1：8のモル比、1：9のモル比、1：10のモル比、1：15のモル比、1：20のモル比、1：25のモル比、1：30のモル比、1：35のモル比、1：40のモル比、1：45のモル比、1：50のモル比、50：1のモル比、45：1のモル比、40：1のモル比、35：1のモル比、30：1のモル比、25：1のモル比、20：1のモル比、15：1のモル比、10：1のモル比、9：1のモル比、8：1のモル比、7：1のモル比、6：1のモル比、5：1のモル比、4：1のモル比、3：1のモル比、2：1のモル比、または等モル比で、組成物中に存在する。

【０２４３】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドと第2ポリペプチドは、約1：50～50：1のモル比、例えば約1：40～40：1のモル比、例えば約1：30～30：1のモル比、例えば約1：20～20：1のモル比、例えば約1：10～10：1のモル比、例えば約1：9～9：1のモル比、例えば約1：5～5：1のモル比で、組成物中に存在する。

【０２４４】

本発明の一態様において、第1ポリペプチドと第2ポリペプチドは約1：1のモル比で組成物中に存在する。

【０２４５】

本発明に従って使用するためのポリペプチドは、薬学的に許容される担体または希釈剤ならびに他の任意の公知の佐剤および賦形剤を使用し、従来の技術、例えば（Rowe et al., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2012 June, ISBN 9780857110275）に開示されているものなどに従って、製剤化されうる。薬学的に許容される担体または希釈剤ならびに他の任意の公知の佐剤および賦形剤は、ポリペプチドまたは抗体および選ばれた投与様式に適しているべきである。担体および薬学的組成物の他の構成要素の適性は、選ばれた本発明の化合物または薬学的組成物の所望の生物学的特性に対して有意な負の影響がないこと（例えば抗原結合に対する影響が実質的でないこと（10％以下の相対的阻害、5％以下の相対的阻害など））に基づいて決定される。

【０２４６】

薬学的組成物は、希釈剤、充填剤、塩、緩衝剤、洗浄剤（例えばTween-20またはTween-80などのノニオン洗浄剤）、安定剤（例えば糖類またはタンパク質非含有アミノ酸（protein-free amino acid））、保存剤、組織固定剤、可溶化剤、および/または薬学的組成物に含めるのに適した他の材料も含みうる。

【０２４７】

本発明の一態様において、薬学的組成物はポリペプチドを薬学的担体と一緒に含む。薬学的に許容される担体には、本発明の化合物と生理学的に適合する、ありとあらゆる適切な溶媒、分散媒、コーティング、抗細菌剤および抗真菌剤、等張化剤、酸化防止剤および吸収遅延剤などが含まれる。

【０２４８】

本発明の薬学的組成物に使用されうる適切な水性および非水性担体の例として、水、食塩水、リン酸緩衝食塩水、エタノール、デキストロース、ポリオール（例えばグリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど）、およびそれらの適切な混合物、植物油、例えばオリーブ油、トウモロコシ油、ラッカセイ油、綿実油、およびゴマ油

、カルボキシメチルセルロースコロイド溶液、トラガントゴムおよび注射可能な有機エステル、例えばオレイン酸エチル、および/または種々の緩衝液が挙げられる。他の担体は薬学分野では周知である。

【０２４９】

本発明の薬学的組成物は、薬学的に許容される酸化防止剤、例えば（1）水溶性酸化防止剤、例えばアスコルビン酸、システイン塩酸塩、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウムなど、（2）油溶性酸化防止剤、例えばアスコルビルパルミテート、ブチル化ヒドロキシアニソール（BHA）、ブチル化ヒドロキシトルエン（BHT）、レシチン、没食子酸プロピル、アルファ-トコフェロールなど、および（3）金属キレート剤、例えばクエン酸、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）、ソルビトール、酒石酸、リン酸なども含みうる。

【０２５０】

本発明の薬学的組成物は、糖類、ポリアルコール、例えばマンニトール、ソルビトール、グリセロール、または塩化ナトリウムなどの等張化剤も、組成物中に含みうる。

【０２５１】

本発明の薬学的組成物は、薬学的組成物の貯蔵寿命または有効性を強化しうる、選ばれた投与経路にとって適当な1種または複数種の佐剤、例えば保存剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤、保存剤、緩衝剤も含有しうる。本発明の化合物は、例えばインプラント、経皮パッチ、マイクロカプセル化送達システムを含む制御放出製剤など、化合物を急速な放出から保護する担体を使って調製されうる。そのような担体は、ゼラチン、モノステアリン酸グリセリン、グリセリルジステアレート、生分解性生体適合性ポリマー、例えばエチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸を、単独で、またはワックスと共に含むか、または当技術分野において周知の他の材料を含みうる。そのような製剤の調製方法は当業者には一般に公知である。

【０２５２】

本発明の薬学的組成物中の活性成分の実際の投薬量レベルは、患者にとっての毒性を伴わずに、特定の患者、組成物および投与様式に関して所望の治療的応答を達成するのに有効な活性成分の量が得られるように、変動させうる。選択される投薬量レベルは、使用される本発明の特定組成物の活性、投与経路、投与時間、使用される特定化合物の排泄率、処置の継続時間、使用される特定化合物と併用される他の薬物、化合物および/または材料、処置される患者の年齢、性別、体重、状態、全身の健康状態および既往歴など、医学分野において周知の因子を含む、さまざまな薬物動態因子に依存するだろう。

【０２５３】

パーツキット

本発明は、本明細書記載のポリペプチドまたは抗体を含む、治療において同時に、個別にまたは逐次的に使用するためのパーツキットにも関係する。

【０２５４】

したがって、さらなる一局面において本発明は、本明細書記載の本発明の第1ポリペプチドを含む第1容器と、本明細書記載の本発明の第2ポリペプチドを含む第2容器とを含むキット、すなわちパーツキットに関する。

【０２５５】

さらなる一局面において本発明は、本明細書記載の本発明の第1ポリペプチドを含む第1コンパートメントと、本明細書記載の本発明の第2ポリペプチドを含む第2コンパートメントとを備えたデバイス、例えばデュアルチャンバーシリンジに関する。一態様において、デバイスは投与デバイス、例えばデュアルチャンバーシリンジ、すなわち2つのコンパートメントを含み、一方のコンパートメントは第1ポリペプチドを含み、第2コンパートメントは第2ポリペプチドを含むシリンジである。

【０２５６】

コンジュゲート

一態様において、本発明で使用される第1および/または第2のポリペプチドまたは抗体

は、任意でリンカーを介して、1つまたは複数の治療部分、例えば細胞毒、化学療法薬、サイトカイン、免疫抑制薬および/または放射性同位体にコンジュゲートされる。そのようなコンジュゲートを本明細書では「イムノコンジュゲート」または「薬物コンジュゲート」という。1つまたは複数の細胞毒を含むイムノコンジュゲートを「イムノトキシン」という。

【０２５７】

細胞毒または細胞毒性剤には、細胞にとって有害である（例えば細胞を殺す）任意の作用物質が含まれる。本発明のイムノコンジュゲートを形成させるための適切な治療剤としては、タキソール、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド（tenoposide）、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン（dihydroxy anthracin dione）、メイタンシンまたはその類似体もしくは誘導体、エンジイン（enediyene）抗腫瘍性抗生物質、例えばネオカルチノスタチン、カリチアマイシン（calicheamycins）、エスペラミシン、ダイネミシン、リダマイシン（lidamycin）、ケダルシジンまたはそれらの類似体もしくは誘導体、アントラサイクリン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、およびピューロマイシン、代謝拮抗物質（例えばメトトレキサート、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラビン、フルダラビン（fludarabin）、5-フルオロウラシル、デカルバジン（decarbazine）、ヒドロキシウレア、アスパラギナーゼ、ゲムシタビン、クラドリビン）、アルキル化剤（例えばメクロレタミン、チオエパ（thioepa）、クロラムブシル、メルファラン、カルムスチン（BSNU）、ロムスチン（CCNU）、シクロホスファミド、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、ダカルバジン（DTIC）、プロカルバジン、マイトマイシンC、シスプラチンおよび他の白金誘導体、例えばカルボプラチン；ならびにデュオカルマイシンA、デュオカルマイシンSA、CC-1065（別名：ラシェルマイシン）またはCC-1065の類似体もしくは誘導体）、ドラスタチン、ピロロ［2,1-c］［1,4］ベンゾジアゼピン（PDB）またはその類似体、抗生物質（例えばダクチノマイシン（旧名アクチノマイシン）、ブレオマイシン、ダウノルビシン（旧名ダウノマイシン）、ドキソルビシン、イダルビシン、ミトラマイシン、マイトマイシン、ミトキサントロン、プリカマイシン、アントラマイシン（AMC））、有糸分裂阻害剤（例えばチューブリン阻害剤）、例えばモノメチルアウリスタチンE、モノメチルアウリスタチンF、またはドラスタチン10の他の類似体もしくは誘導体；ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、例えばヒドロキサム酸類であるトリコスタチンA、ボリノスタット（SAHA）、ベリノスタット、LAQ824、およびパノビノスタット、ならびにベンズアミド、エンチノスタット、CI994、モセチノスタットおよび脂肪族酸化合物、例えばフェニルブチレートおよびバルプロ酸、プロテアソーム阻害剤、例えばダノプレビル、ボルテゾミブ、アマトキシン、例えばアルファ-アマンチン、ジフテリア毒素および関連分子（例えばジフテリアA鎖およびその活性フラグメントならびにハイブリッド分子）；リシン毒素（例えばリシンAまたは脱グリコシル化リシンA鎖毒素）、コレラ毒素、志賀様毒素（SLT-I、SLT-II、SLT-IIV）、LT毒素、C3毒素、Shiga毒素、百日咳毒素、破傷風毒素、大豆ボーマン・バークプロテアーゼインヒビター、シュードモナス外毒素、アロリン（alorin）、サポリン、モデシン、ゲラニン（gelanin）、アブリンA鎖、モデシンA鎖、アルファ-サルシン、シナアブラギリ（Aleurites fordii）タンパク質、ジアンチンタンパク質、ヨウシュヤマゴボウ（Phytolacca americana）タンパク質（PAPI、PAPIIおよびPAP-S）、ツルレイシ（momordica charantia）インヒビター、クルシン、クロチン、サボンソウ（sapaonaria officinalis）インヒビター、ゲロニン、ミトゲリン（mitogellin）、レストリクトシン、フェノマイシン、およびエノマイシン毒素が挙げられる。コンジュゲートされる他の適切な分子としては、抗微生物/溶解ペプチド、例えばCLIP、マガイニン2、メリチン、セクロピン、およびP18；リボヌクレアーゼ（RNase）、DNase I、ブドウ球菌エンテロトキシン-A、アメリカヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、ジフテリン毒素、およびシュードモナスエンドトキシンが挙げられる。例えばPastan e

t al., Cell 47,641（1986）およびGoldenberg, Calif. A Cancer Journal for Clinicians 44, 43（1994）参照。本明細書において項を改めて記載する本発明の抗体と組み合わせて投与しうる治療剤、例えば抗がん性サイトカインまたはケモカインなども、本発明の抗体へのコンジュゲーションに有用な治療部分の候補である。

【０２５８】

一態様において、本発明で使用されるポリペプチドは、コンジュゲートされた核酸または核酸関連分子を含む。そのような一態様において、コンジュゲートされる核酸は細胞毒性リボヌクレアーゼ、アンチセンス核酸、阻害性RNA分子（例えばsiRNA分子）または免疫賦活性核酸（例えば免疫賦活性CpGモチーフ含有DNA分子）である。別の一態様において、本発明で使用されるポリペプチドはアプタマーまたはリボザイムにコンジュゲートされる。

【０２５９】

一態様では、1つまたは複数の放射標識アミノ酸を含むポリペプチドが提供される。ポリペプチド用ラベルの非限定的な例として、^{3}H、^{14}C、^{15}N、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{125}I、^{131}I、および^{186}Reが挙げられる。放射標識アミノ酸および関連ペプチド誘導体を調製するための方法は当技術分野において公知である（例えばJunghans et al., in Cancer Chemotherapy and Biotherapy 655-686（2nd Ed., Chafner and Longo, eds., Lippincott Raven（1996））およびU.S.4,681,581、U.S.4,735,210、U.S.5,101,827、U.S.5,102,990（US RE35,500）、U.S.5,648,471およびU.S.5,697,902参照）。例えば放射性同位体はクロラミン-T法によってコンジュゲートしうる。

【０２６０】

一態様において、本発明で使用されるポリペプチドまたは抗体は、放射性同位体または放射性同位体含有キレートにコンジュゲートされる。例えばポリペプチドは、ポリペプチドが放射性同位体との複合体を形成することを可能にするキレーターリンカー（chelator linker）、例えばDOTA、DTPAまたはチウキセタンにコンジュゲートすることができる。放射性同位体の非限定的な例として、^{3}H、^{14}C、^{15}N、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{125}I、^{111}In、^{131}I、^{186}Re、^{213}Bs、^{225}Acおよび^{227}Thが挙げられる。

【０２６１】

一態様において、本明細書で使用されるポリペプチドまたは抗体は、IL-2、IL-4、IL-6、IL-7、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、IL-18、IL-23、IL-24、IL-27、IL-28a、IL-28b、IL-29、KGF、IFNα、IFNβ、IFNγ、GM-CSF、CD40L、Flt3リガンド、幹細胞因子、アンセスチム、およびTNFαからなる群より選択されるサイトカインにコンジュゲートすることができる。

【０２６２】

本発明において使用されるポリペプチドまたは抗体は、例えばそれらの循環半減期を増加させるなどの目的で、ポリマーへの共有結合によるコンジュゲーションによって、化学修飾してもよい。例示的なポリマーと、それらをペプチドに取り付けるための方法は、例えばUS 4,766,106、US 4,179,337、US 4,495,285およびUS 4,609,546に例示されている。さらなるポリマーとしては、ポリオキシエチル化ポリオールおよびポリエチレングリコール（PEG）（例えば約1,000～約40,000、例えば約2,000～約20,000の分子量を持つPEG）が挙げられる。

【０２６３】

治療部分へのコンジュゲーションは、ポリペプチドのC末端で行うか、別の部位で、典型的にはオリゴマー形成を妨害しない部位で、行いうる。

【０２６４】

本明細書において使用されるポリペプチドまたは抗体を、コンジュゲートされる分子、例えば上述したものにコンジュゲートするには、Hunter et al., Nature 144,945（1962）、David et al., Biochemistry 13,1014（1974）、Pain et al.,J.Immunol.Meth.40,219（1981）およびNygren, J. Histochem. and Cytochem.30,407（1982）に記載の方法など、当技術分野において公知の任意の方法を使用しうる。そのような変種は、変種またはそ

のフラグメント（例えば抗体のH鎖またはL鎖）のN末端側またはC末端側に他の部分を化学的にコンジュゲートすることによって生産することができる（例えば金光修（Osamu Kanemitsu）著「抗体工学入門」（Antibody Engineering Handbook）地人書館（Chijin Shokan）刊（1994）参照）。コンジュゲートされたそのような変種誘導体は、適宜、内部残基または糖でのコンジュゲーションによって生成させてもよい。

【０２６５】

作用物質は、本明細書において使用されるポリペプチドまたは抗体に、直接的または間接的にカップリングしうる。第2作用物質の間接的カップリングの一例は、抗体中のシステイン残基またはリジン残基へのスペーサー部分またはリンカー部分を介したカップリングである。一態様において、ポリペプチドまたは抗体は、インビボで治療薬へと活性化されうるプロドラッグ分子にコンジュゲートすることができる。いくつかの態様において、細胞内環境においてリンカーの切断が抗体から薬物ユニットを放出することになるように、リンカーは細胞内条件下で切断可能である。いくつかの態様において、リンカーは細胞内環境（例えばリソソームまたはエンドソームまたはカベオラ内）に存在する切断可能作用物質によって切断可能である。例えばスペーサーまたはリンカーは、腫瘍細胞関連酵素または他の腫瘍特異的条件によって切断可能であり、それによって活性な薬物が形成される。そのようなプロドラッグ技術およびリンカーの例は、Syntarga BVらによるWO2083180、WO2004043493、WO2007018431、WO2007089149、WO2009017394およびWO201062171に記載されている。適切な抗体-プロドラッグ技術およびデュオカルマイシン類似体は米国特許第6,989,452号（Medarex）にも見出すことができる。リンカーは、同時に、または代替的に、例えば細胞内のペプチダーゼ酵素またはプロテアーゼ酵素、限定するわけではないがリソソームプロテアーゼまたはエンドソームプロテアーゼなどによって切断される、ペプチジルリンカーであることもできる。いくつかの態様において、ペプチジルリンカーは少なくとも2アミノ酸長または少なくとも3アミノ酸長である。切断作用物質としては、カテプシンBおよびカテプシンDならびにプラスミンを挙げることができ、これらはすべてジペプチド薬物誘導体を加水分解して、標的細胞内で活性薬物の放出をもたらすことが公知である（例えばDubowchik and Walker,1999,Pharm.Therapeutics 83：67-123参照）。具体的一態様において、細胞内プロテアーゼによって切断可能なペプチジルリンカーは、Val-Cit（バリン-シトルリン）リンカーまたはPhe-Lys（フェニルアラニン-リジン）リンカーである（例えばドキソルビシンの合成がVal-Citリンカーおよび Phe-Lysリンカーのさまざまな例と共に記載されているUS6214345を参照されたい）。Val-CitリンカーおよびPhe-Lysリンカーの構造の例としては、後述のMC-vc-PAB、MC-vc-GABA、MC-Phe-Lys-PABまたはMC-Phe-Lys-GABAが挙げられるが、それらに限定されるわけではない。ここで、MCはマレイミドカプロイルの略号であり、vcはVal-Citの略号であり、PABはp-アミノベンジルカルバメートの略号であり、GABAはγ-アミノ酪酸の略号である。

【０２６６】

抗体などの本発明のポリペプチドを調製する方法

抗体などの本発明のポリペプチドは、典型的には、組換え的に、すなわちポリペプチドをコードする核酸コンストラクトの適切な宿主細胞における発現によって生産された後、生産された組換えポリペプチドが細胞培養から精製される。核酸コンストラクトは当技術分野において周知の標準的分子生物学的技法によって生産することができる。コンストラクトは典型的にはベクターを使って宿主細胞に導入される。

【０２６７】

適切な核酸コンストラクト、ベクターは、当技術分野において公知であり、実施例に記載する。ほとんどの態様において、ポリペプチドは重鎖（またはそのFc含有フラグメント）だけではなく、軽鎖も含む。そのような態様において重鎖部分および軽鎖部分をコードするヌクレオチド配列は、典型的には、同じ細胞中で発現され、同じまたは異なる核酸またはベクター上に存在しうる。

【０２６８】

抗体の組換え発現に適した宿主細胞は当技術分野において周知であり、CHO、HEK-293、

Expi293F、PER-C6、NS/0およびSp2/0細胞などがある。

【０２６９】

一態様において、宿主細胞は、タンパク質のAsn結合型グリコシル化能を有する細胞、例えば哺乳動物細胞などの真核細胞、例えばヒト細胞である。さらなる一態様において、宿主細胞は、ヒト様グリコシル化またはヒトグリコシル化を有する糖タンパク質を生産するように遺伝子操作された非ヒト細胞である。そのような細胞の例は、遺伝子改変されたピキア・パストリス（Pichia pastoris）（Hamilton et al., Science 301（2003）1244-1246、Potgieter et al., J. Biotechnology 139（2009）318-325）および遺伝子改変されたコウキクサ（Lemna minor）（Cox et al., Nature Biotechnology 12（2006）1591-1597）である。

【０２７０】

一態様において、宿主細胞は、均一なグリコフォームを生産する哺乳類細胞または非哺乳類細胞である。さらなる一態様において、宿主細胞は、例えばコアフコースを持たない抗体など、糖鎖が操作された抗体を生産するように遺伝子操作される。脱フコシル化抗体を生産するCHO細胞の例として、Lec13細胞および遺伝子改変CHO細胞、例えばGDP-マンノース-4,6-デヒドラターゼ（GMD）ノックアウト細胞；GDP-フコース輸送体ノックアウト細胞；FUT8ノックアウト細胞；FUT8および/またはGMDのRNAi；またはGlcNAcトランスフェラーゼIIIもしくはRMD（GDP-6-デオキシ-d-リキソ-4-ヘキスロースレダクターゼ）を過剰発現する細胞（Li et al. 2017 Front Immunol 13；8：1554に総説がある）が挙げられる。

【０２７１】

一態様において、宿主細胞は、抗体重鎖からC末端リジンK447残基を効率よく除去する能力を有しない宿主細胞である。例えば、Liu et al.（2008） J Pharm Sci 97：2426（参照により本明細書に組み入れられる）の表2には、例えばSp2/0、NS/0またはトランスジェニック乳腺（ヤギ）など、C末端リジンの除去が部分的にしか達成されない、そのような抗体生産系が、いくつか列挙されている。

【０２７２】

以下に実施例を挙げて本発明をさらに例示するが、これらの実施例をさらなる限定と解釈してはならない。

【０２７３】

（表１）配列表

SEQ ID NO	名称	配列
SEQ ID NO 1	VH CAMPATH-1H	QVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTVS**GFTFTDFY**MNWVRQPPG RGLEWIGF**IRDKAKGYTT**EYNPSVKGRVTMLVDTSKNQFSLRL SSVTAADTAVYYC**AREGHTAAPFDY**WGQGSLVTVSS
SEQ ID NO 2	VH CAMPATH-1H CDR1	GFTFTDFY
SEQ ID NO 3	VH CAMPATH-1H CDR2	IRDKAKGYTT
SEQ ID NO 4	VH CAMPATH-1H CDR3	AREGHTAAPFDY
SEQ ID NO 5	VL CAMPATH-1H	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKAS**QNIDKY**LNWYQQKPGKA PKLLIY**NTN**NLQTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYY C**LQHISRPRT**FGQGTKVEIK
SEQ ID NO 6	VL CAMPATH-1H CDR1	QNIDKY
	VL CAMPATH-1H CDR2	NTN
SEQ ID NO 7	VL CAMPATH-1H CDR3	LQHISRPRT
SEQ ID NO 8	VH CD20-11B8	EVQLVQSGGGLVHPGGSLRLSCTGS**GFTFSYHA**MHWVRQAP GKGLEWVSI**IGTGGVT**YYADSVKGRFTISRDNVKNSLYLQMNS LRAEDMAVYYC**ARDYYGAGSFYDGLYGMDV**WGQGTTVTVSS
SEQ ID NO 9	VH CD20-11B8 CDR1	GFTFSYHA
SEQ ID NO 10	VH CD20-11B8 CDR2	IGTGGVT
SEQ ID NO 11	VH CD20-11B8 CDR3	ARDYYGAGSFYDGLYGMDV
SEQ ID NO 12	VL CD20-11B8	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS**QSVSSY**LAWYQQKPGQA PRLLIY**DAS**NRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYY C**QQRSDWPLT**FGGGTKVEIK
SEQ ID NO 13	VL CD20-11B8 CDR1	QSVSSY
	VL CD20-11B8 CDR2	DAS
SEQ ID NO 14	VL CD20-11B8 CDR3	QQRSDWPLT
SEQ ID NO 15	VH gp120-b12	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQAS**GYRFSNFV**IHWVRQAP GQRFEWMGW**INPYNGNK**EFSAKFQDRVTFTADTSANTAYME LRSLRSADTAVYYC**ARVGPYSWDDSPQDNYYMDV**WGKGTTV IVSS
SEQ ID	VH gp120-b12	GYRFSNFV

NO 16	CDR1	
SEQ ID NO 17	VH gp120-b12 CDR2	INPYNGNK
SEQ ID NO 18	VH gp120-b12 CDR3	ARVGPYSWDDSPQDNYYMDV
SEQ ID NO 19	VL gp120-b12	EIVLTQSPGTLSLSPGERATFSCRSS**HSIRSRR**VAWYQHKPGQ APRLVIH**GVS**NRASGISDRFSGSGSGTDFTLTITRVEPEDFALY YC**QVYGASSYT**FGQGTKLERK
SEQ ID NO 20	VL gp120-b12 CDR1	HSIRSRR
	VL gp120-b12 CDR2	GVS
SEQ ID NO 21	VL gp120-b12-CDR3	QVYGASSYT
SEQ ID NO 22	定常領域ヒト HC IgG1m(f)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO 23	定常領域ヒト HC IgG1m(z)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDK**K**VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO 24	定常領域ヒト HC IgG1m(a)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKPVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR**DE**L**L**TKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO 25	定常領域ヒト HC IgG1m(x)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKPVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHE**G**LHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO 26	定常領域ヒト HC IgG1m(f)-E430G	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO 27	定常領域ヒト HC IgG1m(f)-E345K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPR**K**PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO 28	定常領域ヒト HC IgG1m(f)-E345R	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPR**R**PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO 29	定常領域ヒト HC IgG1m(f)-K439E	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ**E**SLSLSPGK
SEQ ID NO 30	定常領域ヒト HC IgG1m(f)-S440K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 31	定常領域ヒト HC IgG2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVD HKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA

10

20

30

40

		VEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO 32	定常領域ヒト HC IgG3	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV NHKPSNTKVDKRVELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCP RCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTFRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO 33	定常領域ヒト HC IgG4	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
SEQ ID NO 34	定常領域 ヒトカッパ LC	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO 35	VH CD20-7D8	EVQLVESGGGLVQPDRSLRLSCAAS**GFTFHDYA**MHWVRQAP GKGLEWVST**ISWNSGTI**GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALYYC**AKDIQYGNYYYGMDV**WGQGTTVTVSS
SEQ ID NO 36	VH CD20-7D8 CDR1	GFTFHDYA
SEQ ID NO 37	VH CD20-7D8 CDR2	ISWNSGTI
SEQ ID NO 38	VH CD20-7D8 CDR3	AKDIQYGNYYYGMDV
SEQ ID NO 39	VL CD20-7D8	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS**QSVSSY**LAWYQQKPGQA PRLLIY**DAS**NRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYY C**QQRSNWPIT**FGQGTRLEIK
SEQ ID NO 40	VL CD20-7D8 CDR1	QSVSSY
	VL CD20-7D8 CDR2	DAS
SEQ ID NO 41	VL CD20-7D8 CDR3	QQRSNWPIT
SEQ ID NO 42	VH CD37-37-3	QVQVKESGPGLVAPSQSLSITCTVS**GFSLTTSG**VSWVRQPPG KGLEWLGV**IWGDGST**NYHSALKSRLSIKKDHSKSQVFLKLNSL QTDDTATYYC**AKGGYSLAH**WGQGTLVTVSA
SEQ ID NO 43	VH CD37-37-3 CDR1	GFSLTTSG
SEQ ID	VH CD37-37-3	IWGDGST

NO 44	CDR2	
SEQ ID NO 45	VH CD37-37-3 CDR3	AKGGYSLAH
SEQ ID NO 46	VL CD37-37-3	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRAS**ENIRSN**LAWYQQKQGKS PQLLVN**VAT**NLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDFGTY YC**QHYWGTTWT**FGGGTKLEIK
SEQ ID NO 47	VL CD37-37-3 CDR1	ENIRSN
	VL CD37-37-3 CDR2	VAT
SEQ ID NO 48	VL CD37-37-3 CDR3	QHYWGTTWT
SEQ ID NO 49	VH hDR5-01-G56T	EVQLQQSGAEVVKPGASVKLSCKAS**GFNIKDTF**IHWVKQAPG QGLEWIGR**IDPANTNT**KYDPKFQGKATITTDTSSNTAYMELSSL RSEDTAVYYC**VRGLYTYYFDY**WGQGTLVTVSS
SEQ ID NO 50	VH hDR5-01-G56T CDR1	GFNIKDTF
SEQ ID NO 51	VH hDR5-01-G56T CDR2	IDPANTNT
SEQ ID NO 52	VH hDR5-01-G56T CDR3	VRGLYTYYFDY
SEQ ID NO 53	VL hDR5-01-G56T	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRAS**QSISNN**LHWYQQKPGQ APRLLIK**FAS**QSITGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYY C**QQGNSWPYT**FGQGTKLEIK
SEQ ID NO 54	VL hDR5-01-G56T CDR1	QSISNN
	VL hDR5-01-G56T CDR2	FAS
SEQ ID NO 55	VL hDR5-01-G56T CDR3	QQGNSWPYT
SEQ ID NO 56	VH hDR5-05	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GFNIKDTH**MHWVRQAP GQRLEWIGR**IDPANGNT**EYDQKFQGRVTITVDTSASTAYMELS SLRSEDTAVYYC**ARWGTNVYFAY**WGQGTLVTVSS
SEQ ID NO 57	VH hDR5-05 CDR1	GFNIKDTH
SEQ ID NO 58	VH hDR5-05 CDR2	IDPANGNT
SEQ ID NO 59	VH hDR5-05 CDR3	ARWGTNVYFAY
SEQ ID NO 60	VL hDR5-05	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSAS**SSVSY**MYWYQQKPGKAP KPWIY**RTS**NLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY C**QQYHSYPPT**FGGGTKVEIK
SEQ ID NO 61	VL hDR5-05 CDR1	SSVSY
	VL hDR5-05 CDR2	RTS

SEQ ID NO 62	VL hDR5-05 CDR3	QQYHSYPPT
SEQ ID NO 63	定常領域ヒト HC IgG1m(f)-E430G -S440K-Q438R -E333S	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PI**S**KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYT**R**K**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 64	定常領域ヒト HC IgG1m(f)-E430G -S440K-Y436K -E333S	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PI**S**KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNH**K**TQK**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 65	定常領域ヒト HC IgG1m(f)-E345K-K439E-Q438N	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPR**K**PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYT**NE**SLSLSPGK
SEQ ID NO 66	定常領域ヒト HC IgG1m(f)-E345K-S440K-Q438R	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPR**K**PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYT**R**K**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 67	定常領域ヒト HC IgG1m(f)-E345K-S440K-Y436K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPR**K**PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNH**K**TQK**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 68	定常領域ヒト HC IgG1m(f)-E345K-K439E-	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK

	Y436N	TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPR**K**PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNH**N**TQ**E**SLSLSPGK
SEQ ID NO 69	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E345R-K439E-Q438N	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPR**R**PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYT**NE**SLSLSPGK
SEQ ID NO 70	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E345R-S440K-Q438R	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPR**R**PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYT**R**K**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 71	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E345R-S440K-Y436K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPR**R**PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNH**K**TQK**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 72	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E345R-K439E-Y436N	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPR**R**PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNH**N**TQ**E**SLSLSPGK
SEQ ID NO 73	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E430G-K439E	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYTQ**E**SLSLSPGK
SEQ ID NO 74	定常領域ヒトHC	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN

	IgG1m(f)-E430G-K439E-Q438N	HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYT**NE**SLSLSPGK
SEQ ID NO 75	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E430G-S440K-Q438N	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYT**N**K**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 76	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E430G-K439E-Q438R	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYT**RE**SLSLSPGK
SEQ ID NO 77	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E430G-S440K-Q438R	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYT**R**K**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 78	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E430G-S440K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYTQK**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 79	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E430G-K439E-Y436K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNH**K**TQ**E**SLSLSPGK

SEQ ID NO 80	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E430G-S440K-Y436K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNH**K**TQK**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 81	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E430G-K439E-Y436N	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNH**N**TQ**E**SLSLSPGK
SEQ ID NO 82	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E430G-S440K-Y436N	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNH**N**TQK**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 83	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E430G-K439E-Q438N-G237A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG**A**PSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYT**NE**SLSLSPGK
SEQ ID NO 84	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E430G-S440K-Q438R-G237A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG**A**PSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYT**R**K**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 85	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E430G-S440K-Y436K-G237A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG**A**PSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP

		SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNH**K**TQK**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 86	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E430G-K439E-Y436N-G237A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG**A**PSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNH**N**TQ**E**SLSLSPGK
SEQ ID NO 87	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E430G-S440K -Q438R-K326W-E333S	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN**W**ALPA PI**S**KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYT**R**K**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 88	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-E430G-S440K -Y436K-K326W-E333S	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN**W**ALPA PI**S**KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNH**K**TQK**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 89	定常領域ヒトHC IgG2-E430G-K439E-Q438N	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVD HKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH**G**ALHNHYT**NE**SLSLSPGK
SEQ ID NO 90	定常領域ヒトHC IgG2-E430G-S440K-Q438R	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVD HKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH**G**ALHNHYT**R**K**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 91	定常領域ヒトHC IgG2-E430G-S440K-Y436K	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVD HKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR

		EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH**G**ALHNH**K**TQK**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 92	定常領域ヒト HC IgG2-E430G-K439E-Y436N	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVD HKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH**G**ALHNH**N**TQ**E**SLSLSPGK
SEQ ID NO 93	定常領域ヒト HC IgG4-S228P-E430G-K439E-Q438N	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEFLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMH**G**ALHNHYT**NE**SLSLSLGK
SEQ ID NO 94	定常領域ヒト HC IgG4-S228P-E430G-S440K-Q438R	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEFLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMH**G**ALHNHYT**R**K**K**LSLSLGK
SEQ ID NO 95	定常領域ヒト HC IgG4-S228P-E430G-S440K-Y436K	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEFLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMH**G**ALHNH**K**TQK**K**LSLSLGK
SEQ ID NO 96	定常領域ヒト HC IgG4-S228P-E430G-K439E-Y436N	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEFLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMH**G**ALHNH**N**TQ**E**SLSLSLGK
SEQ ID NO 97	定常領域ヒト HC	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN

	IgG1m(f)-I253G-E430G	HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLM**G**SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO 98	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-I253K-E430G	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLM**K**SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO 99	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-I253R-E430G	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLM**R**SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO 100	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-H310D-E430G	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVL**D**QDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO 101	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-H310R-E430G	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVL**R**QDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO 102	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-I253G-E430G-K439E	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLM**G**SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYTQ**E**SLSLSPGK

SEQ ID NO 103	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-I253K-E430G-S440K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLM**K**SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYTQK**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 104	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-I253R-E430G-S440K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLM**R**SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYTQK**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 105	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-H310D-E430G-K439E	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVL**D**QDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYTQ**E**SLSLSPGK
SEQ ID NO 106	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-H310R-E430G-S440K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVL**R**QDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH**G**ALHNHYTQK**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 107	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-K248E-T437R-K439E-Y436N	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK P**E**DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNH**NR**Q**E**SLSLSPGK
SEQ ID NO 108	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-K248E-T437R-K439E-Q438N	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK P**E**DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP

		SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHY**RNE**SLSLSPGK
SEQ ID NO 109	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-K248E-T437R-S440K-Y436K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK P**E**DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNH**KR**QK**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 110	定常領域ヒトHC IgG1m(f)-K248E-T437R-S440K-Q438R	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK P**E**DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHY**RR**K**K**LSLSPGK
SEQ ID NO 111	FcRnhsECDHis	AESHLSLLYHLTAVSSPAPGTPAFWVSGWLGPQQYLSYNSLR GEAEPCGAWVWENQVSWYWEKETTDLRIKEKLFLEAFKALGG KGPYTLQGLLGCELGPDNTSVPTAKFALNGEEFMNFDLKQGT WGGDWPEALAISQRWQQQDKAANKELTFLLFSCPHRLREHLE RGRGNLEWKEPPSMRLKARPSSPGFSVLTCSAFSFYPPELQL RFLRNGLAAGTGQGDFGPNSDGSFHASSSLTVKSGDEHHYC CIVQHAGLAQPLRVELESPAKSSHHHHHH
SEQ ID NO 112	B2M	IQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGE RIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLS QPKIVKWDRDM
SEQ ID NO 113	diFCGR2A-131H-HisBAP	METQMSQNVCPRNLWLLQPLTVLLLLASADSQAAAPPKAVLKL EPPWINVLQEDSVTLTCQGARSPESDSIQWFHNGNLIPTHTQP SYRFKANNNDSGEYTCQTGQTSLSDPVHLTVLSEWLVLQTPH LEFQEGETIMLRCHSWKDKPLVKVTFFQNGKSQKFSHLDPTFS IPQANHSHSGDYHCTGNIGYTLFSSKPVTITVQVPSMGSSSPV APPKAVLKLEPPWINVLQEDSVTLTCQGARSPESDSIQWFHNG NLIPTHTQPSYRFKANNNDSGEYTCQTGQTSLSDPVHLTVLSE WLVLQTPHLEFQEGETIMLRCHSWKDKPLVKVTFFQNGKSQK FSHLDPTFSIPQANHSHSGDYHCTGNIGYTLFSSKPVTITVQVP SMGPGSSSHHHHHHPGGGLNDIFEAQKIEWHE
SEQ ID NO 114	diFCGR2A-131R-HisBAP	MVLSLLYLLTALPGILSAAPPKAVLKLEPPWINVLQEDSVTLTCQ GARSPESDSIQWFHNGNLIPTHTQPSYRFKANNNDSGEYTCQ TGQTSLSDPVHLTVLSEWLVLQTPHLEFQEGETIMLRCHSWKD KPLVKVTFFQNGKSQKFSRLDPTFSIPQANHSHSGDYHCTGNI GYTLFSSKPVTITVQVPSMGSSSPAAPPKAVLKLEPPWINVLQE DSVTLTCQGARSPESDSIQWFHNGNLIPTHTQPSYRFKANNND SGEYTCQTGQTSLSDPVHLTVLSEWLVLQTPHLEFQEGETIML RCHSWKDKPLVKVTFFQNGKSQKFSRLDPTFSIPQANHSHSG DYHCTGNIGYTLFSSKPVTITVQVPSMGSSSPGSSSHHHHHHP GGGLNDIFEAQKIEWHE

SEQ ID NO 115	diFCGR2B-HisBAP	MVLSLLYLLTALPGILSAAPPKAVLKLEPQWINVLQEDSVTLTCR GTHSPESDSIQWFHNGNLIPTHTQPSYRFKANNNDSGEYTCQ TGQTSLSDPVHLTVLSEWLVLQTPHLEFQEGETIVLRCHSWKD KPLVKVTFFQNGKSKKFSRSDPNFSIPQANHSHSGDYHCTGNI GYTLYSSKPVTITVQAPSSSPMGPAAPPKAVLKLEPQWINVLQ EDSVTLTCRGTHSPESDSIQWFHNGNLIPTHTQPSYRFKANNN DSGEYTCQTGQTSLSDPVHLTVLSEWLVLQTPHLEFQEGETIV LRCHSWKDKPLVKVTFFQNGKSKKFSRSDPNFSIPQANHSHS GDYHCTGNIGYTLYSSKPVTITVQAPSSSPMGPGSSSHHHHH HPGGGLNDIFEAQKIEWHE
SEQ ID NO 116	diFCGR3A-158F-HisBAP	MVLSLLYLLTALPGISTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKC QGAYSPEDNSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRC QTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPRWVFKEEDPIHLRCHSWK NTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL FGSKNVSSETVNITITQGPSMGSSSPSEDLPKAVVFLEPQWYR VLEKDSVTLKCQGAYSPEDNSTQWFHNESLISSQASSYFIDAA TVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPRWVFKEE DPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATL KDSGSYFCRGLFGSKNVSSETVNITITQGPSMGSSSPGPGSSS HHHHHHPGGGLNDIFEAQKIEWHE
SEQ ID NO 117	diFCGR3A-158V-HisBAP	MVLSLLYLLTALPGISTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKC QGAYSPEDNSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRC QTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPRWVFKEEDPIHLRCHSWK NTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL VGSKNVSSETVNITITQGPSMGSSSPSEDLPKAVVFLEPQWYR VLEKDSVTLKCQGAYSPEDNSTQWFHNESLISSQASSYFIDAA TVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPRWVFKEE DPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATL KDSGSYFCRGLVGSKNVSSETVNITITQGPSMGSSSPGPGSSS HHHHHHPGGGLNDIFEAQKIEWHE
SEQ ID NO 118	FCGR1A-ECDHis	MWWRLWWLLLLLLLLLWPMVWAQVDTTKAVITLQPPWVSVFQ EETVTLHCEVLHLPGSSSTQWFLNGTATQTSTPSYRITSASVN DSGEYRCQRGLSGRSDPIQLEIHRGWLLLQVSSRVFTEGEPLA LRCHAWKDKLVYNVLYYRNGKAFKFFHWNSNLTILKTNISHNG TYHCSGMGKHRYTSAGISVTVKELFPAPVLNASVTSPLLEGNL VTLSCETKLLLQRPGLQLYFSFYMGSKTLRGRNTSSEYQILTAR REDSGLYWCEAATEDGNVLKRSPELELQVLGLQLPTPVHHHH HHHH

【０２７４】

（表２）自己オリゴマー化阻害性置換＊

第1Fc領域含有ポリペプチド	第2Fc領域含有ポリペプチド
K439E	S440K
S440K	K439E
I253G	H310R
I253K	H310D
I253R	H310D
H310R	I253G
H310D	I253K
H310D	I253R
Y436N	Y436K
Y436N	Q438N
Y436N	Q438R
Y436K	Y436N
Y436K	Q438N
Y436K	Q438R
Q438N	Y436N
Q438N	Y436K
Q438N	Q438R
Q438R	Y436N
Q438R	Y436K
Q438R	Q438N
I253G-K439E	H310R-S440K
H310D-K439E	I253R-S440K
H310D-K439E	I253K-S440K
Y436N-K439E	Y436K-S440K
Y436N-K439E	Q438N-S440K
Y436N-K439E	Q438R-S440K
Y436K-K439E	Y436N-S440K
Y436K-K439E	Q438N-S440K
Y436K-K439E	Q438R-S440K
Q438N-K439E	Y436N-S440K
Q438N-K439E	Y436K-S440K
Q438N-K439E	Q438R-S440K
Q438R-K439E	Y436N-S440K
Q438R-K439E	Y436K-S440K
Q438R-K439E	Q438N-S440K

表2＊各列は自己オリゴマー化阻害性置換を示し、各行は相補的な自己オリゴマー化阻害を示す。

【０２７５】

（表３）実施例5～23において試験した置換

置換	目的
G237A	FcガンマR結合の阻害
K248E	自己オリゴマー化の刺激
I253G	自己オリゴマー化の阻害
I253K	自己オリゴマー化の阻害
I253R	自己オリゴマー化の阻害
H310D	自己オリゴマー化の阻害
H310R	自己オリゴマー化の阻害
K326W	C1q結合の刺激
E333S	C1q結合の刺激
E345K	自己オリゴマー化の刺激
E345R	自己オリゴマー化の刺激
E430G	自己オリゴマー化の刺激
Y436N	自己オリゴマー化の阻害
Y436K	自己オリゴマー化の阻害
T437R	自己オリゴマー化の刺激
Q438N	自己オリゴマー化の阻害
Q438R	自己オリゴマー化の阻害
K439E	自己オリゴマー化の阻害
S440K	自己オリゴマー化の阻害

【実施例】

【０２７６】

実施例1：抗体の作製、生産、および精製

抗体用の発現コンストラクト

本明細書において使用されるヒト抗体およびヒト化抗体を発現させるために、可変重（VH）鎖および可変軽（VL）鎖配列を遺伝子合成によって調製し（GeneArt Gene Synthesis；ThermoFisher Scientific、ドイツ）、ヒトIgG重鎖の定常領域（HC）（定常領域ヒトIgG1m（f）HC：SEQ ID NO：22；定常領域ヒトIgG2 HC：SEQ ID NO：31；定常領域ヒトIgG3 HC：SEQ ID NO：32；または定常領域ヒトIgG4 HC：SEQ ID NO：33）および/またはヒトカッパ軽鎖の定常領域（LC）：SEQ ID NO：34を含有するpcDNA3.3発現ベクター（ThermoFisher Scientific、米国）にクローニングした。所望の変異は遺伝子合成によって導入された。本願におけるCD20抗体変種は以前に記載されたCD20抗体（WO2004/035607）IgG1-CD20-7D8（VH：SEQ ID NO：35；VL：SEQ ID NO：39）およびIgG1-CD20-11B8（VH：SEQ ID NO：8；VL：SEQ ID NO：12）に由来するVH配列およびVL配列を有する。本願におけるCD52抗体変種は以前に記載されたCD52抗体CAMPATH-1H（アレムツズマブ；Crowe et al., 1992 Clin Exp Immunol. 87（1）：105-110；VH：SEQ ID NO：1；VL：SEQ ID NO：5）に由来するVH配列およびVL配列を有する。本願におけるCD37抗体変種は以前に記載されたCD37抗体IgG1-CD37-37.3（WO2011/112978；VH：SEQ ID NO：42；VL：SEQ ID NO：46）に由来するVH配列およびVL配列を有する。本願におけるDR5抗体変種は以前に記載されたDR5抗体DR5-01-G56T（WO 2017/093447；VH：SEQ ID NO：49；VL：SEQ ID NO：53）およびDR5-05（WO2014/009358；VH：SEQ ID NO：56；VL：SEQ ID NO：60）に由来するVH配列およびVL配列を有する。いくつかの実験ではHIV gp120特異的抗体であるヒトIgG1抗体b12を陰性対照として使用した（Barbas et al., J Mol Biol. 1993 Apr 5；230（3）：812-23；VH：SEQ ID NO：15；VL：SEQ ID NO：19）。

【０２７７】
一過性発現
抗体をIgG1κとして発現させた。抗体の重鎖と軽鎖の両方をコードするプラスミドDNA混合物を、本質的にVinkら（Vink et al., Methods, 65（1）, 5-10 2014）が記載しているように、293fectin（Life Technologies）を使って、Expi293F細胞（Gibco、カタログ番号A14635）に一過性にトランスフェクトした。上清中の抗体濃度を280nmにおける吸光度によって測定した。抗体はインビトロアッセイにそのまま使用するか、または後述のように精製した。
【０２７８】
タンパク質の精製および分析
抗体をプロテインAアフィニティークロマトグラフィーによって精製した。培養上清を0.20μMデッドエンドフィルタで濾過し、5mL MabSelect SuReカラム（GE Healthcare）にローディングし、0.02Mクエン酸ナトリウム-NaOH、pH3で洗浄、溶出した。精製後直ちに溶出液をHiPrep脱塩カラム（GE Healthcare）にローディングし、抗体を12.6mM NaH_2PO_4、140mM NaCl、pH7.4緩衝液（B.BraunまたはThermo Fisher）に緩衝液交換した。緩衝液交換後に、0.2μmデッドエンドフィルタで試料を滅菌濾過した。精製タンパク質を、ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲルでのキャピラリー電気泳動（CE-SDS）および高速サイズ排除クロマトグラフィー（HP-SEC）を含むいくつかの生物分析アッセイで分析した。濃度は280nmにおける吸光度によって測定した。精製抗体は2～8℃で保存した。
【０２７９】
実施例2：位置I253またはH310に変異を持つIgG1-Campath-E430G変種のCDC活性
本発明者らは、IgG1抗体b12（Protein Data Bank 1HZH；Ollman Sapphire et al, Science 2001, 293（5532）：1155-1159）の結晶構造におけるFc-Fc界面を、Fc-Fc界面の両側で立体的近接性と側鎖配向を示す分子間アミノ酸ペアについて探索した。変異ペアを、同じ変異を有する抗体間のFc-Fc相互作用を妨害し、それぞれが一方の変異および他方の変異を保持する2種の抗体の混合物によってFc-Fc相互作用を復旧することによる細胞表面標的結合抗体間での分子間Fc-Fc相互作用の制御における相補性について、試験した。詳細な変異導入および機能的特性解析のためにアミノ酸ペアI253＋H310を選択した。位置253のイソロイシンおよび位置310のヒスチジンをシステインまたはプロリンを除く他の任意のアミノ酸で置換して、IgG1-Campath-E430G（すなわち、位置430にFc-Fc相互作用を強化するGlu→Gly変異を含む、重鎖定常ドメインSEQ ID：26を含有する抗体Campath-1H（WO2013004842））に変異を導入することにより、位置I253およびH310に基づいて、抗体変異体ライブラリーを作製した。次に、位置253および310での個々の変異の効果ならびに考えうるすべてのI253およびH310変異ペアが、それぞれのIgG1-Campath-E430G変種ならびにそれらの混合物のCDC効力に及ぼす効果を、Wien 133細胞（英国オックスフォードのBioAnaLab Limited、Geoff Hale博士のご厚意により提供されたもの）を用いるインビトロCDCアッセイで試験した。細胞を収集し、培地［0.2％ウシ血清アルブミン（BSA；Roche、カタログ番号10735086001）を含むRPMI（Lonza、カタログ番号BE12-115F）］に再懸濁した。1ウェルあたり5,000個の細胞を、ヒト補体源としての5％正常ヒト血清（NHS；Sanquin、参照番号M0008）の存在下で、単独の抗体および抗体の組合せの濃度系列（2倍希釈で15.6～2000ng/mLの最終抗体濃度；実施例1で述べた一過性トランスフェクションの上清の希釈液）と共にインキュベートした。同時に、TO-PRO-3ヨウ化物（ThermoFischer Scientific、カタログ番号T3605、最終濃度1μM）を細胞生存マーカーとして加え、細胞の存在を検出するためにSYBR Green I（ThermoFischer Scientific、カタログ番号S7563；元の保存用濃縮物から12,500倍希釈したもの）を加えた。アッセイプレートを室温で1時間インキュベートし、Celigo Imaging Cytometer（Brooks Life Science Systems）を使ったフローサイトメトリーで決定されるTO-PRO-3ヨウ化物陽性細胞の分率（％）として殺滅を算出した。
【０２８０】
試験したいくつかのI253およびH310アミノ酸置換の導入は、EC50値の増加によって表さ

れるとおり、IgG1-Campath-E430GのCDC効力の阻害をもたらした（図2に要約する；IgG1-Campath-E430GのEC50値は＜15ng/μLであった）。それぞれが位置253または310のどちらかに変異を含有するIgG1-Campath-E430G変種の混合物はそのほとんどが、単独の抗体によって媒介されるCDC効力の阻害を克服することはなかった。しかし変異ペアI253G（Ile253→Gly）＋H310R（His310→Arg）は例外で、これはそれぞれ、単独のIgG1-Campath-E430G変種（I253G変異またはH310R変異を含有するもの）として導入され試験された場合には、それぞれCDC阻害を示したが、I253GまたはH310Rのどちらかをそれぞれが含有する2種のIgG1-Campath-E430G変種の混合物として試験した場合には、CDC効力の完全な復旧を示した。さらにまた、変異ペアI253K（Ile253→Lys）＋H310D（His310→Asp）およびI253R（Ile253→Arg）＋H310Dについては、単独のIgG1-Campath-E430G変種（I253K変異、I253R変異またはH310D変異を含有するもの）ではCDC阻害が観察され、一方がI253K変異またはI253R変異を含有し、他方がH310Dを含有する2種のIgG1-Campath-E430G変種の混合物では、CDC効力の部分的復旧が観察された（図2）。

【０２８１】

これらの結果から、E430G Fc-Fc強化変異を持つヒトIgG1抗体中の位置I253およびH310におけるどのFc変異が、I253変異またはH310変異のどちらか一方を含有する単独の変種によるFc-Fc相互作用の阻害およびCDC効力の阻害を示し、かつそれぞれが2種の相補的なI253変異およびH310変異の一方を含有する2種の変種を混合することによってその復旧を示す相補的変異ペアを作り出すかは、予測不可能であると結論することができる。Wien 133細胞での、位置I253およびH310のIgG1-Campath-E430G抗体変種によるCDCアッセイを使って、I253G＋H310R、I253K＋H310DおよびI253R＋H310Dが、E430G Fc-Fc強化変異を持つ抗体のCDC活性の制御、すなわち単独の変種（I253G、I253K、H310DまたはH310R）によるCDC効力の阻害と、それらの相補的混合物（I253G＋H310R、I253K＋H310DまたはI253R＋H310D）による復旧とを示す相補的変異ペアであると同定された。

【０２８２】

実施例3：位置Y436またはQ438に変異を持つIgG1-Campath-E430G変種のCDC活性

実施例2に記載のアミノ酸ペアI253＋H310と同様に、詳細な変異導入および機能的特性解析のために、アミノ酸ペアY436＋Q438も選択した。IgG1-Campath-E430Gにおいて位置436のチロシンおよび位置438のグルタミンをシステインまたはプロリンを除く他の任意のアミノ酸で置換することにより、位置Y436およびQ438に基づいて、抗体変異体ライブラリーを作製した。次に、位置436および438での個々の変異の効果ならびに考えうるすべてのY436およびQ438変異ペアが、それぞれのIgG1-Campath-E430G変種ならびにそれらの混合物のCDC効力に及ぼす効果を、実施例2で述べたように、Wien 133細胞を用いるインビトロCDCアッセイで試験した。

【０２８３】

試験したいくつかのY436およびQ438アミノ酸置換の導入は、EC50値の増加によって表されるとおり、IgG1-Campath-E430GのCDC効力の阻害をもたらした（図3に要約する；IgG1-Campath-E430GのEC50値は＜15ng/mLであった）。それぞれが位置436または438のどちらかに変異を含有するIgG1-Campath-E430G変種の混合物はその多くが、単独の抗体によって媒介されるCDC効力の阻害を克服することはなかった。しかし、変異ペアY436K＋Q438G、Y436K＋Q438H、Y436K＋Q438K、Y436K＋Q438N、Y436K＋Q438R、Y436N＋Q438G、Y436N＋Q438H、Y436N＋Q438K、Y436N＋Q438N、Y436N＋Q438R、Y436Q＋Q438G、Y436Q＋Q438H、Y436Q＋Q438K、Y436Q＋Q438N、Y436Q＋Q438R、Y436R＋Q438G、Y436R＋Q438H、Y436R＋Q438K、Y436R＋Q438N、またはY436R＋Q438Rを引き合わせるIgG1-Campath-E430G変種の混合物については、CDC効力の部分的復旧が観察された（図3）。

【０２８４】

これらの結果から、E430G Fc-Fc強化変異を持つヒトIgG1抗体中の位置Y436およびQ438におけるどのFc変異が単独の変異体によるFc-Fc相互作用の阻害を示すか、そして具体的な2種の変種の混合物がそれを復旧させうるかどうかは、予測不可能であると結論することができる。Wien 133細胞での、位置Y436およびQ438のIgG1-Campath-E430G抗体変種によ

るCDCアッセイを使って、E430G Fc-Fc強化変異を持つ抗体のFc-Fc相互作用およびCDC活性を阻害することができるY436K、Y436N、Y436Q、Y436R、Q438G、Q438H、Q438K、Q438NおよびQ438R変異が同定され、位置436におけるこれらの変異の1つと、位置438におけるこれらの変異の1つとの混合物はいずれも、単独変異体のFc-Fc相互作用およびCDC効力の阻害を復旧することができる相補的なY436；Q438変異ペアであると同定された。

【０２８５】

実施例4：位置K439またはS440に変異を持つIgG1-Campath-E430G変種のCDC活性

アミノ酸ペアI253＋H310（実施例2に記載）およびY436＋Q438（実施例3に記載）と同様に、詳細な変異導入および機能的特性解析のために、アミノ酸ペアK439＋S440も選択した。IgG1-Campath-E430Gにおいて位置439のリジンおよび位置440のセリンをシステインまたはプロリンを除く他の任意のアミノ酸で置換することにより、位置K439およびS440に基づいて、抗体変異体ライブラリーを作製した。次に、位置439および440での個々の変異の効果ならびに考えうるすべてのK439およびS440変異ペアが、それぞれのIgG1-Campath-E430G変種ならびにそれらの混合物のCDC効力に及ぼす効果を、実施例2で述べたように、Wien 133細胞を用いるインビトロCDCアッセイで試験した。

【０２８６】

試験したいくつかのK439およびS440アミノ酸置換の導入は、EC50値の増加によって表されるとおり、IgG1-Campath-E430GのCDC効力の阻害をもたらした（図4に要約する；IgG1-Campath-E430GのEC50値は＜15ng/mLであった）。それぞれが位置439または440のどちらかに変異を含有するIgG1-Campath-E430G変種の混合物はその多くが、単独の抗体によって媒介されるCDC効力の阻害を克服することはなかった。S440KをK439E、K439F K439I、K439Y、K439T、K439VまたはK439Wと組み合わせる変異ペアの場合に限り、単独のIgG1-Campath-E430G変種として導入して試験した場合にはCDC阻害が観察され、それぞれがS440K変異またはこれらのK439変異のうちの1つのどちらかを含有する2種のIgG1-Campath-E430G変種の混合物として試験した場合にはCDC効力の復旧が観察された（図4）。

【０２８７】

これらの結果から、E430G Fc-Fc強化変異を持つヒトIgG1抗体中の位置K439およびS440におけるどのFc変異が、K439変異またはS440変異の一方または他方を含有する単独の変種によるFc-Fc相互作用の阻害およびCDC効力の阻害を示し、かつそれぞれが2種の相補的なK439変異およびS440変異の一方を含有する2種の混合物によるその復旧を示す相補的変異ペアを作り出すかは、予測不可能であると結論することができる。Wien 133細胞での、位置K439およびS440のIgG1-Campath-E430G抗体変種によるCDCアッセイを使って、K439E＋S440K、K439F＋S440K、K439I＋S440K、K439Y＋S440K、K439T＋S440K、K439V＋S440KおよびK439W＋S440Kが、E430G Fc-Fc強化変異を持つ抗体のCDC活性の制御、すなわち単独の変種によるCDC効力の阻害と、それらの相補的混合物による復旧とを示す相補的変異ペアであると同定された。

【０２８８】

実施例5：ヒトIgG1-E430G抗体の位置I253およびH310における相補的変異ペアの検証

実施例2で述べたCDCアッセイにおいて同定された相補的I253＋H310変異ペアによるFc-Fc相互作用およびCDC効力の制御を、インビトロCDCアッセイにおいて、精製抗体のさらなる濃度滴定系列で検証した。ポリスチレン丸底96ウェルプレート（Greiner bio-one、カタログ番号650101）において、培養培地（0.2%BSAを含むRPMI）80μL中で、0.1×10^{6}個のWien 133細胞を、IgG1-Campath-E430G変種の精製試料の濃度系列（3倍希釈ステップで最終濃度範囲0.03～10.0μg/mL）と共に、振とう機上、室温で15分間、プレインキュベートした。次に、20μLのNHSを補体源として加え（最終NHS濃度20%）、37℃で45分間インキュベートした。プレートを氷にのせることによって反応を停止してから、遠心分離によって細胞をペレット化し、上清を30μLの1.67μg/mLヨウ化プロピジウム溶液（PI；Sigma Aldrich、オランダ・ズウェイナールデ）で置き換えた。CDC効力は、Intellicyt iQue（商標）スクリーナー（Westburg）を用いるフローサイトメトリーで測定されるPI陽性細胞百分率によって決定した。データは、GraphPad PRISM 7.02（GraphPad Software、米国カ

リフォルニア州サンディエゴ）で、対数変換濃度を使った非線形用量応答フィットのベストフィット値を使って分析した。溶解百分率は（PI陽性細胞の数/総細胞数）×100％として算出した。

【０２８９】

I253GまたはH310Rの導入は、I253G変異またはH310R変異のどちらか一方を含有する単独のIgG1-Campath-E430G抗体変種についてはCDC阻害をもたらし、それらの混合物ではCDC効力の完全な復旧をもたらした（図5A）。

【０２９０】

I253K、I253RまたはH310Dの導入は、I253K、I253RまたはH310D変異のいずれか一つを含有する単独のIgG1-Campath-E430G抗体変種についてはCDC阻害をもたらし、変異ペアI253K＋H310D（図5B）またはI253R＋H310D（図5C）を引き合わせる2種の抗体変種の混合物によるCDC効力の部分的復旧をもたらした。

【０２９１】

総合すると、これらの結果から、実施例2において同定された相補的変異ペアI253G＋H310R、I253K＋H310D、またはI253R＋H310Dの導入は、E430GなどのFc-Fc強化バックグラウンド変異を持つ2種のヒトIgG1抗体の混合物におけるFc-Fc相互作用およびCDC効力を制御するために使用できることが確認された。

【０２９２】

実施例1：ヒトIgG1における相補的Fc-Fc阻害性変異ペアの組合せ

混合された抗体ペアの高い力価は保ったまま単独抗体剤のCDC活性をさらに抑制することを目指して、実施例2および実施例3で述べたCDCアッセイにおいてCDC効力の効率のよい阻害をもたらしたFc変異の一部を、IgG1-Campath-E430Gにおいて、自己オリゴマー化阻害性変異K439EまたはS440K（実施例4；WO2013004842）と組み合わせた。これらの変異の組合せの効果を、実施例5で述べたようにWien 133細胞を用いるインビトロCDCアッセイで試験した。相補的変異ペアI253G＋H310R、I253K＋H310D、I253R＋H310D（実施例2において同定されたもの）、Y436N＋Q438R、およびQ438N＋Y436K（実施例3において同定されたもの）を、K439EおよびS440Kとペアワイズに組み合わせることで、Fc-Fc自己オリゴマー化阻害二重変異体ペアI253G/K439E＋H310R/S440K、H310D/K439E＋I253K/S440K、H310D/K439E＋I253R/S440K、Y436N/K439E＋Q438R/S440K、およびQ438N/K439E＋Y436K/S440Kを得た。さらにまた、K439E＋S440Kとさまざまな Y436変異またはQ438変異（実施例3で同定されたもの）との以下の組合せも、IgG1-Campath-E430G中で試験した：Y436N/K439E（SEQ ID NO：81を含有する）＋Y436K/S440K（SEQ ID NO：80を含有する）およびQ438N/K439E（SEQ ID NO：74を含有する）＋Q438R/S440K（SEQ ID NO：77を含有する）。

【０２９３】

試験した自己オリゴマー化阻害性二重変異の導入はすべて、自己オリゴマー化阻害性変異K439EまたはS440Kを1つしか持たないIgG1-Campath-E430G抗体変種よりも強いCDCの阻害をもたらした（図6）。試験した変異ペアの組合せでは、I253G/K439E＋H310R/S440K（図6A）、H310D/K439E＋I253K/S440K（図6B）、H310D/K439E＋I253R/S440K（図6C）およびY436N/K439E＋Q438R/S440K変異ペア（図6D）で、CDC効力の完全な復旧が観察された。したがってこれらは、CDC効力を制御するための大きなウインドウ（単独抗体の阻害されたCDC効力と、それらの組合せの復旧したCDC効力との間の差）を示す相補的変異ペアである。

【０２９４】

IgG1-Campath-E430G抗体変種の混合物について、Q438N/K439EおよびY436K/S440Kの混合物で（図6E）、そして先の実施例では同定されていなかったため予想外であったが、混合物Q438N/K439E＋Q438R/S440Kでも（図6F）、CDC活性の部分的回復が観察された。これらの混合物は、個々の抗体よりも高いCDC効力を示したが、自己オリゴマー化阻害性変異を持たない親抗体IgG1-Campath-E430Gまたは1つの自己オリゴマー化阻害性変異ペアK439E＋S440Kだけを持つ2種のIgG1-Campath-E430G変種の抗体組合せよりは低いCDC効力を示した（図6E/F）。

【０２９５】

Fc-Fc阻害性二重変異ペアY436N/K439E＋Y436K/S440Kを持つIgG1-Campath-E430G抗体変種の組合せでは、CDC効力の復旧は観察されなかった（図6G）。

【０２９６】

総合すると、E430GなどのFc-Fc相互作用強化変異を持つ抗体について、自己オリゴマー化阻害性変異ペアによる阻害されたCDC効力と復旧したCDC効力との間の「ウインドウ」は、各抗体において2つ以上の自己オリゴマー化阻害性変異を組み合わせることによって調整できることが示された。ただし、IgG1-Campath-E430G変種の異なる組合せによって達成されるウインドウの幅は予測不可能であった。

【０２９７】

実施例7：抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H抗体変種のFcRn結合

新生児型Fc受容体（FcRn）は、IgGを分解から保護することによって、IgGの長い血漿中半減期の原因となる。抗体の内部移行後に、FcRnはエンドソーム内で抗体Fc領域に結合するが、その相互作用は温和な酸性環境（pH6.0）内で安定である。中性（pH7.4）環境である形質膜にリサイクルされると、相互作用は失われ、抗体は再び循環へと放出される。これがIgGの血漿中半減期に影響を及ぼす。

【０２９８】

六量体化強化変異E430Gと、自己オリゴマー化阻害性変異K439EまたはS440Kのうちの1つと、実施例2において同定された自己オリゴマー化阻害性変異I253G、I253K、I253R、H310DもしくはH310Rまたは実施例3において同定されたY436K、Y436N、Q438NもしくはQ438Rのうちの1つとを含有する抗CD52 IgG1-CAMPATH-1HへのヒトFcRnの結合を評価するために、FcRn結合酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）を行った。Streptawell 96ウェルプレート（Roche、カタログ番号1734776001）を、0.05％Tween 20を補足したPBS（PBST）＋0.2％BSAに希釈した5μg/mL（100μL/ウェル）のヒトFcRnの組換え生産ビオチン化細胞外ドメイン［FcRnECDHis-B2M-BIO、すなわちベータ2ミクログロブリン（B2M；SEQ ID NO：112）との二量体としてのC末端Hisタグを持つヒトFcRnの細胞外ドメイン（FcRnECDHis；SEQ ID NO：111）］で、室温（RT）において振とうしながら2時間、コーティングした。プレートをPBSTで3回洗浄した。段階希釈した抗体試料（PBST/0.2％BSA、pH6.0またはpH7.4での5倍希釈で最終濃度範囲0.003～40μg/mL）を加え、振とうしながらRTで1時間インキュベートした。プレートをPBST/0.2％BSA、pH6.0またはpH7.4で洗浄した。PBST/0.2％BSA、pH6.0またはpH7.4で希釈したセイヨウワサビペルオキシダーゼ（HRP）コンジュゲートポリクローナルヤギ抗ヒトカッパ軽鎖（1：5,000；Sigma、カタログ番号A-7164）を加え、プレートを振とうしながらRTで1時間インキュベートした。PBST/0.2％BSA、pH6.0またはpH7.4で洗浄した後、100μLの2,2'-アジノ-ビス（3-エチルベンズチアゾリン-6-スルホン酸）（ABTS；1mg/mL；Roche、カタログ番号11112422001および11112597001）を基質として加え、プレートを遮光下に室温で10分間インキュベートした。100μLの2％シュウ酸（Riedel de Haen、カタログ番号33506）を使って反応を停止し、RTにおいて10分間インキュベートし、ELISAリーダーを使って405nmにおける吸光度を測定した。GraphPad Prismソフトウェアを使って、可変勾配のシグモイド用量応答曲線をフィッティングすることにより、対数変換データを分析した。

【０２９９】

試験したIgG1-CAMPATH-1H抗体変種はいずれも、pH7.4では、ヒトFcRnへの結合を示さなかった。pH6.0では、抗体IgG1-b12、野生型抗CD52 IgG1-CAMPATH-1Hおよび抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H変種E430G、K439E、ならびにアミノ酸位置Y436およびQ438に変異を持つ抗CD52 IgG1-CAMPATH-1Hの抗体変種が結合を示した（図7）。加えて、S440K変異はFcRn結合を阻害しなかった。対照的に、アミノ酸位置I253およびH310に変異を持つ抗CD52 IgG1-CAMPATH-1Hの抗体変種では、pH6.0においてFcRnへの結合は観察されなかった。総合すると、これらの結果は、六量体化強化変異E430Gおよび自己オリゴマー化阻害性変異K439E、S440K、Y436K、Y436N、Q438Nおよび/またはQ438Rを持つ抗CD52 IgG1-CAMPATH-1HがヒトFcRnへの正常な結合を示し、FcRnへの結合能は、自己オリゴマー化阻害性変異H310D、H310R、I253G、I253KまたはI253Rの導入によって失われたことを示している。

【０３００】

実施例8：Y436K、Y436N、Q438NおよびQ438R変異が、六量体化強化変異およびK439EまたはS440Kを持つ抗CD52抗体のインビトロFcγR結合に及ぼす効果

精製抗体を使って、FcγRIIAアロタイプ131H（SEQ ID NO：113）、FcγRIIAアロタイプ131R（SEQ ID NO：114）、FcγRIIB（SEQ ID NO：115）、FcγRIIIAアロタイプ158F（SEQ ID NO：116）およびFcγRIIIAアロタイプ158V（SEQ ID NO：117）の二量体型ECDへのIgG1-CAMPATH-1Hの結合を、ELISAアッセイで試験した。二量体型FcγR変種への結合を検出するために、96ウェルMicrolon ELISAプレート（Greiner、ドイツ）をPBS中のヤギF（ab'）$_2$-抗ヒト-IgG-F（ab'）$_2$（Jackson Laboratory、109-006-097、1μg/mL）で4℃において一晩コーティングし、洗浄し、200μL/ウェルのPBS/0.2%BSAで室温（RT）において1時間ブロッキングした。インキュベーションの間に洗浄を挟みながら、プレートを、PBST/0.2%BSA中のIgG1-CAMPATH-1H抗体変種の希釈系列（5倍ステップで0.0013～20μg/mL）100μL/ウェルと共に振とうしながらRTで1時間、PBST/0.2%BSA中の二量体型Hisタグ付きC末端ビオチン化FcγR ECD変種（1μg/mL）100μL/ウェルと共に振とうしながらRTで1時間、そして検出抗体としてのPBST/0.2%BSA中のストレプトアビジン-ポリHRP（CLB、M2032、1：10.000）100μL/ウェルと共に振とうしながらRTで30分間、逐次インキュベートした。発色は1mg/mL ABTS（Roche、ドイツ・マンハイム）を使って約24分（IIB）または30分（IIA-131H、IIA-131R、IIIA-158V、IIIA-158F）にわたって行った。反応を停止させるために100μL/ウェルの2%シュウ酸を加えた。マイクロプレートリーダー（BioTek、バーモント州ウィヌースキ）で405nmにおける吸光度を測定した。20μg/mLの抗体濃度でのFcγR結合をプロットした。データは3つの独立したレプリケートに基づき、ELISAにおけるバックグラウンドシグナル（抗体なしの対照、0%）および100%に設定した内部標準IgG1-CAMPATH-1H-E430Gに対して実験ごとに正規化する。

【０３０１】

Fc-Fc相互作用特性が調節された共依存性抗体混合物の一定の応用には、無傷のFcγR媒介性エフェクター機能の存在が必要になりうる。Fc-Fc相互作用強化変異E430Gおよび自己オリゴマー化阻害性変異K439E、S440K、Y436K、Y436N、Q438NおよびQ438Rを持つIgG1-CAMPATH-1H変種のFcγRIIa、FcγRIIbおよびFcγRIIIaへの結合をELISAによって評価したところ、試験したすべての抗体が20μg/mlの抗体濃度においてFcγR結合を保っていることが明らかになった（図8A～E）。変種IgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440K-Y436KおよびIgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440K-Q438Rについては比較的低いFcγR結合が観察された。

【０３０２】

結論として、Fc-Fc相互作用強化変異E430Gならびに自己オリゴマー化阻害性変異K439E、S440K、Y436K、Y436N、Q438NおよびQ438Rを持つIgG1-CAMPATH-1H抗体変種はFcγR結合を保っていた。

【０３０３】

実施例9：E430G Fc-Fc相互作用強化変異を持つ抗CD52 IgG1-CAMPATH-1HへのFc-Fc自己オリゴマー化阻害性変異の導入による混合された抗体変種によるCDC活性の選択性

E430G Fc-Fc相互作用強化変異を持つ抗CD52抗体IgG1-CAMPATH-1Hの変種の混合物を使って、自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436N、Q438N、Q438R、K439EおよびS440Kがインビトロ CDC効力に及ぼす効果を試験した。さまざまな濃度の精製抗体（最終濃度範囲0.01～40.0μg/mL）を、20%NHSを用いるWien 133細胞でのインビトロCDCアッセイで試験した。抗体IgG1-CAMPATH-1Hに、次に挙げるさまざまな変異を導入した：強化されたFc-Fc相互作用を誘導するE430G、および自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436N、Q438N、Q438R、K439E、もしくはS440Kのうちの1つまたは複数。個々の構成要素およびそれらから構成される混合物の濃度の直接比較が可能になるように、対照として、単独の抗体を非結合性アイソタイプ対照抗体IgG1-b12とも1：1で混合し、以下、これらの条件を単剤活性という。CDCアッセイのために、0.2%ウシ血清アルブミン（BSA；Roche、カタログ番号10735086001）を含むRPMI（Sigma、カタログ番号R5886-500mL）中のWien 133細胞（英国オックスフォード、BioAnaLab LimitedのGeoff Hale博士のご厚意により提供されたもの）0.1×10

^{6}個を、ポリスチレン丸底96ウェルプレート（Greiner bio-one、カタログ番号650180）中、80μLの総体積で、精製抗体の濃度系列と共に、振とう機上、RTで15分間、プレインキュベートした。次に、20μLの正常ヒト血清（NHS；Sanquin）を補体源として加え、その混合物を37℃のインキュベーターで45分間インキュベートした（最終NHS濃度20％；最終IgG濃度は3.3倍希釈で40～0.01μg/mL）。プレートを氷にのせることによって反応を停止してから、遠心分離によって細胞をペレット化し、上清を30μLの2μg/mLヨウ化プロピジウム溶液（PI；Sigma Aldrich、カタログ番号1002570846）で置き換えた。PI陽性細胞の数をIntellicyt iQueスクリーナー（Westburg）でのフローサイトメトリーによって決定し、溶解百分率を（PI陽性細胞の数/細胞の総数）×100％として算出した。GraphPad Prism 7を使って、2つの実験レプリケートの対数変換濃度による用量応答曲線下面積を算出し、平均した。相対的曲線下面積（AUC）値は、非結合性対照IgG1-b12によって誘導される溶解（0％）および抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H-E430Gによる最大溶解（100％）に対して正規化された値を表す。

【０３０４】

抗CD52抗体IgG1-CAMPATH-1H-E430Gは、非結合性対照IgG-b12（0％に設定）と比較して、効率のよいWien 133細胞の溶解（曲線下面積（AUC）として表される；図9A；100％に設定）を誘導した。他の抗体試料はすべて、これらの対照反応と等価な総IgG濃度を含有したが、1：1の比で混合された2つの異なる抗体で構成された。IgG1-CAMPATH-1H-E430GにK439E変異またはS440K変異を導入して変種E430G-K439EおよびE430G-S440Kを作出したところ、単剤としてIgG1-b12と組み合わせて試験した場合にはCDC効力は減少したが（図9A）、どちらの変種も実質的な単剤活性を、特に40μg/mLのIgG濃度では、保っていた（図9B）。IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439EおよびIgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440Kを混合すると、CDC効力は回復した。単剤としてIgG1-b12と組み合わせて試験した場合のIgG1-Campath-1H-E430G-S440Kの残存CDC効力は、変異Y436K、Y436N、Q438NまたはQ438Rのいずれかを導入することによって、40μg/mLのIgG濃度での効力を含めて、著しく減少した（図9B）。変異Y436K、Y436NまたはQ438Nのいずれかを IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439Eに導入した場合にも、単剤としてIgG1-b12と共に試験すると、CDC効力の著しい減少が観察された。これとは全く対照的に、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439Eへの変異Q438Rの導入は、IgG1-b12と組み合わせた単剤としてのCDC効力を増加させた（図9A、図9B）。

【０３０５】

自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436N、Q438NまたはQ438Rを持つIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439EおよびIgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440Kの変種を組み合わせると、CDC効力（AUCとして表される、図9A）および最大細胞溶解百分率（図9B）の実質的な回復が、Y436K変異を保持する1つの抗体とY436N変異を保持する1つの抗体を組み合わせた場合を例外として、すべての組合せで観察された。前記の例外は、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436NをIgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440K-Y436Kと組み合わせた場合にも、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436KをIgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440K-Y436Nと組み合わせた場合にも起こった。総合すると、これらのデータは、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440Kへの自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436N、Q438NまたはQ438Rの導入およびIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439Eへの自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436NおよびQ438N変異の導入が、単剤のCDC効力のさらなる低減をもたらすことを実証している。CDC効力は、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436NとIgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440K-Y436Kとの組合せおよびIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436KとIgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440K-Y436Nとの組合せを除いて、自己オリゴマー化阻害性変異を保持する相補的なIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K493E変種とIgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440K変種を混合することによって回復した。

【０３０６】

実施例10：E430G Fc-Fc相互作用強化変異を持つ抗CD20 IgG1-11B8へのFc-Fc自己オリゴマー化阻害性変異の導入による混合された抗体変種によるCDC活性の選択性

本質的に実施例9で述べたように、E430G Fc-Fc相互作用強化変異を持つ抗CD20抗体IgG1-11B8の変種の混合物を使って、自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436N、Q438N、Q438

R、K439EまたはS440Kがインビトロ CDC効力に及ぼす効果を試験した。ここでは、次に挙げるさまざまな変異を、CD20に対する抗体IgG1-11B8に導入した：Fc-Fc相互作用を誘導するE430G、および自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436N、Q438N、Q438R、K439EもしくはS440Kのうちの1つまたは複数。GraphPad Prism 7を使って、2つの実験レプリケートの対数変換濃度による用量応答曲線下面積（AUC）を算出した。AUCは、プレートごとに、非結合性対照IgG1-b12によって誘導される溶解（0％）および抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H-E430G＋抗CD20 IgG1-11B8-E430Gの混合物による最大溶解（100％）に対して正規化した後、複数の実験を平均した。

【０３０７】

抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H-E430Gと抗CD20 IgG1-11B8-E430Gの混合物は、非結合性対照IgG-b12（0％に設定）と比較して、効率のよいWien 133細胞の溶解（曲線下面積（AUC）として表される；図10；100％に設定）を誘導した。同様にIgG1-11B8-E430GはWien 133細胞の溶解を誘導した。自己オリゴマー化阻害性変異Y436KまたはQ438Rを持つIgG1-11B8-E430G-S440K変種でも、自己オリゴマー化阻害性変異Y436NまたはQ438Nを持つIgG1-11B8-E430G-K439E変種でも、単剤活性は観察されなかった。IgG1-11B8-E430G-K439E-Y436NとIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rとを混合することにより、CDC効力を、IgG1-11B8-E430Gによって誘導されるCDC効力と類似するレベルまで回復させることができた。しかし、IgG1-11B8-E430G-K439E-Y436N＋IgG1-11B8-E430G-S440K-Y436KまたはIgG1-11B8-E430G-K439E-Q438N＋IgG1-11B8-E430G-S440K-Y436Kの混合物では回復は観察されず、一方、IgG1-11B8-E430G-K439E-Q438N＋IgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rの混合後は低いCDC効力が回復した（図10）。

【０３０８】

総合すると、これらの結果は、自己オリゴマー化阻害性変異K439EまたはS440Kのうちのどちらかを含有するIgG1-11B8-E430Gへの自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436N、Q438NまたはQ438Rの導入が、Wien 133細胞インビトロCDCモデルにおいて、単剤CDC効力の喪失をもたらすことを実証している。抗体媒介性CD20ターゲティングのこのモデルでは、IgG1-11B8-E430G-K439E-Y436NとIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rを混合することによってのみ、CDC効力を回復させることができた。

【０３０９】

実施例11：E430G Fc-Fc相互作用強化変異を持つ抗CD52 IgG1-CAMPATH-1Hおよび抗CD20 IgG1-11B8への自己オリゴマー化阻害性変異の導入による混合された抗体変種によるCDC活性の選択性

実施例9および実施例10では、Fc-Fc相互作用強化変異E430Gと自己オリゴマー化阻害性変異K439EまたはS440Kのどちらか一方とを持つIgG1-CAMPATH-1H（実施例9）またはIgG1-11B8（実施例10）への自己オリゴマー化阻害性変異の導入が、インビトロCDCモデルにおいて低減した単剤活性をもたらし、一方、同じ抗原を標的とする該変異を持つ相補的抗体変種を混合すると、CDC効力の回復が観察されることを述べた。ここでは、異なる抗原を標的とする2種の抗体、すなわち抗CD20 IgG1-11B8および抗CD52 IgG1-CAMPATH-1Hに自己オリゴマー化阻害性変異を導入することの効果を試験した。CDC活性は本質的に実施例9に記載したように試験した。抗体IgG1-11B8およびIgG1-CAMPATH-1Hに、次に挙げるさまざまな変異を導入した：強化されたFc-Fc相互作用を誘導するE430G；およびホモ六量体型抗体複合体の形成を阻害し、ヘテロ六量体型抗体複合体の形成を促進する自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436N、Q438N、Q438R、K439EもしくはS440Kのうちの1つまたは複数。GraphPad Prism 7を使って、2つの実験レプリケートの対数変換濃度による用量応答曲線下面積（AUC）を算出した。AUCは、プレートごとに、非結合性対照IgG1-b12によって誘導される溶解（0％）および抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H-E430G＋抗CD20 IgG1-11B8-E430Gの混合物による最大溶解（100％）に対して正規化した後、複数の実験を平均した。

【０３１０】

抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H-E430Gと抗CD20 IgG1-11B8-E430Gの混合物は、非結合性対照IgG-b12（0％に設定）と比較して、効率のよいWien 133細胞の溶解（曲線下面積（AUC）として表される；図11；100％に設定）を誘導した。IgG1-11B8-E430Gへの変異S440Kの導入

によってCDC効力は完全に消失し、IgG1-CAMPATH-1H-E430Gへの変異K439Eの導入は単剤活性を低減しただけだった。CDC効力は、抗体IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439EとIgG1-11B8-E430G-S440Kの混合によって回復した。以下、これを先行技術混合物という。

【０３１１】

IgG1-11B8-E430G-S440Kへの自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436N、Q438NまたはQ438Rの導入は単剤CDC活性の完全な喪失をもたらした。実施例9で提示したデータと同様に、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439Eへの変異Y436K、Y436NまたはQ436Nの導入は、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439Eと比較して低い単剤活性をもたらしたが、変異Q438Rの導入ではそうならなかった。

【０３１２】

IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436KとIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438NまたはIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rとの混合物により、先行技術混合物によって誘導されるCDC効力の約80～90％を復活させることができた（しかしIgG1-11B8-E430G-S440K-Y438Nではそうならなかった）。IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436NとIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438NまたはIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rとの混合物により、先行技術混合物によって誘導されるCDC効力の約80～90％が復活した（しかしIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436Kではそうならなかった）。IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438NとIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436K、IgG1-11B8-E430G-S440K-Y436NまたはIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rとの混合物は、先行技術混合物の効力の84％まで回復した。IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438Rの単剤活性は比較的高いものの、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438RをIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436KまたはIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436Nと混合することにより、CDC効力はさらにわずかに増加した。

【０３１３】

総合すると、これらのデータは、IgG1-11B8-E430G-S440Kへの自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436N、Q438NまたはQ438Rの導入およびIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439Eへの自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436NおよびQ438N変異の導入が、単剤のCDC効力のさらなる低減をもたらすことを実証しており、実施例9および実施例10で述べた結果が確認された。異なる抗原を標的とする相補的抗体の混合後にCDC効力が復活することは、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436NとIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436Kの組合せおよびIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436KとIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436Nの組合せを例外として、該自己オリゴマー化阻害性変異を保持するIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K493EとIgG1-11B8-E430G-S440K変種の混合物によってCDC効力が復活したという観察結果によって実証された。

【０３１４】

実施例12：さまざまなFc-Fc相互作用強化変異を持つ抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H＋抗CD20 IgG1-11B8の混合された抗体変種によるCDC活性の選択性

実施例11では、自己オリゴマー化阻害性変異の導入によって異なる抗原を標的とする2種の抗体のCDC選択性を強化できることが示された。ここでは、本発明者らは、異なるFc-Fc相互作用強化変異E430G、E345K、E345RおよびK248E/T437Rを持つ抗体変種のCDC活性の選択性を試験する。

【０３１５】

Wien 133細胞を用いるインビトロCDCアッセイを、本質的に実施例9で述べたように、20％NHSおよび抗体濃度系列（3.3倍希釈で最終濃度範囲0.01～40.0μg/mL）で行った。細胞溶解および相対的AUC値を、2つの実験レプリケートにより、実施例9で述べたようにPI陽性細胞の数から算出した。AUCは、陰性対照抗体IgG1-b12に関する値（0％）および陽性対照IgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-11B8-E430Gに関する値（100％）に対して正規化した。

【０３１６】

IgG1-b12では細胞溶解は観察されず（図12A、B；0％に設定）、一方、抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H-E430G＋抗CD20 IgG1-11B8-E430Gの1：1混合物はWien 133細胞の効率のよい細胞溶解を誘導した（図12A、B；100％に設定）。後者の活性は血清の非存在下では観察されなかったことから、細胞溶解はC1q依存的であることが示された。

【０３１７】

IgG1-CAMPATH-1H-E430Gの単剤活性はIgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-11B8-E430Gの混合物の活性に近かった（図12A）。IgG1-CAMPATH-1H-E430Gへの自己オリゴマー化阻害性変異K439Eの導入は細胞溶解の強い低減をもたらした。IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439Eへの変異Y436NまたはQ438Nの導入により、単剤活性のさらなる低減が達成された。IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436NまたはIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438NにおいてFc-Fc相互作用強化変異E430GをE345KまたはE345Rで置換したところ、単剤活性は、同様に抑制された。要約すると、Fc-Fc相互作用強化変異E430G、E345KまたはE345Rのいずれかを持つIgG1-CAMPATH-1Hの単剤活性は、自己オリゴマー化阻害性変異K439EをY436NまたはQ438Nのどちらか一方と組み合わせて導入することによって消失させることができる。

【０３１８】

抗体抗CD20 IgG1-11B8-E430Gは中間的な単剤活性を示す（図12A）。自己オリゴマー化阻害性変異S440Kの導入はIgG1-11B8-E430Gの単剤活性を消失させた。IgG1-11B8-E430G-S440Kへの自己オリゴマー化阻害性変異Y436KまたはQ438Rの導入後にも、単剤活性の完全な消失が観察された。IgG1-CAMPATH-1Hについて記載した結果と同様に、E430Gの代わりにFc-Fc相互作用強化変異E345KまたはE345Rのどちらか一方を持つ抗体変種は、E430G変異を含有する抗体変種で観察されたものと同様の細胞溶解の消失をもたらした。要約すると、Fc-Fc相互作用強化変異E430G、E345KまたはE345Rのいずれかを持つIgG1-11B8の単剤活性は、自己オリゴマー化阻害性変異S440KをY436KまたはQ438Rのどちらか一方と組み合わせて導入することによって消失させることができる。

【０３１９】

IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436Nではわずかな単剤活性しか観察されず、IgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rでは単剤活性は観察されなかったが、これらの抗体の混合物は、IgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-11B8-E430Gの混合物のレベルまで、CDC効力を回復した（図12A）。細胞溶解の同様の復活は、E430G変異がE345K変異またはE345R変異で置き換えられた抗体変種でも達成された。上記実施例11で述べたように、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436NをIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436Kと混合することでは、CDC効力の部分的回復しか得られなかった（図12A）。これらの抗体におけるE430G変異をE345K変異で置き換えても同様の結果が得られた。E345K変異を保持する変種と比較してより強いCDC効力の回復は、E430G変異がE345Rで置き換えられている同じ抗体変種を混合することによって達成された。このことは、最大力価が望まれる場合には、興味深いことでありうる。IgG1-CAMPATH-1H-E345K-K439E-Q438NおよびIgG1-11B8-E345K-S440K-Y436Kではそれぞれ限定的単剤活性が観察されたのに対し、これらの抗体の混合物は、IgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-11B8-E430Gの陽性対照混合物のCDC効力の約65％を回復した（図12A）。この混合物中の両抗体変種におけるE345KをE345Rで置換すると、約80％のCDC力価が回復した。IgG1-CAMPATH-1H-E345R-K439E-Q438NとIgG1-11B8-E345R-S440K-Q438Rの混合物では、類似する効力が観察された。

【０３２０】

上述のように、IgG1-CAMPATH-1H-E430Gへの変異K439Eの導入によって単剤活性を低減することができ、一方、IgG1-11B8への変異S440Kの導入によって単剤活性は完全に消失した（図12A、B）。Fc-Fc相互作用強化変異K248EおよびT437RをE430Gの代わりにIgG1-CAMPATH-1Hに導入したところ、Y436NまたはQ438Nと組み合わされた自己オリゴマー化阻害性変異K439Eと組み合わせても、実質的な単剤活性が観察された（図12B）。K248E変異およびT437R変異がS440KおよびY436KまたはQ438Rのどちらか一方と一緒に導入されたIgG1-11B8変種では、単剤活性は観察されなかった。K248E変異およびT437R変異を含有する抗体を混合することによってCDC効力を強化することはできたが、この強化は、Fc-Fc相互作用強化変異E430G、E345KまたはE345Rのいずれかを含有する抗体の混合物ほど効率のよいCDC効力はもたらさなかった。

【０３２１】

総合すると、これらの結果は、相補的自己オリゴマー化阻害性変異K439E、S440K、Y436K、Y436N、Q438Nおよび/またはQ438Rを保持する抗体変種を混合することにより、ほとん

ど機能的に等価なFc-Fc相互作用強化変異E430G、E345KまたはE345Rのうちのどれが含まれていたとしても、CDC効力の回復を達成できることを示している。Y436K変異およびY436N変異を含有する2種の抗体の混合物は、CDC効力を部分的にしか復活させなかった。しかし、E345R変異を含有するそのような変種を混合すると、E345K変異またはE430G変異のどちらか一方を含有する抗体変種よりも強いCDC効力の回復が誘導された。さらにまた、K248EおよびT437R Fc-Fc相互作用強化変異を含有する抗体変種を混合することにより、CDC効力の部分的回復を達成することができ、その効率は、E430G、E345KまたはE345R変異のいずれか一つを含有する抗体の混合物よりは低かった。

【０３２２】

実施例13：異なるヒトIgGサブクラスバックボーンの抗CD52抗体変種および抗CD20抗体変種の混合物についての選択的CDC活性の分析

先の実施例では、抗CD20 IgG1抗体および抗CD52 IgG1抗体への自己オリゴマー化阻害性変異の導入が標的細胞溶解の選択的共依存性誘導をもたらすことを述べた。ここでは、本発明者らは、これらの原理が他のIgGサブクラスおよび異なるIgGサブクラスの組合せにも当てはまるかどうかを試験した。

【０３２３】

E430G-K439E変異を含有するヒトIgG1、IgG2およびヒンジ安定化IgG4（S228P）FcバックボーンにCD52 CAMPATH-1HのVH配列をクローニングし、E430G-S440K変異を含有するヒトIgG1、IgG2およびヒンジ安定化IgG4（S228P）Fcバックボーンに抗CD20 11B8のVH配列をクローニングした。追加の自己オリゴマー化阻害性変異Y436N、Y436K、Q438NまたはQ438Rを持つこれらの抗CD52サブクラス変種および抗CD20サブクラス変種のさまざまな組合せを、選択的CDC活性について試験した。Wien 133細胞を用いるインビトロCDCアッセイを、本質的に実施例9で述べたように、20％NHSおよび抗体濃度系列（3.3倍希釈で最終総IgG濃度範囲0.01～40.0μg/mL）で行った。細胞溶解および相対的AUC値を、2つの実験レプリケートにより、実施例9で述べたようにPI陽性細胞の数から算出した。AUCは、陰性対照抗体IgG1-b12に関する値（0％）および陽性対照IgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-11B8-E430Gに関する値（100％）に対して正規化した。

【０３２４】

実施例9、10および11で述べたように、抗CD20 IgG1-11B8-E430Gの単剤活性は、自己オリゴマー化阻害性変異S440KをY436K変異またはQ438R変異のどちらか一方と組み合わせて導入することによって消失させることができた。IgG2サブクラスバックボーンまたはIgG4サブクラスバックボーンへのS440K、Y436KおよびQ438R変異の導入は、同様にCDC効力の消失をもたらした。CD52を標的とする抗体変種IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436Nは、IgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-11B8-E430Gの混合物よりははるかに低かったものの、残存単剤活性を示した。この抗体のIgG2サブクラスバックボーン変種またはIgG4サブクラスバックボーン変種では、単剤として使用した場合に、CDC効力は観察されなかった（図13）。このことは、両方の構成要素によって結合された細胞に対する最大限の選択性が望まれる場合には、極めて興味深い。IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438Nについても同様の観察がなされ、IgG1サブクラス変種では低い単剤活性が観察されたが（図11、実施例11）、IgG2サブクラス変種またはIgG4サブクラス変種では単剤活性は検出できなかった（図13）。理論によって制限されることはないが、これは、IgG2サブクラスおよびIgG4サブクラスのC1q結合アフィニティーがIgG1と比較して低減していることによって説明されうる。

【０３２５】

CDC効力の回復は、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436NをIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438R、IgG2-11B8-E430G-S440K-Q438RまたはIgG4-11B8-S228P-E430G-S440K-Q438Rと混合することによって達成できた。IgG2およびIgG4の組合せのCDC力価は、対応するIgG1抗体変種の混合物と比べて低かった（図13）。CDC効力は、IgG2-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436NをIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438R、IgG2-11B8-E430G-S440K-Q438RまたはIgG4-11B8-S228P-E430G-S440K-Q438Rと混合することによっても回復させることができたが、対応するIgG1抗体変種の混合物と比べると、CDC力価は低減した。CDC効力の部分的回復は、IgG2-CAMPATH

-1H-E430G-K439E-Q438NをIgG2-11B8-E430G-S440K-Y436KまたはIgG2-11B8-E430G-S440K-Q438Rと混合することによって達成することができ、後者の組合せは前者の組合せよりも高い活性を示した。CDC効力の部分的回復は、IgG4-CAMPATH-1H-S228P-E430G-K439E-Y436NをIgG4-11B8-S228P-E430G-S440K-Q438RまたはIgG1-11B8-S440K-Q438Rと混合することによって達成することができた（図13）。IgG4-CAMPATH-1H-S228P-E430G-K439E-Q438NとIgG4-11B8-S228P-E430G-S440K-Q438Rの混合物によるCDC効力の実質的な回復は観察されなかった。

【０３２６】

実施例9での観察結果と合致して、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436NをIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436Kと混合してもCDC効力の回復は起こらなかった。同様に、IgG2サブクラス変種IgG2-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436N＋IgG2-11B8-E430G-S440K-Y436KおよびIgG4サブクラス変種IgG4-CAMPATH-1H-S228P-E430G-K439E-Y436N＋IgG4-11B8-S228P-E430G-S440K-Y436Kは、実質的なCDC活性を回復させることができなかった。

【０３２７】

個々のサブクラスクラスごとにIgGサブクラスの組合せを比較すると、IgG1抗体の組合せは、IgG2抗体の組合せよりも強い共依存性CDC効力を誘導し、IgG2抗体の組合せはIgG4抗体の組合せよりも強く働いた。加えて、異なるIgGサブクラスの組合せは、IgG1抗体とIgG2抗体との組合せがIgG1抗体とIgG4抗体との組合せよりも強い共依存性CDC効力を誘導し、IgG1抗体とIgG4抗体との組合せはIgG2抗体とIgG4抗体との組合せより強く働いたことを示した。結論として、共依存性CDC活性は、同じIgGサブクラスに由来する2種の抗体の組合せを使用した場合にも、2種の異なるIgGサブクラスに由来する場合にも、試験したすべてのIgGサブクラスに由来する抗体によって誘導することができた。

【０３２８】

実施例14：FcγR結合阻害性変異G237Aを持つ抗CD52抗体変種と抗CD20抗体変種の混合物に関する選択的CDC活性の分析

実施例11およびそれ以降の実施例では、抗CD20 IgG1抗体および抗CD52 IgG1抗体への自己オリゴマー化阻害性変異の導入が標的細胞溶解の選択的共依存性誘導をもたらすことを述べた。共依存性抗体によるC1q結合またはCDCに対する効果は限定的でありながら、FcγR結合およびFcγR媒介性エフェクター機能を強く抑制する変異の一例として、本発明者らは、変異G237Aをさらに導入することの効果を試験した。2種の構成要素の共依存性六量体化に感受性であるエフェクター機能だけが混合後に回復すると予想することができ、単剤および混合物はどちらも著しく阻害されたFcγR媒介性エフェクター機能を示すと予想される。

【０３２９】

二量体型FcγR変種へのIgG1-CAMPATH-1H抗体変種およびIgG1-11B8抗体変種の結合を検出するために、FcγR結合アッセイを本質的に実施例8で述べたように行った。さらにまた、Wien 133細胞を用いるインビトロCDCアッセイを、本質的に実施例9で述べたように、20％NHS、および最終濃度範囲が4倍希釈で0.002～40.0μg/mL（図14F）または3.3倍希釈で0.01～40.0μg/mL（図14G）の抗体濃度系列で行った。細胞溶解および相対的AUC値を、2つの実験レプリケートにより、実施例9で述べたようにPI陽性細胞の数から算出した。AUCは、陰性対照抗体IgG1-b12に関する値（0％）および陽性対照IgG1-CAMPATH-1H-E430G（図14F）またはIgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-11B8-E430Gの混合物（図14G）に関する値（100％）に対して正規化した。血清の非存在下でWien 133細胞を後者の混合物に曝露した後にCDC活性は観察されなかったことから、細胞溶解はC1q依存的であることが示された（図14G）。

【０３３０】

野生型IgG1-CAMPATH-1H抗体と、変異E430GまたはE430G-K439Eが導入されているその変種は、FcγRIIAアロタイプ131H、FcγRIIAアロタイプ131R、FcγRIIB、FcγRIIIAアロタイプ158FおよびFcγRIIIAアロタイプ158Vに結合した（図14A～E）。野生型抗体IgG1-11B8と、変異E430G-S440Kが導入されている変種も、試験したFcγR変種への結合を示した。抗

体変種IgG1-11B8-E430Gは、理由ははっきりしないものの、効率の低いFcγR変種結合を示したが、アフィニティー変種FcγRIIAアロタイプ131HおよびFcγRIIIAアロタイプ158Vへの実質的結合は保っていた。FcγRへの結合は、上述の抗体変種のすべてにおいて、変異G237Aの導入によって完全に消失した。

【０３３１】

IgG1-CAMPATHへのWien 133細胞の曝露後は効率のよい細胞溶解が観察された。IgG1-11B8-E430G-S440K-Q438RまたはIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436Kの単剤活性は観察されず、これらの抗体変種に変異G237Aを導入しても、それには影響がなかった（図14G）。IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436Nに観察された残存単剤活性は、変異G237Aの導入によって効率よく消失した。このことは、両方の構成要素によって結合される細胞または組織に対する最大限の選択性が望まれる場合には、極めて興味深い。IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436NとIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rの混合物は、IgG1-CAMPATH-1H-E430GとIgG1-11B8-E430Gの混合物のレベルに近い効率のよいCDCを誘導した。細胞溶解の回復は、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436N-G237AをIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438R-G237Aと混合した後にも観察されたが、IgG1-11B8-E430G-S440K-Y436K-G237Aとの混合後には観察されず、先の実施例で述べた結果と合致した。

【０３３２】

IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438Nの低い単剤活性は、変異G237Aを導入すると排除された（図14）。IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438N-G237Aを、IgG1-11B8-E430G-S440K-Y436K-G237AまたはIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438R-G237Aのどちらか一方と混合することによって、CDC効力を中間レベルまで復活させることができたが、抗原飽和抗体濃度では約80％の溶解が観察された。総合すると、G237A変異を含有する抗体変種の混合物は、この変異を持たない抗体変種よりも相対的に低いCDC効力の復活を示す。理論によって制限されることはないが、これは、C1q結合に対する変異G237Aのあまり大きくはない阻害効果によって説明しうる。

【０３３３】

要約すると、これらのデータは、FcγR結合阻害性変異G237Aの導入が自己オリゴマー化阻害性変異Y436NおよびQ438Nを持つ抗体変種の残存単剤活性を排除することを実証している。CDC効力の回復は、相補的自己オリゴマー化阻害性変異とG237A変異とを持つ抗体変種を混合することによって達成することができた。ただし、その効率は、G237A変異を持たない相補的抗体変種の混合物よりも低かった。

【０３３４】

実施例15：FcγR結合阻害性変異および強化されたC1q結合変異を持つ抗CD52抗体変種と抗CD20抗体変種の混合物によるC1q結合の分析

実施例14では、FcγR結合阻害性変異G237Aの導入が、自己オリゴマー化阻害性変異を持つ抗CD52 IgG1抗体変種および抗CD20 IgG1抗体変種の単剤活性の排除をもたらすことが実証された。しかし、G237A変異を持たない抗体変種と比較すると、G237A変異を含有する相補的抗体変種の混合物は、選択的共依存性CDC効力を完全には復活させなかった。ここでは、本発明者らは、2種の抗体の混合物の一方の抗体構成要素へのC1q結合強化変異E333SまたはK326W-E333Sの導入が、低減している可能性のあるG237A含有抗体構成要素のC1q結合を補償できるかどうかを試験した。

【０３３５】

Wien 133細胞を用いるインビトロCDCアッセイを、本質的に実施例9で述べたように、20％NHSおよび抗体濃度系列（3.3倍希釈で最終濃度範囲0.01～40.0μg/mL）で行った。細胞溶解および相対的AUC値を、2つの実験レプリケートにより、実施例9で述べたようにPI陽性細胞の数から算出した。AUCは、陰性対照抗体IgG1-b12に関する値（0％）および陽性対照IgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-11B8-E430Gに関する値（100％）に対して正規化した。後者の活性は血清の非存在下では観察されなかったことから、細胞溶解はC1q依存的であることが示された。

【０３３６】

実施例14で述べたように、Y436N変異またはQ438N変異を持つIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E変種への変異G237Aの導入は、単剤活性を消失させた（図14、図15）。C1q結合強化変異E333SまたはK326W-E333Sを抗CD20 IgG1-11B8-E430G抗体変種に導入することで、単剤CDC効力に対するこの変異の効果を調べた（図15）。IgG1-11B8-E430G-S440K-Q438RまたはIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436KへのE333Sの導入はバックグラウンドレベルに近い低いCDC効力をもたらしたが、同じ抗体へのK326W-E333S変異の導入は、中間の単剤CDC効力をもたらした。

【０３３７】

IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436N-G237A変種をE333S変異またはK326W-E333S変異のどちらか一方を含有するIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438R抗体変種と混合した後に、CDC効力の完全な回復が観察された（図15）。IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436N-G237AをIgG1-11B8-E430G-S440-Y436K-K326W-E333Sと混合した場合にはCDC効力の部分的回復が達成され、IgG1-11B8-E430G-S440-Y436K-E333Sと混合した場合には回復の程度がそれより低かった。これは、実施例9および実施例11で述べた結果と合致している。

【０３３８】

実施例14でもここでも述べたように、変異G237Aを持つ抗体変種IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438Nは単剤活性を一切示さなかった。さらにまた、この抗体と、Y436KまたはQ438Rのどちらか一方およびG237Aを含有するIgG1-11B8-E430G-S440K変種との混合物は、CDC効力を完全には復活させなかった（図14）。しかし、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438N-G237Aを、E333S変異またはK326W-E333S変異を含有するIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438RまたはIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436Kの変種と混合することにより、CDC効力を、陽性対照混合物のそれに近いレベルにまで復活させることができ（図15）、抗原飽和時の絶対溶解レベルは約90％に達した。

【０３３９】

総合すると、自己オリゴマー化阻害性変異およびFcγR結合阻害性変異G237Aを保持する1つの抗体を、自己オリゴマー化阻害性変異およびC1q結合強化変異E333Sを保持する抗体と混合することにより、最も大きな選択性ウインドウが達成された。

【０３４０】

実施例16：E430G Fc-Fc相互作用強化変異およびFc-Fc自己オリゴマー化阻害性変異を持つ混合された抗CD37 IgG1-37-37-3抗体変種による、Raji細胞に対するCDC活性の選択性

自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436N、Q438NおよびQ438RがRaji細胞に対するインビトロCDC効力に及ぼす効果を、E430G Fc-Fc相互作用強化変異を持つ抗CD37抗体IgG1-CD37-37-3の変種の混合物を使って試験した。

【０３４１】

Raji細胞を用いるインビトロCDCアッセイを、本質的に実施例9で述べたように、20％NHSおよび抗体濃度系列（3.3倍希釈で最終濃度範囲0.01～40.0μg/mL）で行った。バーキットリンパ腫細胞株RajiはATCCから購入した（カタログ番号CCL-86）。細胞溶解および相対的AUC値を、2つの実験レプリケートにより、実施例9で述べたようにPI陽性細胞の数から算出した。AUCは、陰性対照抗体IgG1-b12に関する値（0％）および陽性対照IgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-CD37-37-3-E430Gに関する値（100％）に対して正規化した。

【０３４２】

抗体IgG1-CD37-37-3-E430Gそれ自体は、非抗原結合性抗体IgG1-b12と混合されるかされないかに関わらず、Raji細胞に対して強力なCDC効力を誘導した（図16）。IgG1-CD37-37-3-E430Gに自己オリゴマー化阻害性変異S440K、S440K-Y436K、S440K-Q438R、K439E-Y436NまたはK439E-Q438Nを導入すると、IgG1-CD37-37-3-E430Gそのものと比べるとかなり低減するものの、残存単剤活性が観察された。CDC効力は、IgG1-CD37-37-3-E430G-K439E-Y436NをIgG1-CD37-37-3-E430G-S440K-Q438Rと混合することによってIgG1-CD37-37-3-E430Gのレベルまで完全に復活させることができたが、IgG1-CD37-37-3-E430G-S440K-Y436Kとの混合ではそうはならず、実施例9～15で提示した結果と合致した。同様に、IgG1-CD37-37-3-E430G-K439E-Q438Nの低減したCDC効力は、IgG1-CD37-37-3-E430G-S440K-Y436KまたはIgG1

-CD37-37-3-E430G-S440K-Q438Rとの混合によって部分的に復活させることができた。

【０３４３】

総合すると、これらのデータは、Raji細胞に対するIgG1-CD37-37-3-E430GのCDC効力は、自己オリゴマー化阻害性変異K439E-Y436N、K439E-Q438N、S440K-Y436KまたはS440K-Q438Rの導入によって部分的に消失させうることを示している。CDC効力の回復は、強い回復から弱い回復に向かって順に、IgG1-CD37-37-3-E430G-K439E-Y436NをIgG1-CD37-37-3-E430G-S440K-Q438Rと混合すること、IgG1-CD37-37-3-E430G-K439E-Q438NをIgG1-CD37-37-3-E430G-S440K-Q438Rと混合すること、またはIgG1-CD37-37-3-E430G-K439E-Q438NをIgG1-CD37-37-3-E430G-S440K-Y436Kと混合することによって、さまざまな程度に達成された。

【０３４４】

実施例17：E430G Fc-Fc相互作用強化変異およびFc-Fc自己オリゴマー化阻害性変異を持つ混合された抗CD37 IgG1-37-37-3抗体変種および抗CD20 IgG1-11B8抗体変種による、Raji細胞に対するCDC活性の選択性

自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436N、Q438NおよびQ438RがRaji細胞に対するインビトロCDC効力に及ぼす効果を、E430G Fc-Fc相互作用強化変異を持つ抗CD37抗体IgG1-CD37-37-3および抗CD20 IgG1-11B8の変種の混合物を使って試験した。

【０３４５】

Raji細胞を用いるインビトロCDCアッセイを、本質的に実施例9で述べたように、20％NHSおよび抗体濃度系列（3.3倍希釈で最終濃度範囲0.01～40.0μg/mL）で行った。バーキットリンパ腫細胞株RajiはATCCから購入した（カタログ番号CCL-86）。細胞溶解および相対的AUC値を、2つの実験レプリケートにより、実施例9で述べたようにPI陽性細胞の数から算出した。AUCは、陰性対照抗体IgG1-b12に関する値（0％）および陽性対照IgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-CD37-37-3-E430Gに関する値（100％）に対して正規化した。

【０３４６】

IgG1-CD37-37-3-E430GとIgG1-11B8-E430Gはどちらも Raji細胞に対して、それらの抗体の混合物よりは効率が低いものの、強力な単剤CDC活性を呈した（図17）。IgG1-11B8-E430Gへの自己オリゴマー化阻害性変異S440K-Y436KまたはS440K-Q438Rの導入およびIgG1-CD37-37-3-E430Gへの変異K439E-Y436NまたはK439E-Q438Nの導入により、低い単剤CDC活性が観察された。CDC効力は、IgG1-CD37-37-3-E430G-K439E-Y436NをIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rと混合することにより、IgG1-CD37-37-3-E430GとIgG1-11B8-E430Gの混合物のレベルまで、完全に復活させることができたが、IgG1-11B8-E430G-S440K-Y436Kとの混合ではそうはならず、実施例9～16に提示した結果と合致した。IgG1-CD37-37-3-E430G-K439E-Q438Nの低減したCDC効力は、IgG1-11B8-E430G-S440K-Y436KまたはIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rとの混合によって、部分的に復活させることができた。

【０３４７】

総合すると、これらのデータは、Raji細胞に対するIgG1-CD37-37-3-E430GのCDC効力は、自己オリゴマー化阻害性変異K439E-Y436NまたはK439E-Q438Nの導入によって部分的に消失させうることを示している。同様に、Raji細胞に対するIgG1-11B8-E430GのCDC効力は、自己オリゴマー化阻害性変異S440K-Y436KまたはS440K-Q438Rの導入によって、部分的に消失させることができた。CDC効力の回復は、強い回復から弱い回復に向かって順に、IgG1-CD37-37-3-E430G-K439E-Y436NをIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rと混合すること、IgG1-CD37-37-3-E430G-K439E-Q438NをIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rと混合すること、またはIgG1-CD37-37-3-E430G-K439E-Q438NをIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436Kと混合することによって、さまざまな程度に達成された。

【０３４８】

実施例18：E430G Fc-Fc相互作用強化変異およびFc-Fc自己オリゴマー化阻害性変異を持つ混合された抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H抗体変種および抗CD37 IgG1-37-37-3抗体変種による、Raji細胞に対するCDC活性の選択性

E430G Fc-Fc相互作用強化変異を持つ抗CD52 IgG1-CAMPATH-1Hおよび抗CD37 IgG1-37-37-3の変種の混合物を使って、自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436N、Q438N、Q438R、

K439EおよびS440KがRaji細胞に対するインビトロCDC効力に及ぼす効果を試験した。

【０３４９】

Raji細胞を用いるインビトロCDCアッセイを、本質的に実施例9で述べたように、20％NHSおよび抗体濃度系列（3.3倍希釈で最終濃度範囲0.01～40.0μg/mL）で行った。バーキットリンパ腫細胞株RajiはATCCから購入した（カタログ番号CCL-86）。細胞溶解および相対的AUC値を、2つの実験レプリケートにより、実施例9で述べたようにPI陽性細胞の数から算出した。AUCは、陰性対照抗体IgG1-b12に関する値（0％）および陽性対照IgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-CD37-37-3-E430Gに関する値（100％）に対して正規化した。

【０３５０】

抗体変種IgG1-CAMPATH-1H-E430Gは、Raji細胞に対して、低～中間の単剤CDC活性を示し、一方、IgG1-CD37-37-3-E430Gの単剤CDC活性は、IgG1-CAMPATH-1H-E430GとIgG1-CD37-37-3-E430Gの混合物によって誘導される活性のほとんど80％に達した（図18）。IgG1-CAMPATH-1H-E430Gへの自己オリゴマー化阻害性変異K439Eの導入は単剤CDC活性を完全に消失させ、一方、IgG1-CD37-37-3-E430Gへの変異S440Kの導入は単剤CDC活性を低減した。IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439EとIgG1-CD37-37-3-E430G-S440Kを混合することにより、陽性対照混合物のレベルのおよそ40％までの、大きくはないCDC活性の増加を達成することができた。IgG1-CD37-37-3-E430G-S440KまたはIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439Eにおける変異Y436K、Y436N、Q438NまたはQ438Rの導入は、単剤CDC活性に有意な影響を及ぼさなかった。

【０３５１】

IgG1-CAMPATH-1H-E430GおよびIgG1CD37-37-3-E430Gの抗体変種の混合後に、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436NとIgG1-CD37-37-3-E430G-S440K-Q438Rの混合物では、CDCは部分的にしか回復することができず、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436NをIgG1-CD37-37-3-E430G-S440K-Y436Kと混合するか、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438NをIgG1-CD37-37-3-E430G-S440K-Y436Kと混合するか、またはIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438NをIgG1-CD37-37-3-E430G-S440K-Q438Rと混合しても、CDC活性は回復しなかった。

【０３５２】

これらの観察結果と合致して、S440Kと追加の自己オリゴマー化変異とをIgG1-CD37-37-3-E430G抗体ではなくIgG1-CAMPATH-1H-E430G抗体に導入した場合、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440K-Q438RをIgG1-CD37-37-3-E430G-K439E-Y436Nと混合してもCDC活性の部分的回復しか達成できず、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440K-Y436KをIgG1-CD37-37-3-E430G-K439E-Y436Nと混合するか、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440K-Y436KをIgG1-CD37-37-3-E430G-K439E-Q438Nと混合するか、またはIgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440K-Q438RをIgG1-CD37-37-3-E430G-K439E-Q438Nと混合しても、CDC活性は回復しなかった。

【０３５３】

総合すると、ここに提示する結果は、自己オリゴマー化阻害性変異を保持するIgG1-CAMPATH-1H-E430G抗体変種とIgG1-CD37-37-3-E430G抗体変種の混合物が、K439E-Y436N変異を保持する抗体変種をS440K-Q438R変異を保持する抗体変種と混合した場合にのみ、Raji細胞におけるCDC効力の部分的回復を誘導したことを示している。これらの効果は、上述した変異の組合せが、IgG1-CAMPATH-1H-E430G変種に導入されたか、IgG1-CD37-37-3-E430G抗体変種に導入されたかには関係なく、観察された。

【０３５４】

実施例19：E430G Fc-Fc相互作用強化変異および自己オリゴマー化阻害性変異を持つ2種の非交差遮断性抗DR5抗体の混合物のBxPC-3細胞に対する選択的DR5アゴニスト活性

2種の非交差遮断性抗デス受容体5（DR5）抗体IgG1-DR5-01-G56T-E430G＋IgG1-DR5-05-E430Gの混合物は、DR5陽性がん細胞の殺滅を誘導するDR5アゴニストとして作用する（WO17093447）。ここでは、混合されたDR5ターゲティング抗体変種への自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436N、Q438NおよびQ438Rの導入が、DR5を低レベルに発現する（データ省略）BxPC-3膵がん細胞（ATCC、カタログ番号CRL-1687）に対する共依存性細胞傷害をもたらすかどうかを調べるために、生存率アッセイを行った。

【０３５５】

BxPC-3細胞をトリプシン処理によって収穫し、セルストレーナーに通した。1,200rpmで5分間の遠心分離によって細胞をペレット化し、1.1×10^5細胞/mLの濃度で培養培地（RPMI 1640培地（ATCC変法）、Life Technologies、カタログ番号A10491-01＋10％DBSI（Life Technologies、カタログ番号20371））に再懸濁した。45μLの単一細胞懸濁液（1ウェルあたり5,000細胞）をポリスチレン製96ウェル平底プレート（Greiner Bio-One、カタログ番号655180）に播種し、37℃で一晩接着させた。翌日、抗体希釈系列（3倍希釈で最終濃度範囲0.003～20μg/mL）の試料50μLおよび精製ヒトC1q原液24μL（Quidel、カタログ番号A400、最終濃度2.9μg/mL）を加え、37℃で3日間インキュベートした。陽性対照として、細胞を5μMスタウロスポリン（Sigma Aldrich、カタログ番号S6942）と共にインキュベートした。代謝的に活性な細胞の指標であるATPの存在量を定量するCellTiter-Gloルミネセンス細胞生存率アッセイ（Promega、カタログ番号G755A）で、細胞培養物の生存率を決定した。キットから、12μLのルシフェリン溶液試薬を各ウェルに加えた。次に、プレートを37℃で1.5時間インキュベートした。100μLの上清を白色OptiPlate-96（Perkin Elmer、カタログ番号6005290）に移し、EnVisionマルチラベルリーダー（PerkinElmer）でルミネセンスを測定した。GraphPad Prism 7を使ってデータを分析し、抗体濃度20μg/mlにおける細胞生存率としてプロットした。生細胞百分率は、次式を使って算出した：％生細胞＝［（抗体試料のルミネセンス-スタウロスポリン試料のルミネセンス）/（抗体なし試料のルミネセンス-スタウロスポリン試料のルミネセンス）］×100。

【０３５６】

陰性対照である培地またはIgG1-b12へのBxPC-3細胞の曝露後に細胞傷害性は観察されなかった（図19）。20μg/mlのIgG1-DR5-01-G56T-E430GまたはIgG1-DR5-05-E430Gのどちらか一方にBxPC-3細胞を曝露した後にも、単剤活性は観察されなかった。対照的に、20μg/mlのIgG1-hDR5-01-G56T-E430GとIgG1-hDR5-05-E430Gの混合物では、強い細胞傷害が誘導され、約22％の細胞生存率をもたらした。同様に、自己オリゴマー化阻害性変異K439EおよびS440Kのどちらか一方が導入された同じ抗体の混合物でも、強い細胞傷害性が誘導され、単独の構成要素では細胞傷害性は一切誘導されなかった。

【０３５７】

K439E変異またはS440K変異のどちらか一方が、Y436K、Y436N、Q438NまたはQ438R変異のいずれかと組み合わせて導入されているIgG1-DR5-01-G56T-E430GおよびIgG1-DR5-05-E430Gの抗体変種では、単剤細胞傷害性は観察されなかった。しかし、細胞傷害性を誘導する力価は、強い回復から弱い回復に向かって順に、IgG1-DR5-01-G56T-E430G-K439E-Y436NをIgG1-DR5-05-E430G-S440K-Q438Rと混合すること、IgG1-DR5-01-G56T-E430G-K439E-Q438NをIgG1-DR5-05-E430G-S440K-Q438Rと混合すること、またはIgG1-DR5-01-G56T-E430G-K439E-Q438NをIgG1-DR5-05-E430G-S440K-Y436Kと混合することによって、回復させることができた。実施例9～17で述べた結果と合致して、IgG1-DR5-01-G56T-E430G-K439E-Y436NをIgG1-DR5-05-E430G-S440K-Y436Kと混合しても、細胞傷害性の回復は観察されなかった。

【０３５８】

要約すると、これらのデータは、自己オリゴマー化阻害性変異K439E、S440K、Y436K、Y436N、Q438NおよびQ438Rが導入されているDR5ターゲティング抗体変種は、BxPC-3細胞の単剤細胞傷害性を誘導しないが、相補的なDR5ターゲティング抗体変種を混合することによって細胞傷害性は復活することを示している。注目すべきことに、この実施例において提示するデータは、実施例9～17で述べたデータと比較して、異なる作用機序を表している。

【０３５９】

実施例20：E430G Fc-Fc相互作用強化変異およびFc-Fc自己オリゴマー化阻害性変異を持つ混合された抗CD20 IgG1-7D8抗体変種による、Raji細胞に対するCDC活性の選択性

抗CD20 IgG1-11B8の抗体変種を試験した実施例10とは異なり、E430G Fc-Fc相互作用強化変異を持つ抗CD20 IgG1-7D8の変種の混合物を使って、自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436N、Q438N、Q438R、K439EおよびS440KがRaji細胞に対するインビトロCDC効力に及ぼす効果を試験した。

【０３６０】
Raji細胞を用いるインビトロCDCアッセイを、本質的に実施例9で述べたように、20％NHSおよび抗体濃度系列（3.3倍希釈で最終濃度範囲0.01～40.0μg/mL）で行った。バーキットリンパ腫細胞株RajiはATCCから購入した（カタログ番号CCL-86）。細胞溶解および相対的AUC値を、2つの実験レプリケートにより、実施例9で述べたようにPI陽性細胞の数から算出した。AUCは、陰性対照抗体IgG1-b12に関する値（0％）および陽性対照IgG1-CAMPATH-1H-E430G＋IgG1-7D8-E430Gに関する値（100％）に対して正規化した。
【０３６１】
抗体IgG1-7D8-E430Gそれ自体は、非抗原結合性抗体IgG1-b12と混合されるかされないかに関わらず、Raji細胞に対して強力なCDC効力を誘導した（図20）。自己オリゴマー化阻害性変異K439E-Y436N、K439E-Q438N、S440K-Y436KまたはS440K-Q438Rが導入されたIgG1-7D8-E430Gの抗体変種は、実質的な単剤活性を呈した。CDC効力は、IgG1-7D8-E430G-K439E-Y436NをIgG1-7D8-E430G-S440K-Q438Rと混合することによってIgG1-7D8-E430Gのレベルまで完全に復活させることができたが、IgG1-7D8-E430G-S440K-Y436Kとの混合ではそうはならず、実施例9～17で提示した結果と合致した。IgG1-7D8-E430G-K439E-Q438Nの低減したCDC効力は、IgG1-7D8-E430G-S440K-Y436KまたはIgG1-7D8-E430G-S440K-Q438Rとの混合によって、部分的に復活させることができた。
【０３６２】
総合すると、これらのデータは、Raji細胞に対するIgG1-7D8-E430GのCDC効力は、自己オリゴマー化阻害性変異K439E-Y436NまたはK439E-Q438Nの導入によって部分的に消失させうることを示している。同様に、Raji細胞に対するIgG1-7D8-E430GのCDC効力は、自己オリゴマー化阻害性変異S440K-Y436KまたはS440K-Q438Rの導入によって、部分的に消失させることができた。CDC効力の回復は、強い回復から弱い回復に向かって順に、IgG1-7D8-E430G-K439E-Y436NをIgG1-7D8-E430G-S440K-Q438Rと混合すること、IgG1-7D8-E430G-K439E-Q438NをIgG1-7D8-E430G-S440K-Q438Rと混合すること、またはIgG1-7D8-E430G-K439E-Q438NをIgG1-7D8-E430G-S440K-Y436Kと混合することによって、さまざまな程度に達成された。
【０３６３】
実施例21：E430G Fc-Fc相互作用強化変異および自己オリゴマー化阻害性変異を持つ抗CD52 IgG1-CAMPATH-1H抗体変種と抗CD20 IgG1-11B8抗体変種の混合物の構成要素の滴定後のWien 133細胞に対するCDC活性の選択性
先の実施例では、Fc-Fc相互作用強化変異を1つまたは複数の自己オリゴマー化阻害性変異と組み合わせて保持する抗体変種を1：1の比で混合した。ここでは、本発明者らは、選択的共依存性CDC活性が、2種の抗体変種を異なる比で混合することによっても達成されるかどうかを試験した。
【０３６４】
Wien 133細胞を用いるインビトロCDCアッセイを、本質的に実施例9で述べたように、20％NHSを使って行った。単独の抗体を5倍希釈（最終濃度範囲0.0003～20.0μg/mL）で滴定した。抗体混合物を適用する場合は、一方の構成要素を滴定し（5倍希釈で最終濃度範囲0.0003～20.0μg/mL）、他方の構成要素を20または2μg/mLの固定濃度で使用した。細胞溶解を、2つの実験レプリケートにより、実施例9で述べたようにPI陽性細胞の数から算出した。
【０３６５】
IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438NとIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436Kの滴定された混合物（1：1の比）によってWien 133細胞に対する効率のよいCDC活性が誘導され（図21A）、実施例11、14および15の結果と合致した。CD20を20μg/mLのIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436Kで飽和させると、0.16μg/mLのIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438Nの存在下で、早くも＞60％の溶解が検出された。同様に、2μg/mLのIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438NでCD52を飽和させると、0.16μg/mLのIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436Kの存在下で＞60％の溶解が得られた。対照的に、滴定されたIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438Nと20μg/mLの非

抗原結合性IgG1-b12-E430G-S440K-Y436KまたはIgG1-b12のどちらか一方との混合物については、バックグラウンドレベルに近い低いCDC効力が観察された。20μg/mLのIgG1-11B8-E430G-S440K-Y436Kを20μg/mLのIgG1-b12-E430G-K439E-Q438NまたはIgG1-b12のどちらか一方と混合しても、CDC活性は観察されなかった。

【０３６６】

同様のパターンのCDC活性が、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438NとIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rの滴定された混合物（1：1の比）についても観察され（図21B）、実施例11、14および15と合致した。20μg/mLのIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rを使ってCD20を飽和させた場合、＞60％の溶解を誘導するには、0.16μg/mLのIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438Nで十分だった。CD52を固定された濃度の2μg/mLのIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438Nで飽和させた場合、＞50％の溶解を誘導するには、0.04μg/mLのIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rでも十分だった。滴定されたIgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438Nと20μg/mLの非抗原結合性IgG1-b12-E430G-S440K-Q438RまたはIgG1-b12のどちらか一方との混合物については、バックグラウンドレベルに近い低いCDC効力が観察された。20μg/mLのIgG1-11B8-E430G-S440K-Q438Rを20μg/mLのIgG1-b12-E430G-K439E-Q438NまたはIgG1-b12のどちらか一方と混合しても、CDC活性は観察されなかった。

【０３６７】

これらのデータから、構成要素のどちらか一方が他方の構成要素に対して＞50倍過剰に存在するさまざまな抗体比で混合した場合でも、Fc-Fc相互作用強化変異および自己オリゴマー化阻害性変異を保持する相補的な抗体変種によって、効率のよいCDC活性は依然として誘導することができると結論することができる。

【０３６８】

実施例22：E430G Fc-Fc相互作用強化変異およびFc-Fc自己オリゴマー化阻害性変異を持つ混合された抗体変種の抗原結合非依存的六量体化による、Wien 133細胞に対するCDC活性の選択性

先の実施例では、Fc-Fc相互作用強化変異を保持する抗原結合性抗体変種の単剤CDC活性を、自己オリゴマー化阻害性変異を導入することによって低減または消失させうることが実証された。自己オリゴマー化阻害性変異を保持する相補的な抗原結合性抗体変種を混合した後には、CDC効力の回復が観察された。ここでは、本発明者らは、該変異を保持する抗原結合性抗体変種と非抗原結合性抗体変種との混合物によっても、共依存性六量体化を誘導することができるかどうかを試験した。

【０３６９】

Wien 133細胞を用いるインビトロCDCアッセイを、本質的に実施例9で述べたように、20％NHSおよび抗体濃度系列（3.3倍希釈で最終濃度範囲0.01～40.0μg/mL）で行った。細胞溶解および相対的曲線下面積（AUC）値を、2つの実験レプリケートにより、実施例9で述べたようにPI陽性細胞の数から算出した。AUCは、陰性対照抗体IgG1-b12に関する値（0％）および陽性対照IgG1-CAMPATH-1H-E430Gに関する値（100％）に対して正規化した。

【０３７０】

Wien 133細胞を単剤としてのIgG1-CAMPATH-1H-E430Gに曝露した後は、効率のよいCDC活性が観察された（図22A）。追加の自己オリゴマー化阻害性変異K439EまたはS440Kの導入は単剤CDC効力を低減し、一方、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439EとIgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440Kを混合することによって、CDC効力は完全に復活した。IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439Eを非抗原結合性抗体変種IgG1-b12-E430G-S440Kと混合したところCDC活性のわずかな増加が観察され、IgG1-b12-E430G-K439EとIgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440Kの混合物についても同様の活性が観察された。混合物中の構成要素の少なくとも一方が抗原に結合すると、相補的変異を保持する非抗原結合性抗体変種が溶液から動員されうると思われる。試験した最も高い抗体濃度（40μg/ml）では、E430G変異および自己オリゴマー化阻害性変異K439EまたはS440Kを保持する1種の抗原結合性抗体変種と1種の非抗原結合性抗体変種の混合物によるCDCが、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439EとIgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440Kの混合物と同程度の効率であった（図22B）。ただし、後者の混合物の方が、図22Aにおけるその高い

AUC値によって示されるとおり、より低濃度において優れていた。

【０３７１】

IgG1-CAMPATH-1H-E430Gへの追加の自己オリゴマー化阻害性変異Y436K、Y436N、Q438NまたはQ438Rの導入は単剤CDC活性の低減をもたらした（図22C）。CDC効力は、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436Nを相補的変異を保持するIgG1-b12-E430G-S440K抗体変種と混合すること、またはIgG1-b12-E430G-K439E-Y436Nを相補的変異を保持するIgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440K抗体変種と混合することによって、さまざまな程度に増加した（図22C）。とりわけ、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436N＋IgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440K-Q438Rの混合物は、どちらか一方の構成要素のCD52結合特異性がb12で置き換えられている場合に強力な最大溶解を示したことから（図22D）、両方の抗体によって結合された細胞だけに対するこの混合物の選択性は、40μg/mlの抗体濃度では損なわれうることが示された。対照的に、混合物IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436N＋IgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440K-Q438Nは、類似する最大活性および相対的力価を示したが、抗体濃度40μg/mlでさえ、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Y436Nによる抗原結合に大きく依存したままであった。

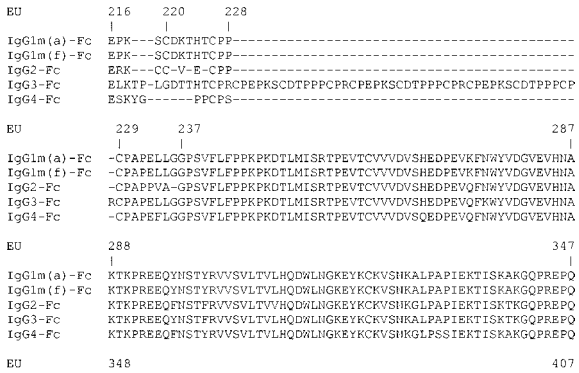
【０３７２】

CDC効力は、IgG1-CAMPATH-1H-E430G-K439E-Q438Nを相補的変異を保持するIgG1-b12-E430G-S440K抗体変種と混合すること、またはIgG1-b12-E430G-K439E-Q438Nを相補的変異を保持するIgG1-CAMPATH-1H-E430G-S440K抗体変種と混合することによって、限れた程度に増加した（図22E）。CDC効力（22E）および最大限に誘導される細胞溶解（抗体濃度40μg/ml；図22F）をどちらも考慮すると、2種の抗原結合性構成要素による混合物は、抗原結合性構成要素が1つだけの混合物よりも、依然として実質的に活性であった。

【０３７３】

これらのデータは、抗体構成要素の一方がWien 133細胞に結合しない場合には、Fc-Fc相互作用強化変異E430Gを保持するIgG1抗体変種に自己オリゴマー化阻害性変異K439EまたはS440KをY436K、Y436N、Q438NまたはQ438Rと組み合わせて導入すると、Wien 133細胞に対する残存CDC効力がもたらされうることを示している。これらの実験において、1種の抗原結合性構成要素によって誘導されるものとの比較で、2種の抗原結合性構成要素によって誘導されるものとの間で、最も大きなCDC活性の差を呈する抗体混合物は、変異E430G-S440K-Y436K、E430G-S440K-Q438R、またはE430G-S440K-Y436Nを保持する抗体と混合されたE430G-K439E-Q438N変異を保持する抗体、および変異E430G-S440K-Q438Nを保持する抗体と混合されたE430G-K439E-Y436N変異を保持する抗体であった。

【図１】



【図２】

EC50 ng/mL	単独↓/→	I252A	I253D	I253E	I253F	I253G	I253H	I253K	I253L	I253M	I253N	I253Q	I253R	I253S	I253T	I253V	I253W	I253Y
		26	267	372	183	104	522	248	144	304	362	249	162	70	32	<15	21	197
H310A	73	40	119	119	115	91	107	104	55	74	117	84	98	39	17	<15	56	79
H310D	1107	69	665	675	251	244	233	48	313	174	397	389	57	153	76	25	100	279
H310E	150	43	227	249	177	145	192	55	113	83	157	153	46	53	30	<15	115	178
H310F	51	26	85	89	62	64	82	66	54	50	74	57	49	16	<15	<15	49	45
H310G	160	31	278	276	110	101	169	153	122	83	151	144	141	42	56	17	36	61
H310I	112	16	111	118	66	31	80	89	flat	70	75	91	52	27	39	<15	19	59
H310K	556	<15	308	377	150	83	333	422	185	222	146	285	286	34	47	54	39	189
H310L	785	26	435	420	522	140	180	107	366	269	138	193	322	311	221	81	63	247
H310M	641	19	404	522	140	67	293	258	186	228	296	364	203	42	47	<15	27	90	167
H310N	92	<15	114	140	81	62	110	83	61	65	95	91	76	51	49	22	39	66	101
H310Q	212	52	268	316	217	190	253	223	197	209	250	292	252	105	80	<15	137	247	127
H310R	497	<15	475	429	179	<15	245	487	260	195	180	345	339	35	65	<15	<15	127	
H310S	175	<15	251	270	143	67	159	91	74	118	178	151	153	47	37	<15	79	170	
H310T	162	<15	238	234	189	80	148	84	106	75	158	154	81	41	<15	<15	120	182	
H310V	73	38	115	114	94	73	77	87	80	92	118	111	84	52	54	26	81	99	
H310W	190	94	335	366	241	276	230	267	227	263	327	324	212	183	121	32	241	229	
H310Y	31	28	85	82	75	83	75	83	69	54	70	83	66	30	<15	<15	62	61	

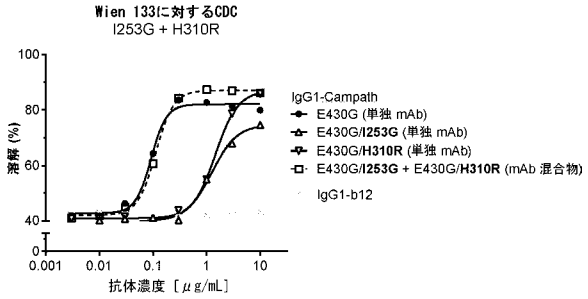
【図３】

EC50 ng/mL	単独↓/→	Q438A	Q438D	Q438E	Q438F	Q438G	Q438H	Q438I	Q438K	Q438L	Q438M	Q438N	Q438R	Q438S	Q438T	Q438V	Q438W	Q438Y
		109	845	58	38	205	191	56	216	<15	<15	170	416	55	80	78	117	38
Y436A	133	233	527	67	185	212	180	75	185	39	<15	109	101	52	74	57	115	67
Y436D	552	424	1044	279	211	858	507	185	573	58	<15	301	446	119	157	190	198	73
Y436E	594	415	876	276	203	597	467	188	623	50	67	320	491	126	157	138	190	76
Y436F	35	106	119	85	117	206	108	48	98	27	35	71	71	24	51	48	68	48
Y436G	646	325	908	237	152	212	102	109	294	49	57	201	344	105	106	74	143	79
Y436H	72	90	227	56	93	65	53	67	158	<15	26	65	82	27	35	37	120	45
Y436I	<15	47	70	<15	70	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	43	28
Y436K	592	91	669	53	148	101	90	70	131	<15	19	89	137	40	58	44	177	71
Y436L	191	198	625	114	178	139	98	146	211	44	46	148	208	62	89	76	153	82
Y436M	60	82	206	43	140	42	41	46	75	<15	27	46	40	<15	19	<15	85	48
Y436N	382	73	589	45	145	91	77	88	138	<15	<15	87	83	41	48	40	161	70
Y436Q	274	65	285	37	136	63	51	45	70	<15	<15	44	52	33	39	16	133	80
Y436R	242	99	265	21	93	52	38	30	108	<15	<15	48	55	26	24	25	80	52
Y436S	585	203	964	155	206	260	114	152	412	37	<15	167	278	98	113	85	163	69
Y436T	494	131	777	81	168	137	110	126	394	37	<15	126	176	70	75	73	178	69
Y436V	199	66	445	52	131	108	185	65	166	<15	<15	56	61	39	38	85	109	71
Y436W	110	145	412	199	137	115	155	124	143	34	<15	109	74	69	71	87	102	66

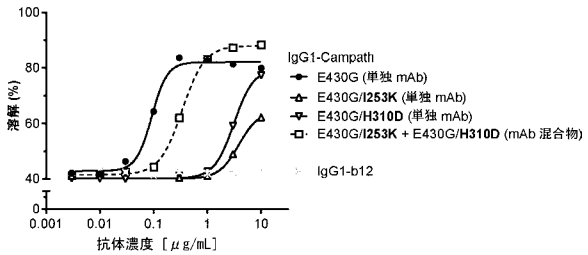
【図４】

EC50 ng/mL	単独↓/→	K439A	K439D	K439E	K439F	K439H	K439I	K439L	K439M	K439N	K439Q	K439R	K439S	K439T	K439V	K439W	K439Y
		87	111	864	353	147	298	167	92	58	87	55	53	303	711	225	926
S440A	<15	16	33	32	41	<15	51	26	35	35	30	<15	<15	<15	<15	38	30
S440D	<15	21	<15	17	55	45	61	48	38	38	42	<15	<15	<15	<15	30	54
S440E	59	38	28	48	79	55	89	75	62	54	69	<15	<15	56	78	46	97
S440F	62	59	49	58	97	57	94	73	72	71	76	<15	47	71	71	49	91
S440G	32	33	51	39	47	53	50	64	51	32	52	<15	<15	23	30	<15	65
S440H	<15	24	25	26	24	28	43	59	23	21	48	<15	<15	24	34	<15	43
S440I	79	50	56	32	78	70	103	96	63	51	77	<15	<15	60	65	33	93
S440K	431	29	<15	<15	52	49	71	82	39	35	49	<15	<15	51	94	58	81
S440L	167	68	92	147	158	106	160	162	91	84	125	<15	29	116	144	36	290
S440M	45	33	46	58	47	64	56	69	51	44	65	<15	<15	31	44	157	83
S440N	31	24	27	35	46	45	52	68	21	28	56	<15	<15	36	36	<15	67
S440Q	<15	41	<15	31	41	33	39	31	50	28	51	<15	<15	<15	18	54	<15
S440R	<15	43	<15	<15	34	26	22	<15	30	<15	42	<15	<15	<15	<15	40	44
S440T	<15	46	<15	25	31	49	45	51	53	19	<15	<15	<15	<15	39	<15	65
S440V	44	37	38	67	64	61	68	58	67	48	30	<15	<15	55	57	<15	94
S440W	<15	39	<15	30	29	23	21	40	31	0	<15	<15	<15	<15	<15	51	35
S440Y	<15	30	20	27	23	33	30	26	44	23	<15	<15	<15	<15	<15	32	25

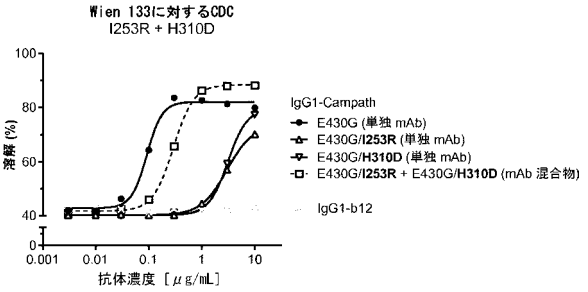
【図５Ａ】



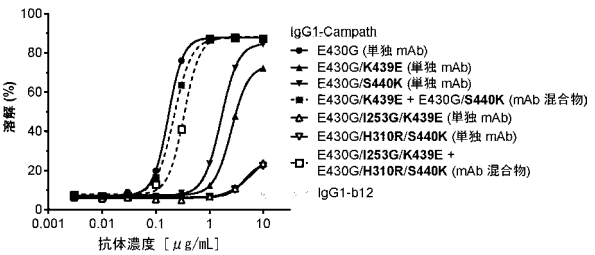
【図５Ｂ】



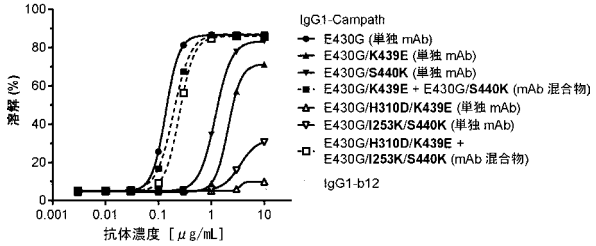
【図５Ｃ】



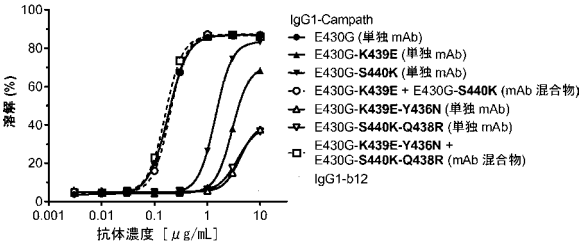
【図６Ａ】



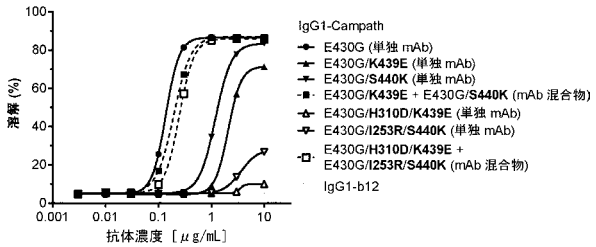
【図６Ｂ】



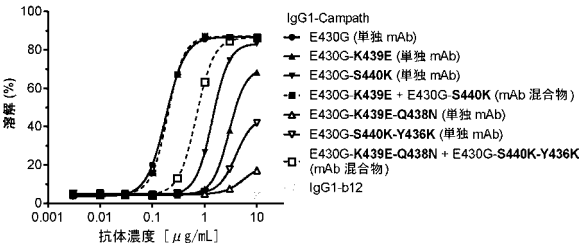
【図６Ｄ】



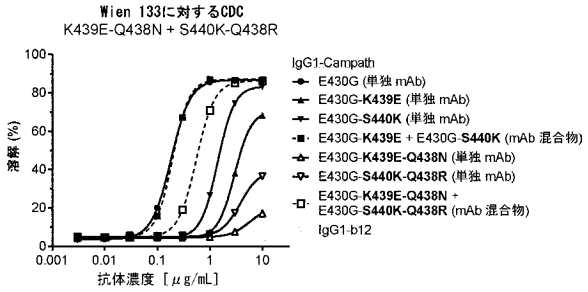
【図６Ｃ】



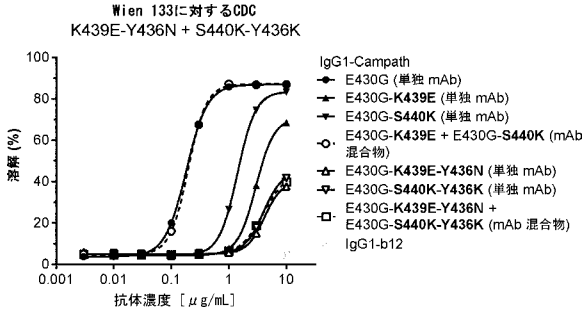
【図６Ｅ】



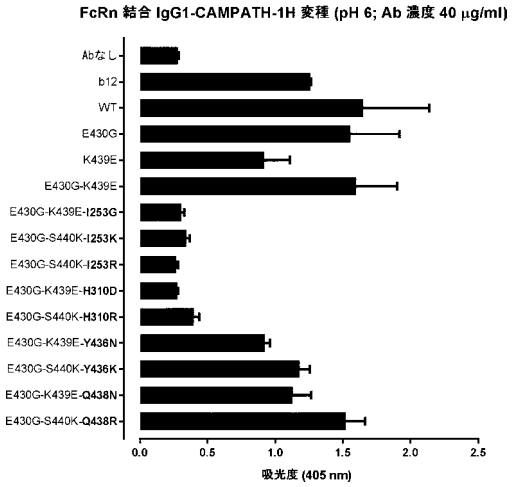
【図６Ｆ】



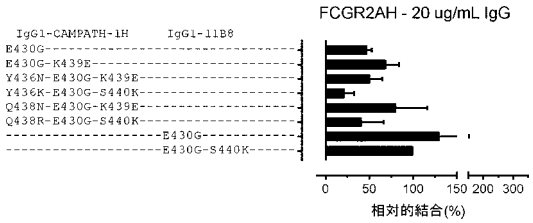
【図６Ｇ】



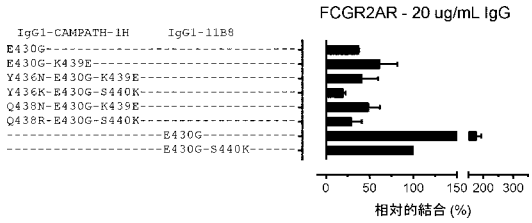
【図７】



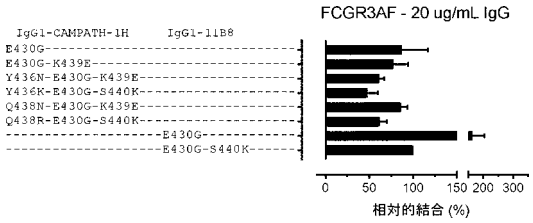
【図８Ａ】



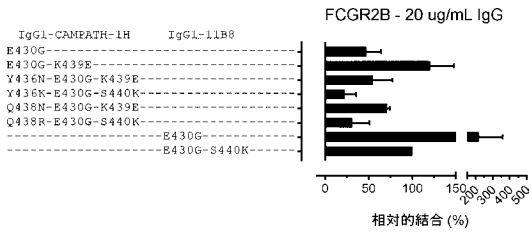
【図８Ｂ】



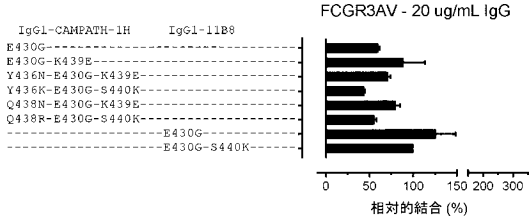
【図８Ｅ】



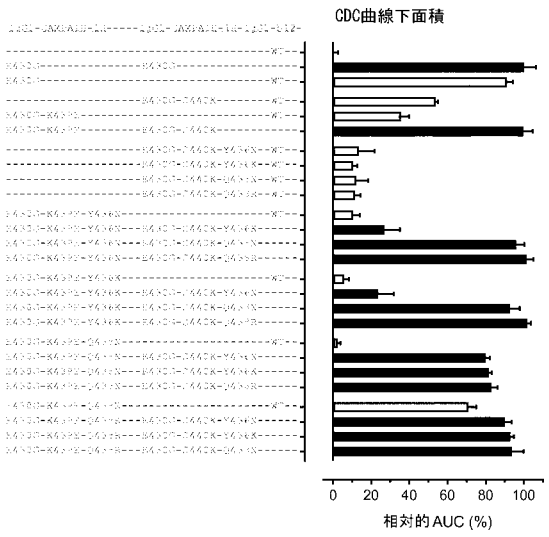
【図８Ｃ】



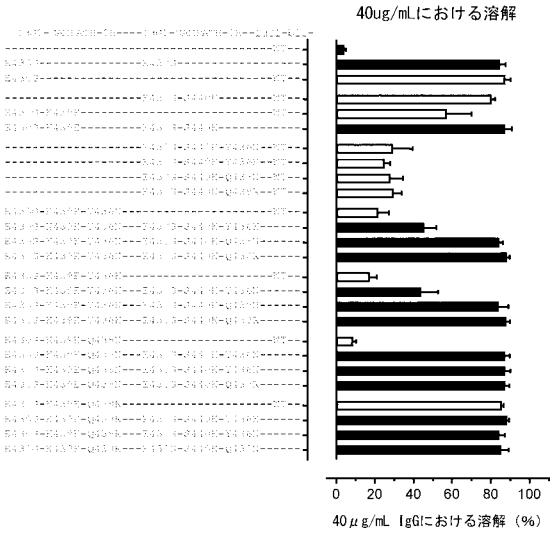
【図８Ｄ】



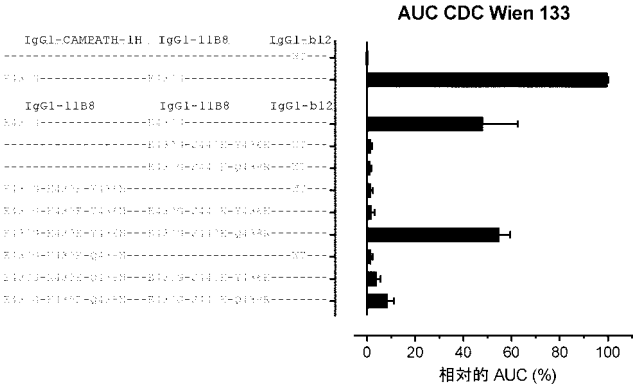
【図９Ａ】



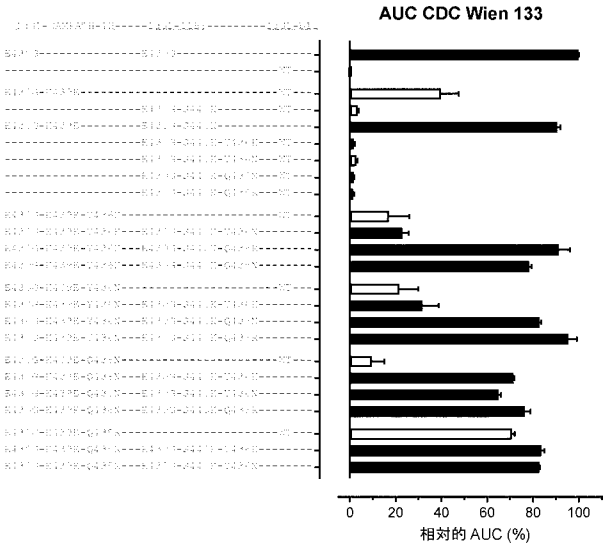
【図９Ｂ】



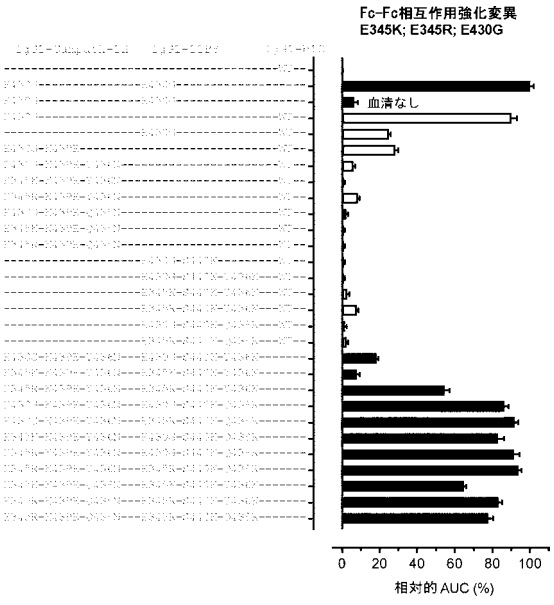
【図１０】



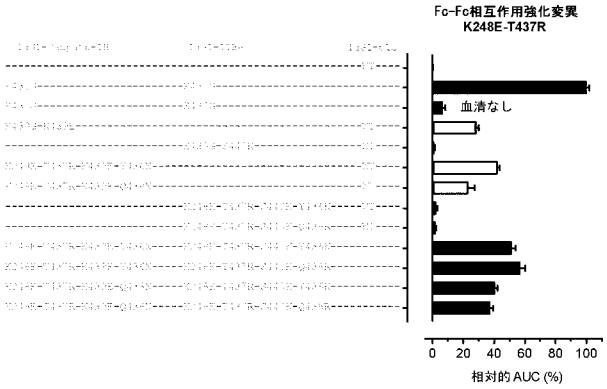
【図１１】



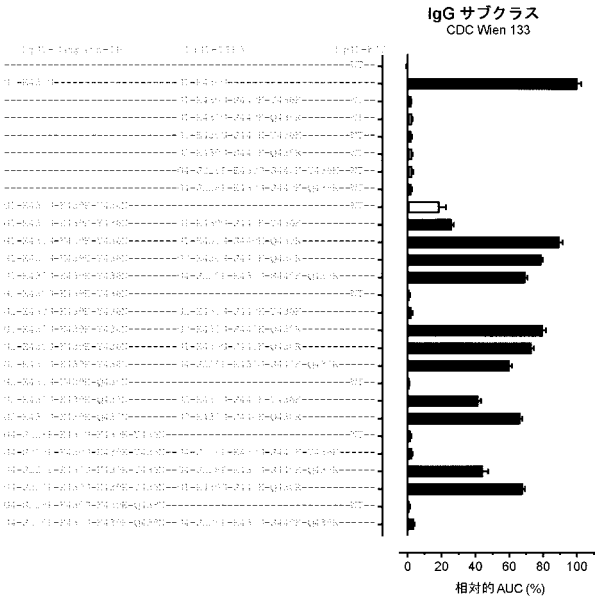
【図１２Ａ】



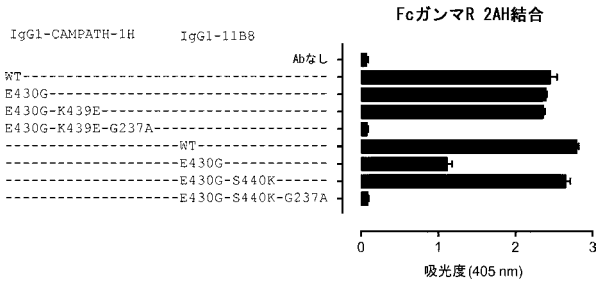
【図１２Ｂ】



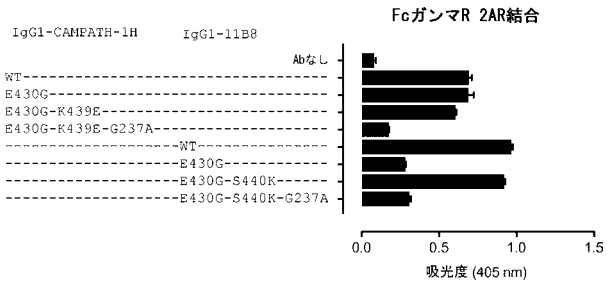
【図１３】



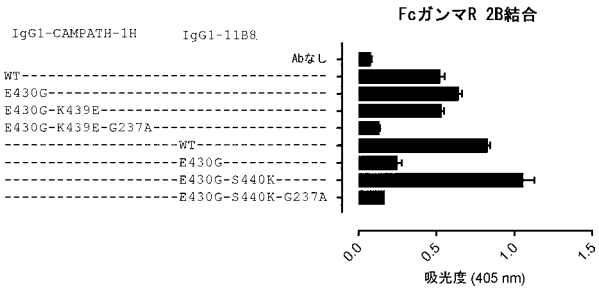
【図１４Ａ】



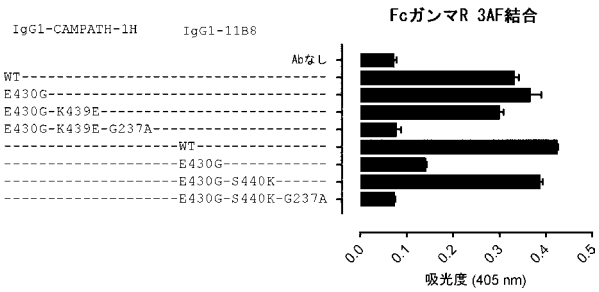
【図１４Ｂ】



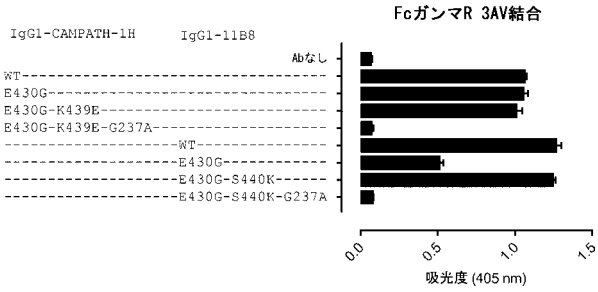
【図１４Ｃ】



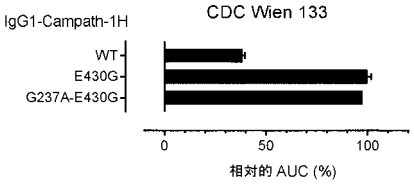
【図１４Ｄ】



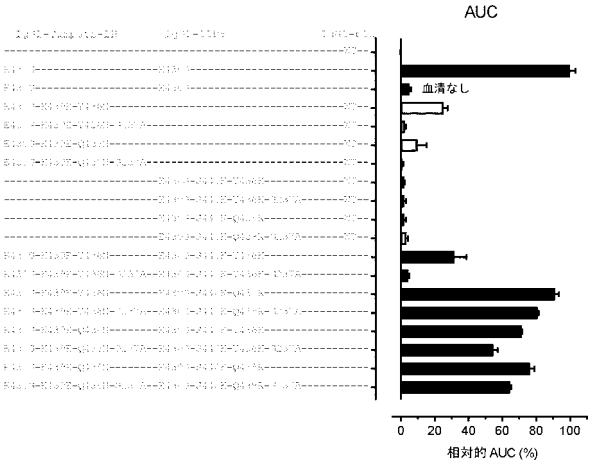
【図１４Ｅ】



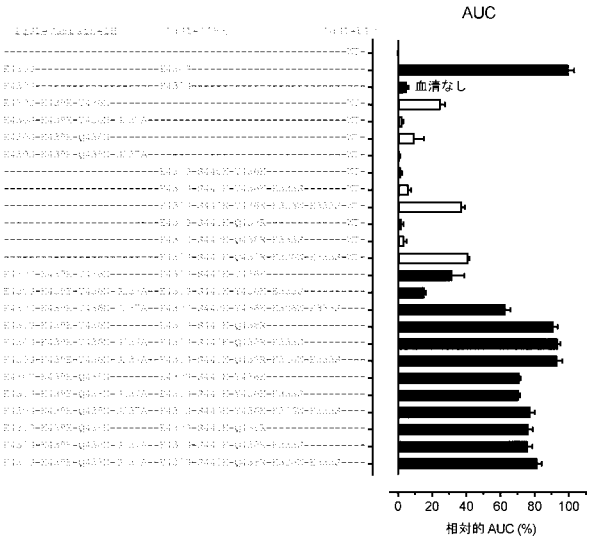
【図１４Ｆ】



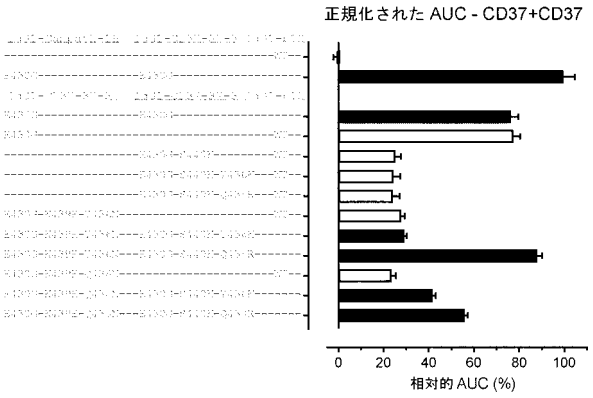
【図１４Ｇ】



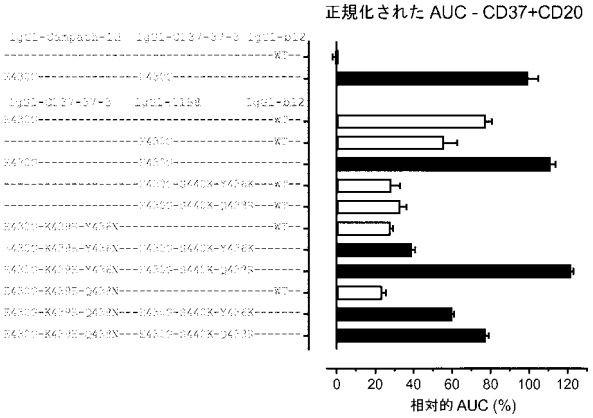
【図１５】



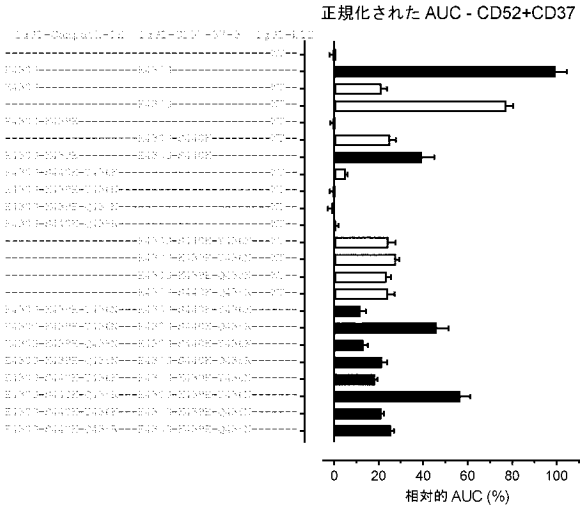
【図１６】



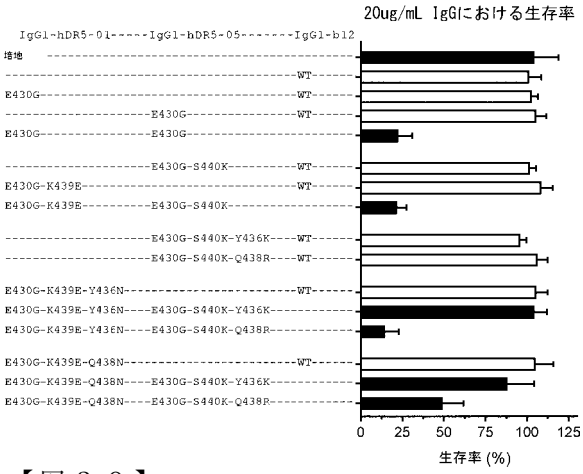
【図１７】



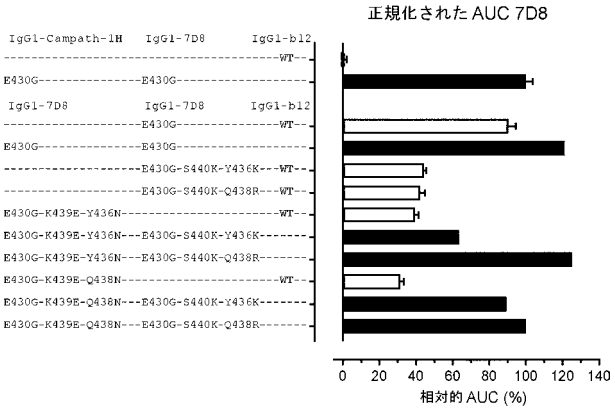
【図１８】



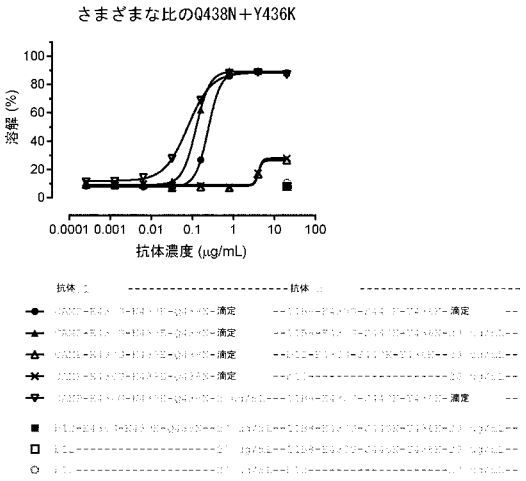
【図１９】



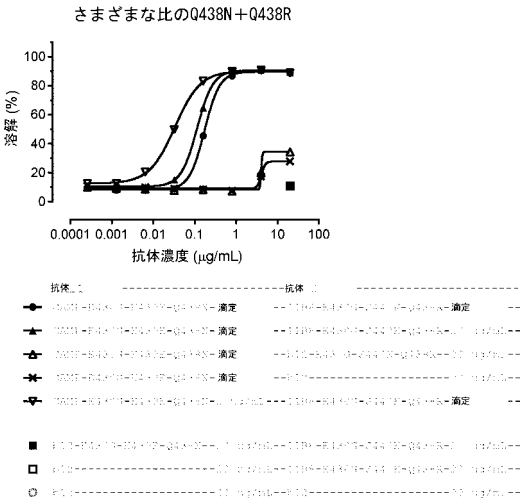
【図２０】



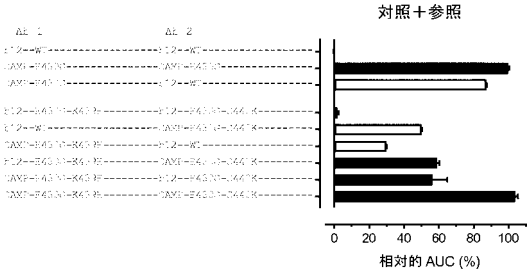
【図２１Ａ】



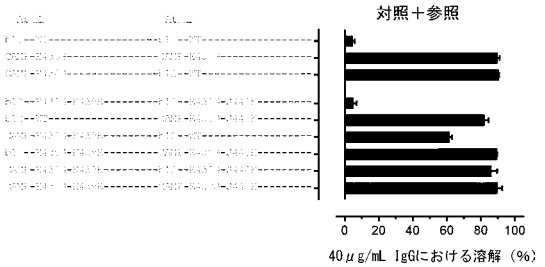
【図２１Ｂ】



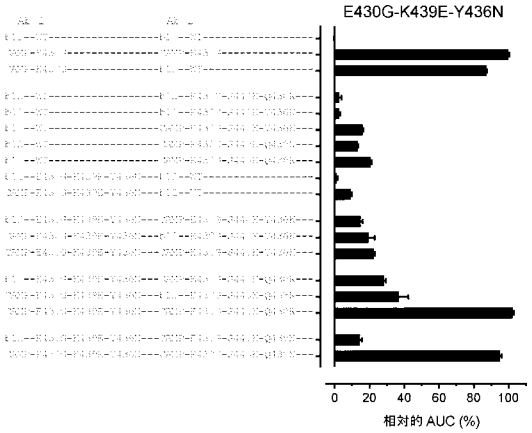
【図２２Ａ】



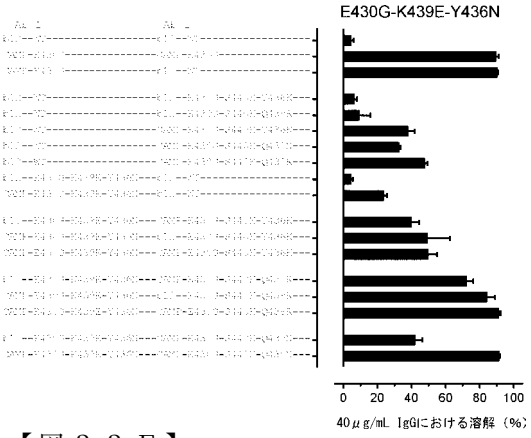
【図２２Ｂ】



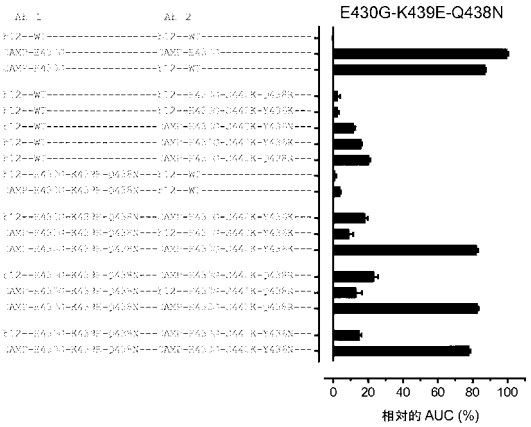
【図２２Ｃ】



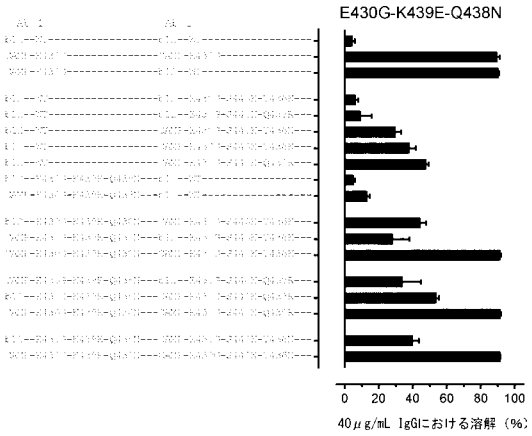
【図２２Ｄ】



【図２２Ｅ】



【図２２Ｆ】



【配列表】
2021510740000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2019/051809

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/00 C07K16/28 C07K16/30
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

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

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, WPI Data, INSPEC

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2013/004842 A2 (GENMAB AS [DK]; PARREN PAUL [NL] ET AL.) 10 January 2013 (2013-01-10)	59,71-79
Y	table 4	1-58, 60-70

X	WO 2016/164480 A1 (GENENTECH INC [US]; F HOFFMANN-LA ROCHE AG [CH]) 13 October 2016 (2016-10-13)	59,71-79
Y	claim 52	1-58, 60-70

X	WO 2016/071377 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; HOFFMANN LA ROCHE [US]) 12 May 2016 (2016-05-12)	59,71-79
Y	claim 1	1-58, 60-70

	-/--	

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
8 May 2019	20/05/2019

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Scheffzyk, Irmgard

3

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2019/051809

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 2 233 500 A1 (LFB BIOTECHNOLOGIES [FR]) 29 September 2010 (2010-09-29)	59,71-79
Y	paragraph [0103]	1-58, 60-70

3

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2019/051809

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013004842 A2	10-01-2013	AU 2012280222 A1	23-01-2014
		AU 2017272140 A1	21-12-2017
		BR 112014000264 A2	14-02-2017
		CA 2840147 A1	10-01-2013
		CN 104220093 A	17-12-2014
		CN 106084039 A	09-11-2016
		EA 201400108 A1	30-05-2014
		EP 2729170 A2	14-05-2014
		JP 6243330 B2	06-12-2017
		JP 2014520788 A	25-08-2014
		JP 2018035140 A	08-03-2018
		KR 20140146040 A	24-12-2014
		MX 357944 B	31-07-2018
		SG 10201605572T A	29-09-2016
		UA 117901 C2	25-10-2018
		US 2014242075 A1	28-08-2014
		WO 2013004842 A2	10-01-2013
		ZA 201309499 B	27-09-2017
WO 2016164480 A1	13-10-2016	AU 2016246695 A1	26-10-2017
		CA 2981183 A1	13-10-2016
		CN 107709364 A	16-02-2018
		EP 3280736 A1	14-02-2018
		JP 2018516537 A	28-06-2018
		KR 20180002653 A	08-01-2018
		TW 201710295 A	16-03-2017
		US 2018022813 A1	25-01-2018
		WO 2016164480 A1	13-10-2016
WO 2016071377 A1	12-05-2016	AR 102522 A1	08-03-2017
		BR 112017006591 A2	16-01-2018
		CA 2960569 A1	12-05-2016
		CN 107074966 A	18-08-2017
		EP 3215524 A1	13-09-2017
		JP 2018506545 A	08-03-2018
		KR 20170076697 A	04-07-2017
		US 2017342168 A1	30-11-2017
		WO 2016071377 A1	12-05-2016
EP 2233500 A1	29-09-2010	AU 2010224800 A1	13-10-2011
		BR PI1014525 A2	05-04-2016
		CA 2755905 A1	23-09-2010
		CA 2995516 A1	23-09-2010
		CN 102405231 A	04-04-2012
		CN 104892762 A	09-09-2015
		DK 2805969 T3	15-04-2019
		EP 2233500 A1	29-09-2010
		EP 2408813 A2	25-01-2012
		EP 2805969 A2	26-11-2014
		EP 3395831 A1	31-10-2018
		IL 215041 A	30-06-2016
		JP 5770710 B2	26-08-2015
		JP 5951856 B2	13-07-2016
		JP 2012524522 A	18-10-2012
		JP 2016014020 A	28-01-2016
		KR 20110128883 A	30-11-2011
		KR 20160105547 A	06-09-2016
		KR 20160145850 A	20-12-2016

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2019/051809

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		US RE45992 E	03-05-2016
		US RE46585 E	24-10-2017
		US 2012009188 A1	12-01-2012
		WO 2010106180 A2	23-09-2010

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．ＴＷＥＥＮ

(74)代理人　100148699
弁理士　佐藤　利光
(74)代理人　100128048
弁理士　新見　浩一
(74)代理人　100129506
弁理士　小林　智彦
(74)代理人　100205707
弁理士　小寺　秀紀
(74)代理人　100114340
弁理士　大関　雅人
(74)代理人　100114889
弁理士　五十嵐　義弘
(74)代理人　100121072
弁理士　川本　和弥
(72)発明者　オオスティンディ　シモーネ
オランダ王国　ユトレヒト　エヌエル－３５８４　シーティー　ウプサララーン　１５　ゲンマブビー．ブイ．内
(72)発明者　ホレンシュタイン　アンドレアス
オランダ王国　ユトレヒト　エヌエル－３５８４　シーティー　ウプサララーン　１５　ゲンマブビー．ブイ．内
(72)発明者　ブルスケンス　フランク
オランダ王国　ユトレヒト　エヌエル－３５８４　シーティー　ウプサララーン　１５　ゲンマブビー．ブイ．内
(72)発明者　ストゥルマン　クリスティン
オランダ王国　ユトレヒト　エヌエル－３５８４　シーティー　ウプサララーン　１５　ゲンマブビー．ブイ．内
(72)発明者　シュールマン　ジャニン
オランダ王国　ユトレヒト　エヌエル－３５８４　シーティー　ウプサララーン　１５　ゲンマブビー．ブイ．内
(72)発明者　デ　ヨング　ロブ
オランダ王国　ユトレヒト　エヌエル－３５８４　シーティー　ウプサララーン　１５　ゲンマブビー．ブイ．内

Ｆターム(参考) 4C085 AA14 BB36 BB42 EE03 GG02
4H045 AA10 AA30 BA10 DA75 EA20 FA74 GA22 GA26